



Sociedad de Microbiología de Chile



# CONGRESO CHILENO DE **MICROBIOLOGÍA**

Del 04 de diciembre al 07 de diciembre, 2023  
Hotel Enjoy Pucón, Chile

## LIBRO DE **RESÚMENES**



---

# **XLV Congreso Chileno** **de Microbiología**

Del 04 de diciembre al 07 de diciembre, 2023  
Hotel Enjoy Pucón, Chile

---

## Editorial



### Mas de 550 microbiólogos/as se reunieron en Pucón

La XLV Reunión anual de la Sociedad de Microbiología de Chile se celebró desde el 4 al 7 de diciembre del 2023 en la hermosa ciudad de Pucón, Región de La Araucanía. El evento atrajo a más de 550 microbiólogos/as, en su mayoría provenientes de Chile, Argentina, Uruguay, y Estados Unidos. Vale la pena mencionar que los jóvenes científicos constituyeron más del 60% de los participantes.

El programa científico contó con 7 plenarios, 12 simposios, 71 comunicaciones libres y más de 300 póster, que cubrió un amplio espectro de las disciplinas de la microbiología. En esta oportunidad, la apertura estuvo a cargo de la Dra. Virginia Garretón, jefa de Asesores del Gabinete de la ministra de Ciencia, Tecnología, Conocimiento e Innovación, Aisén Etcheverry; quién nos habló sobre el presupuesto 2024 y cuáles son sus líneas de acción. Para finalizar el primer día, contamos con la plenaria de la Dra. Ana Fernández-Sesma, Directora del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Icahn de Mount Sinai en New York, EEUU, que nos invitó a revisar sus últimas investigaciones en Dengue y los ensayos que están llevando a cabo con una nueva vacuna. Otras plenarios fueron dadas por expertos líderes en campos de la investigación de primer nivel como el Dr. Franck Molina, Directeur de recherche du CNRS et directeur du laboratoire Modélisation et ingénierie des systèmes complexes biologiques pour le diagnostic; Dr. Robert J Gifford, MRC-University of Glasgow Centre for Virus Research (CVR), School of Infection & Immunity, University of Glasgow; Dr. Roland Bol, Institute of Bio- and Geosciences (IBG), Forschungszentrum Jülich, (Germany)



Además de las plenarios, la XLV Reunión Anual SOMICH 2022 ofreció a los participantes 12 temas de simposios incluyendo 46 presentaciones entregadas por los oradores invitados, y 71 comunicaciones libres, el doble de la versión 2022, elegidas por el comité organizador entre los resúmenes enviados. Además, nuevamente contamos con el Simposio SUR "Microbiología aplicada a Bioprocesos", 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, nuestro socio Dr. Jaime Rivas en conjunto con la empresa TCL Group participaron del Festival Explora La Araucanía 2023, en la comuna de Padre Las Casas. Además, asistentes del congreso fueron jurado de las investigaciones escolares presentadas en el festival.



Dentro de las actividades icónicas de SOMICH, se realizó el tradicional homenaje que reconoce la trayectoria 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 la Dra. Apolinaria García de la Universidad de Concepción. Su línea de investigación se centra en el desarrollo de probióticos para prevenir la infección por *Helicobacter pylori*. La ceremonia fue presidida por el Dr. José Martínez, compañero y amigo de nuestra homenajeadada.



De los más de 300 póster y comunicaciones libres, todos ellos de muy alta calidad científica, se premiaron las siguientes presentaciones seleccionadas:

- Oscar Alexis Salgado Salgado Relación virus-hospedero en fuentes termales mesotermófilas y de pH circumneutral a escala global
- Fernanda Claverías Redes de similitud de BGC en *Spiractinospira alimapuensis* (Chile) y la familia Nocardioseae para evaluar novedad de los potenciales RiPPs
- Juan Pablo Cárdenas Adaptaciones evolutivas tempranas del género *Akkermansia* al intestino de los vertebrados: un estudio filogenómico
- Catarina Ananías Sáez Rol de la N6-metiladenosina (m6A) en la replicación del VIH-1 y la activación inmunitaria en microglía humanas
- Camila Soto Coña Aislamiento y Caracterización de Coronavirus Antártico con Potencial Impacto en la Industria Avícola
- Andrés Suazo Effect of Ethanol and Acetate Initial Concentrations on Hydrogen Production in *Clostridium kluyveri* Batch Cultures
- Javiera Rojas Actividad antioxidante y enzimática de bacterianas pigmentadas aisladas de la Laguna de los Cisnes, Región de Magallanes.
- Mateus Frazão Evaluación de la respuesta inmune de los macrófagos de salmón infectados con *Piscirickettsia salmonis* tras la estimulación con nanopartículas de PLGA funcionalizadas con IgM de salmón
- Paola González Rodríguez Comparison of the «Gut microbiota» in adolescents with Autism Spectrum Disorder (ASD) and without the condition in the metropolitan region of Chile.
- Nicolás Lefin Hinojosa Adición de aminoácidos para la obtención de un medio químicamente definido mejorado para la producción de una l-asparaginasa ii doble mutante de *Erwinia chrysantemi* expresado por *Escherichia coli* BL21 (de3).



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 Incitec, PhageLab, GrupoBios, Comercial Zona Sur Ltda, Fermelo, Genexpress, Biko, TCL, Grupo SIBI, Thermofisher, Merck y AustralOMICs



Durante la tercera jornada de congreso, se realizó la Asamblea de Socios, exponiendo la cuenta anual y la votación de la modernización de nuestros estatutos. En la ocasión se logró votar a favor de esta modernización, que incluye nuevas categorías de socios/as, Incorporación de causales para perder la calidad de socio/a, Modernización de los mecanismos de realización de las asambleas utilizando plataformas virtuales, Modernización de los mecanismos para llamar a las asambleas ordinarias y extraordinarias y Modernización en los mecanismos de votación.

Además, queremos agradecer a los voluntarios estudiantes de la Universidad Austral y de la Universidad de Antofagasta, que nos apoyaron durante las 4 jornadas del congreso; y en especial al equipo de trabajo de nuestro socio Francisco Cubillos, quien nos patrocinó con el brebaje que acompañó las sesiones de paneles junto a la Cervecería Nothus.



La plenaria de clausura estuvo a cargo del Dr. Luis Larrondo, Director del Millennium Institute for Integrative Systems and Synthetic Biology. Howard Hughes del Medical Institute International Research Scholar, quien nos hizo deleitó con su trabajo en relojes circadianos.



Al final de la ceremonia de clausura, SOMICH anunció el IUMS2024 a realizarse entre el 23 al 25 de Octubre en Florencia, Italia y el XXVII Congreso Latinoamericano de Microbiología a realizarse el 2025 en República Dominicana.

Muchas gracias a todas y todos los asistentes y esperamos volver a vernos en el XLVI SOMICH 2024

## Directiva / Comité organizador



### Presidente

**Dr. Fernando Valiente-Echeverria**

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



### Vicepresidenta

**Dra. Julieta Orlando**

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



### Tesorera

**Dra. Mariella Rivas**

Profesora Asistente  
Universidad de Antofagasta



### Secretaria

**Dra. Claudia Saavedra**

Profesora Titular  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad Andrés Bello



---

**Director**

**Dr. Jorge Olivares**

Profesor Asociado  
Instituto de Biología  
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso



---

**Director**

**Dr. Alex González**

Profesor Asociado  
Departamento de Ciencias Biológicas y  
Biodiversidad  
Universidad de Lagos



---

**Director**

**Dr. Carlos Blondel**

Profesor Asociado  
Instituto de Ciencias Biomédicas  
Universidad Andrés Bello



---

**Directora**

**Dra. Patricia Aguila**

Profesora auxiliar  
Universidad Austral de Chile  
Puerto Montt



## Comité científico

- **Dr. Alex Gonzalez**
- **Dra. Bernardita Valenzuela Guerrero**
- **Dr. Carlos Aranda**
- **Dr. Carlos Blondel**
- **Dra. Claudia Saavedra Sanchez**
- **Dr. David Antonio Pezoa Aros**
- **Dr. Fernando Valiente**
- **Dr. Francisco Chávez**
- **Dr. Francisco Remonsellez Fuentes**
- **Dr. Ítalo Urrutia Henríquez**
- **Dra. Jennifer Alcaíno Gorman**
- **Dr. Jonas Chnaiderman**
- **Dr. Jorge Olivares**
- **Dr. Juan Ugalde**
- **Dra. Julieta Orlando**
- **Dra. Mariella Rivas**
- **Dr. Mario Tello**
- **Dra. Monica Acevedo**
- **Dr. Nicolás Pacheco Camus**
- **Dra. Paris Lavin**
- **Dra. Patricia Aguila -Torres**
- **Dra. Vivian Luchsinger**

## Auspiciadores



---

# Abstracts

---

Tipo de presentación:  
**Plenarias**

Tipo de presentación: Plenaria

### **Immune responses to dengue viruses and vaccines**

**Ana Fernandez<sup>1</sup>**

(1) Department of Microbiology, Icahn School, of Medicine at Mount Sinai. New York, NY, USA.



Dengue virus (DENV) belongs to the *Flaviviridae* family and is endemic in more than 100 countries in the world. There are 4 different serotypes, DENV1,2,3 and 4, that co-circulate and can cause annual epidemics in tropical and subtropical areas of the world and are transmitted by *aedes.sp* mosquitoes. In this presentation, we will discuss how DENV can efficiently inhibit the induction of innate immune responses in infected cells by blocking both the production and signaling of type I interferons (IFN) in susceptible cells, including dendritic cells (DCs). We will also discuss our findings of how innate immune factors, including cGAS and STING are degraded during DENV infection, which results in the inhibition of type I IFN production in those infected cells. We will also discuss how different DENV serotypes and vaccine candidates can induce different immune profiles in infected primary cells such as dendritic cells (DCs) and how that contributes to the immunogenicity of live attenuated tetravalent DENV vaccines.

Keywords: immunogenicity

Financing: NIH/NIAID: 1R01AI07345, U19AI118610, U19AI168631.DoD/DARPA: HR0011-11-C-0094

Tipo de presentación: Plenaria

### **Biología de Sistemas y Sintética**

#### **Franck Molina**



Pionero de la biología de sistemas y de la biología sintética, Franck Molina, profesor de investigación del CNRS y director del laboratorio Sys2Diag (Modélisation et ingénierie des systèmes complexes biologiques pour le diagnostic) (CNRS/ALCEN). El 26 de marzo de 2020, Franck Molina fue nombrado miembro del Comité de Atención, que asesoró al gobierno francés durante la epidemia de SARS-CoV-2, por su experiencia en pruebas de diagnóstico demostrando su vasta experiencia en el área de la biología sintética y desarrollo de dispositivos de fácil uso. ha pasado de la modelización de sistemas biológicos como las células, a su producción sintética, así, ha utilizado con éxito la biología sintética para diseñar y programar células artificiales, como biomáquinas, para realizar tareas poco convencionales. Estas células se utilizan en particular para realizar diagnósticos ultrarrápidos y de bajo coste que no requieren la presencia de profesionales médicos. Por ahora estos diagnósticos se relacionan con la diabetes y la detección de pesticidas. Los trabajos del investigador, que implican soluciones para biopsias líquidas, determinadas enfermedades psiquiátricas y un sexado casi instantáneo de huevos de gallina en avicultura, han sido objeto de transferencias industriales a empresas como Skillcell, BioRad, Alcediag, Tronico y DiaDx.

Tipo de presentación: Plenaria

**Unlocking the Mysteries of Endogenous Viral Elements: Adventures in Paleovirology**

**Robert James Gifford<sup>1</sup>**

(1) Centre for Epidemic Response and Innovation (CERI), School of Data Science and Computational Thinking,, Stellenbosch University, Stellenbosch, South Africa



Endogenous Viral Elements (EVEs) are virus-derived DNA sequences embedded within the genomes of diverse eukaryotic organisms, spanning animals, plants, fungi, and protozoa. In this presentation, I delve into the remarkable advancements achieved in comprehending this intriguing phenomenon over recent years. I explore the processes through which EVEs are formed and the factors influencing their post-integration fate. I discuss how EVEs are identified and provide an overview of their distribution and rich diversity across the eukaryotic realm. In addition, I show how EVEs have enabled the development of 'paleovirology' - the study of ancient viruses. This interdisciplinary approach has revolutionised our perception of viral evolution, providing unique insights into the dynamics of virus and host interaction over evolutionary time. Finally, I examine the profound impact of EVEs on the evolution of animal genomes.

Keywords: Viral

Tipo de presentación: Plenaria

**Sobre la evolución de los mecanismos circadianos en hongos: desde las funciones "moonlighting" a la plasticidad de los circuitos genéticos**

**Luis F Larrondo Castro<sup>1</sup>**

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), FCB, Alameda 340, Santiago, Chile



During the past decade our lab has been studying how light and time shape fungal physiology and organismal interactions. We have combined synthetic biology and genetic approaches to dissect the molecular mechanisms underpinning circadian clocks and light perception.

Thus, for example, we provided for the first-time evidence of the importance of clock regulation in the interaction between a phytopathogenic fungus and a plant host. However, the relevance of circadian clocks in fungal-fungal interactions remains largely unexplored. We have now characterized a functional clock in the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* to assess its importance its mycoparasitic action against the phytopathogen *Botrytis cinerea*. The results highlight the relevance of clock components, as well as dark/light conditions in the way organismal dynamics are established.

Notably, we have evidence (both in *B. cinerea* and *T. atroviride*) indicating that the main clock component (FRQ) exhibits extra-circadian roles, particularly in the cross-roads of development, and metabolism, impinging Nitrogen assimilation and secondary metabolism, raising interesting questions about the origin and evolution of clock components in fungi, and suggesting potential moonlighting function for these proteins.

At the same time, we have adopted transcriptional rewiring strategies to assess the plasticity of circadian genetic circuits, providing evidence that the evolutionary conserved topology of circadian oscillators, is only one (but the simplest) of the many possible ways eukaryotic clocks could have evolved.

Keywords: virulence, genetic circuits, fungi, evolution, clocks

Financing: FONDECYT 1211715, iBio



Tipo de presentación: Plenaria

**From the extreme to the mondain**

**Roland Bol**<sup>1,2</sup>

(1) Forschungszentrum Juelich (Germany)

(2) Bangor University (UK)



The radical rapid rise in microbial techniques allows for the upmost sophisticated detection of microbes anywhere on the planet. In contrast the progress on chemical and physical techniques over the last 10 to 15 years have been less groundbreaking in some respects. This divergence can lead to mismatch or sometimes oversight to collect the right basic information or analysis to underpin the specifics of the locality at a more basic level. This danger is probably the most obvious for search and find of extremophiles. The identification of such unique trace in our tree of life may render the collection of all other analysis less worthwhile. However, to place such finding in the right context, very basic mondain measurements maybe helpful why this piece of the life puzzle is there. I am thinking here as a soil scientist to collect information about the value of the pH, redox or even carbon and nutrient content and context. One could also think when on more solid ground whether we have a lot or little clay, what plants we see growing etc., possibly even if it had been raining the day before and the ground feels moist. The work of any scientist specialist, let alone that of a microbiologist dealing with the wide array of life is one with deep topic focus. Very few of us are truly holistic naturalist in the sense that we know all the names of the plants, soils, rocks, macro- and meso-fauna and so, so it is important to ensure that when look for the most exciting extremophiles once tries to be part of the widest 'ecosystem knowledge' team one can gather and bring together. This is always complicated as the funding for search for and research on extremophiles is specific and likely directed to those very few who have the specialist knowledge to find them. A team building dilemma we need to solve. As these directed research funding streams hinder bridging inclusion of mondain and extremely novel analysis required for more optimised integrative research within combined planetary life science studies.

Keywords: microbial

Tipo de presentación: Plenaria

**Desde la investigación básica hasta el desarrollo de un producto probiótico, actualmente en el mercado, para prevenir la infección por *Helicobacter pylori***

**Apolinaria García<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile



*Helicobacter pylori* es una bacteria que infecta la mucosa gástrica de aproximadamente el 50% de la población mundial y del 70% de la población chilena. Pero no sólo es importante por su alta prevalencia sino sobre todo por las patologías asociadas: úlcera duodenal, úlcera gástrica, linfoma de MALT, además es el principal factor de riesgo para el desarrollo del cáncer gástrico.

El laboratorio que dirijo a realizado una vigilancia epidemiológica de la resistencia antibiótica de este patógeno gástrico por más de dos décadas, quedando claro cómo ha aumentado su resistencia, particularmente importante es su aumento de resistencia a claritromicina, la que en Chile está por sobre el 15-20%, lo que plantea un problema de salud pública asociado al fracaso terapéutico.

Con estos antecedentes, nos interesó buscar alternativa más allá del tratamiento, y por ello nos propusimos desarrollar un probiótico para prevenir la infección por *H. pylori*.

Para ello, a partir de más de 1000 biopsias gástricas aislamos cepas de *Lactobacillus*, las que fueron identificadas con pruebas microbiológicas clásicas, y posteriormente, a las que dieron positivas para este género bacteriano, se les realizó un ensayo para determinar su actividad anti-*H. pylori*. A las cepas que resultaron positivas para esta ensayo, se les realizó pruebas probióticas funcionales, de inocuidad y tecnológicas, *in vitro*, en modelos celulares y animales adecuados.

Se aisló una cepa que cumplía con todas las propiedades deseables y con potente actividad anti-*H. pylori* e inmunomoduladora, que al secuenciar su genoma correspondió a la especie *Lactobacillus fermentum*, hoy denominada *Limosilactobacillus fermentum* UCO-979C. Se realizó un ensayo clínico fase 2 y se demostró que la cepa UCO-979C redujo significativamente la infección por *H. pylori*, demostrando un 92,6% de eficacia para prevenir esta infección.

Finalmente, y después de muchos años, esta cepa ya se encuentra disponible en el mercado nacional en un producto probiótico (NUP pylorloff) y próximamente a nivel internacional.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Resistencia a Claritromicina, Probiótico, Prevención

# MORE THAN 10 YEARS DEFENDING THE WORLD AS ONE HEALTH.

Researching and developing efficient, safe and sustainable treatments in the livestock and poultry industries.



[www.phage-lab.com](http://www.phage-lab.com)



[in.com/company/phagelab/](https://in.com/company/phagelab/)

**PH<sub>a</sub>GE lab<sup>®</sup>**

Especialistas en **equipos e insumos de laboratorio.**

Brindamos a nuestros clientes soluciones integrales para laboratorios, principalmente en las áreas de **ciencias biológicas, biotecnología, investigación y diagnóstico.**



**Equipos**



**Insumos**



**Diagnóstico**



**Reactivos**

**Más de 15 representaciones** de categoría mundial.

Soporte Garantizado  
**Servicio Técnico profesional**

**ENVÍOS A TODO CHILE**

Nuestros ejecutivos comerciales abarcan desde **Arica a Punta Arenas**

Tipo de presentación:

## **Simposio 1**

Genómica y estado en Chile de bacterias multirresistentes clasificadas como patógenos de prioridad crítica y alta

Tipo de presentación: Simposio

**The role of antibiotic resistance plasmids in *Acinetobacter* spp.**

**The role of antibiotic resistance plasmids in *Acinetobacter* spp.**

**Andrés Felipe Opazo-Capurro**<sup>1,2</sup>

(1) Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos (LIAA), Universidad de Concepción, Microbiología, Ciencias Biológicas, Edificio Arco UDEC, Zócalo de Microbiología, Barrio Universitario S/N, Concepción, Chile  
(2) Grupo de Estudio en Resistencia Antimicrobiana (G-RAM), Universidad de Concepción, Ciencias Biológicas, Edificio Arco UDEC, Zócalo de Microbiología, Barrio Universitario S/N, Concepción, Chile

*Acinetobacter* species, especially *A. baumannii*, are one of the major causes of nosocomial infections in the current healthcare system, for which carbapenems antibiotics are the main therapeutic option to treat infections caused by this species. In this sense, infections caused by carbapenem-resistant *A. baumannii* (CRAB) isolates commonly are associated to significant morbidity and mortality. Existing treatment choices for CRAB are limited, making it a troublesome pathogen in the clinical setting. Consequently, CRAB has been designated as the highest-priority pathogen by the World Health Organization (WHO) for the development of new drugs.

The primary mechanism of carbapenem resistance in CRAB isolates revolves around the production of carbapenemases, primarily of the OXA-type variety. Within this category, groups like OXA-23-like, OXA-24-like, OXA-58-like, OXA-143-like, and OXA-235-like are frequently linked to plasmids, classifying them as acquired carbapenemases. While OXA-type carbapenemases are predominant, there are occasional reports of other carbapenemase types, such as NDM, appearing in *Acinetobacter* spp. Due to the significance of carbapenemase dissemination among both *A. baumannii* and *Acinetobacter non-baumannii*, it is crucial to investigate the mobile genetic elements (MGE) that facilitate their spread. When it comes to carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. isolates, the remaining therapeutic options primarily include polymyxins and tigecycline (TGC); however, TGC-resistant isolates have been observed worldwide.

Consequently, the objective of this study was to characterize the plasmids associated with OXA-type carbapenemases in CRAB isolates, as well as to examine the plasmids related to NDM enzymes and TGC resistance in *A. bereziniae* isolates collected in Chile. Our findings revealed that plasmids from the Rp\_T1 and R3\_T14 families were predominantly associated with OXA-23-like and OXA-58-like carbapenemases, respectively, in a cohort of 32 CRAB isolates subjected to whole-genome sequencing. Furthermore, we identified two *A. bereziniae* isolates that harbored two plasmids carrying resistance genes, one with *bla*<sub>NDM-1</sub> and the other containing the *tet(Y)* gene, conferring resistance to carbapenems and TGC, respectively.

Our results underscore the significance of plasmids that mediate resistance to last-resort antibiotics. Their potential dissemination poses a substantial threat to the efficacy of these critical antibiotics, thereby limiting the available therapeutic alternatives.

Keywords: Carbapenem-resistance, WHO's priority pathogens, *Acinetobacter* spp., Resistance plasmids, Genomic epidemiology

Financing: FONDECYT Iniciación Grant N° 11190602

Acknowledgments: - Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos (LIAA), U. de Concepción, Chile.- Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico FONDECYT - ANID

Tipo de presentación: Simposio

**Genomics of the persistence of *Salmonella* in Chile: 10 years of data with a One Health Approach**

**Genómica de la persistencia de *Salmonella* en Chile: 10 años de data con una aproximación de Una Salud**

**Andrea Moreno Switt<sup>1</sup>**

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina Veterinaria, Av. Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago, Chile

**Introduction.** *Salmonella* is a foodborne pathogen that causes an estimated global burden of 93 million cases and 155,000 deaths. Importantly, strains of *Salmonella* displaying antimicrobial resistance are increasing and, currently strains with a multidrug resistance phenotype and harboring resistance genes of clinical relevance is widespread; these including resistance to quinolones, cephalosporins, and several other antibiotics.

**Purpose.** To determine the diversity of multidrug resistant *Salmonella* in different animals and environments in Chile, using a One Health Approach.

**Results.** We have collected and sequenced *Salmonella* isolates from 2014 to 2023 in different locations and samples in Chile. Isolates of serovars Enteritidis showed wide distribution before 2018, with most of the isolates showing antibiotic susceptibility; however, closely related isolates of serovar Infantis have emerged with presence of a megaplasmid and harboring resistance to quinolones and third generation cephalosporins; these found in humans, animals, food, and water samples.

**Significance.** Our study shows the genomic diversity of different *Salmonella* serovars in Chile, samples of different sources, including animals, humans, and the environments are necessary to advance in strong surveillance of this important foodborne pathogen.

**Keywords:** Salmonella, antimicrobial resistance, genomics

**Financing:** FONDECYT regular 1231082, FONDECYT de Postdoctorado 3230796, and FDA Cooperative Agreement to Support the Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition (JIFSAN).

Tipo de presentación: Simposios

***Pseudomonas aeruginosa* resistant to next-generation antibiotics, genomics and resistance mechanisms in clinical isolates**

***Pseudomonas aeruginosa* resistente a antibióticos de última generación, genómica y mecanismos de resistencia en aislados clínicos**

**Aniela Wozniak**<sup>1,2,3</sup>, Patricia García<sup>1,2,3</sup>, Camila Pardo<sup>5</sup>, Nicolás Rodríguez<sup>4</sup>, Cecilia Zumarán<sup>2,3</sup>

(1) Departamento de Laboratorios Clínicos, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

(2) Laboratorio de Microbiología, Servicio de Laboratorios Clínicos, Red de Salud UC-CHRISTUS, Santiago, Chile

(3) Multidisciplinary Initiative for Collaborative Research on Bacterial Resistance, MICROB-R, Santiago, Chile

(4) Departamento de Enfermedades Infecciosas del Adulto, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

(5) Alumna de la carrera de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

*Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno oportunista que causa infecciones severas asociadas a la atención de salud. *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos (CRPA) es de prioridad crítica según la OMS por su alta mortalidad, pudiendo producir o no carbapenemasas. Durante la pandemia de COVID-19, tanto en Chile como en el mundo se reportó un aumento de las infecciones por CRPA, siendo aquellas que producen metalo-beta-lactamasas y las resistentes a ceftazidima/avibactam (CZA) o ceftolozano/tazobactam (TOL/TAZ) las de mayor relevancia clínica debido a las escasas opciones terapéuticas. Una nueva alternativa es el cefiderocol (CFC), una cefalosporina conjugada con un sideróforo, de uso en Europa y Estados Unidos, pero aún no disponible en Chile. Tiene un alto costo, la prueba de susceptibilidad es compleja, y hay pocos estudios clínicos sobre su eficacia. Los mecanismos de resistencia a CFC aún no están claros, pero son más frecuente entre aislados resistentes a CZA y/o TOL/TAZ. Datos de la Red MICROB-R (2017-2021; 15 hospitales chilenos; n=386 CRPAs) muestran que un 34% de los aislados clínicos de CRPA producía carbapenemasas y correspondían a 15 secuenciotipos (STs) distintos, siendo el 70% ST111 y ST654, considerados *high-risk-clones*. En cambio, entre los no productores de carbapenemasas (Non-CP-CRPAs) hubo una elevada heterogeneidad genómica (49 STs distintos) sin predominio de ningún *high-risk-clone*. Se realizó un estudio en Chile sobre susceptibilidad a CFC en 47 Non-CP-CRPAs resistentes a CZA y/o TOL/TAZ obtenidos en un hospital universitario; el 42% producían PER, una betalactamasa de espectro extendido asociada a resistencia a CZA y TOL/TAZ. Todos los aislados PER-positivo fueron ST309 y todos excepto uno, fueron resistentes a CZA, mientras que los aislados PER-negativo pertenecían a otros STs (ST395, ST235, ST41). El ST309 no es considerado un *high-risk-clone*, pero se ha reportado recientemente como clon emergente en Brasil, Estados Unidos y México asociado a resistencia a CZA y TOL/TAZ. La susceptibilidad a CFC fue de 87%, el 11% fueron intermedios y uno fue resistente con una CIM de 32 µg/mL. El CFC tiene una buena actividad *in vitro* en Non-CP-CRPAs por lo que podría ser un aporte al tratamiento de este tipo de infecciones en Chile.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, cefiderocol, resistencia a betalactámicos

**Financing:** Departamento de Laboratorios Clínicos, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile Laboratorio de Microbiología, Servicio de Laboratorios Clínicos, Red de Salud UC-CHRISTUS Multidisciplinary Initiative for Collaborative Research on Bacterial Resistance, MICROB-R, Chile

**Acknowledgments:** Agradecemos a todo el personal del Laboratorio de Microbiología de la Red de Salud UC-CHRISTUS por su apoyo técnico y logístico.



Tipo de presentación:

## **Simposio 2**

Expandiendo el conocimiento de levaduras y Hongos

Tipo de presentación: Simposio

**Development of molecular tools for the study of *Pseudogymnoascus*, a prevalent fungus in Antarctica**

**Desarrollo de herramientas moleculares para el estudio de *Pseudogymnoascus*, un hongo prevalente en la Antártica**

**Inmaculada Vaca<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Chile, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile

El género fúngico *Pseudogymnoascus* está constituido por especies que habitan principalmente ambientes fríos, y cuyo estudio ha despertado gran interés en los últimos años. La especie más relevante del género es *P. destructans*, el agente causal del síndrome de la nariz blanca, enfermedad que ha diezariado las poblaciones de murciélagos en América del Norte. Por otro lado, los hongos del género *Pseudogymnoascus* son prevalentes en la mayoría de los ambientes antárticos. En los últimos años, varios estudios han demostrado que las cepas de *Pseudogymnoascus* de origen antártico contienen enzimas con potencial industrial y producen metabolitos secundarios bioactivos con actividad antibacteriana, antifúngica, tripanocida, herbicida y antitumoral, entre otras. Más recientemente, estudios químicos realizados en cepas de *Pseudogymnoascus* de origen antártico han mostrado que estos hongos pueden producir moléculas con estructuras químicas interesantes y diversas, incluyendo sesquiterpenos, carotenoides, y diferentes tipos de compuestos nitroderivados. Así, los estudios mencionados confirman el gran potencial biotecnológico de las cepas de *Pseudogymnoascus* de origen antártico como productores de metabolitos secundarios de interés. Sin embargo, la falta de herramientas moleculares para la manipulación genética de *Pseudogymnoascus* ha dificultado la explotación de este potencial. En este simposio, se mostrarán los avances realizados en los últimos años en el desarrollo de herramientas moleculares para la manipulación genética en *Pseudogymnoascus*, con énfasis en cepas de origen antártico. Se tratarán en detalle aspectos como el desarrollo de variados sistemas de transformación, y la adaptación de técnicas de ARN de interferencia y CRISPR-Cas9 para el estudio de genes del metabolismo secundario en *Pseudogymnoascus*. La disponibilidad de estas herramientas acelerará el estudio del metabolismo secundario en este interesante género fúngico.

Keywords: Molecular tools, *Pseudogymnoascus*, Antarctica

Financing: ANID Programa Fondecyt 1211830

Tipo de presentación: Simposio

**From cheese to laboratory: biosynthesis and regulation of secondary metabolites in the fungus *Penicillium roqueforti***

**Del queso al laboratorio: biosíntesis y regulación de metabolitos secundarios en el hongo *Penicillium roqueforti***

**Renato Chávez<sup>1</sup>**

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

El hongo filamentoso *Penicillium roqueforti* es una de las especies económicamente más importantes y conocidas del género *Penicillium*, gracias a su papel en la maduración de los quesos de tipo azul, como el queso roquefort. Si bien existe evidencia de consumo de queso con *P. roqueforti* al menos desde la Edad de Hierro, la biología de este importante organismo fúngico se ha comenzado a abordar en detalle solo en tiempos muy recientes. Durante el siglo XX, las investigaciones en *P. roqueforti* se enfocaron principalmente en la caracterización taxonómica de la especie, el estudio de los mecanismos enzimáticos de *P. roqueforti* que otorgan las propiedades organolépticas al queso azul, y la caracterización química de los metabolitos secundarios mayoritarios producidos por el hongo. Actualmente, y de la mano con los avances en las técnicas de biología molecular aplicadas a hongos filamentosos, el estudio del metabolismo secundario de *P. roqueforti* se ha enfocado en la caracterización de los clústeres de genes biosintéticos (BGCs) a cargo de la producción de metabolitos secundarios, así como en su regulación. En esta presentación se analizará el conocimiento actual de los BGCs responsables de la biosíntesis de los principales metabolitos secundarios de *P. roqueforti* y sus principales vías regulatorias, y se discutirán las implicancias que el metabolismo secundario de *P. roqueforti* podría tener en una matriz compleja como el queso.

Keywords: *Penicillium roqueforti*, metabolismo secundario, biología molecular, queso

Financing: Este trabajo es financiado por ANID - FONDECYT proyecto N°1211832.

Acknowledgments: Se agradece el apoyo de DICYT-USACH

Tipo de presentación: Simposio

**Dynamics of adaptation and trade-off evolution to complex environments in *Saccharomyces cerevisiae***

**Rike Stelkens<sup>1</sup>**

(1) Stockholm University, Zoology, Stockholm, Sweden

Populations in nature rarely adapt to a single stress at a time. Multiple biotic and abiotic factors come together to produce a complex environment which populations must adapt to. How populations adapt to simultaneous stressors, and how trade-offs evolve between these stressors has been of interest to evolutionary biologists for decades. But natural populations often present logistical challenges to understanding the dynamics of evolution and isolating the genetic basis of adaptation. Here we use methods in experimental evolution to test how adaptation proceeds in the presence of simultaneous stressors, and to quantify the evolution of trade-offs between stressors in a complex environment. We adapted populations of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* to a full-factorial combination of four stressors over the course of 15 serial transfers. We observed rapid increases in fitness paired with the accumulation of mutations related to specific stressors. Trade-offs evolved rapidly and dynamics of trade-off evolution varied between stressors, possibly due to the inherent physiological and genetic basis of resistance to each stressor. The degree of parallelism at the phenotypic level was modified by the degree of environmental complexity, while parallelism at the genic level was apparent between populations which shared stressors. Yeast experimental evolution provides the opportunity to easily identifying the impact of environmental factors on the genetic basis of fitness and adaptation, and due to the conservation of biological functions among eukaryotes, may prove a valuable resource in predicting the effects of the environment in natural populations of other organisms as well.

Keywords: Yeast, adaptation to complex environments, Evolve & Resequencing

Tipo de presentación: Simposio

**Expanding the knowledge in the infection toolbox of the phytopathogen *Botrytis cinerea***

Gabriel Pérez-Lara<sup>1</sup>, Paulo Canessa<sup>1</sup>

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

*Botrytis cinerea*, a fungus responsible for infecting over 1000 plant species with broad commercial significance, produces substantial economic losses in Chile and globally. This fungus employs a necrotrophic infection strategy, inducing rapid plant tissue death. Paradoxically, the universal plant defense response of cell death benefits *Botrytis* infection, facilitated by an array of virulence factors (VFs) for nutrient acquisition from the plant tissue. VFs, among many functions, can interfere with plant defense responses or behave as cell-death-inducing proteins (collectively known as CDIPs). CDIPs, being disease-promoting molecules, have been extensively studied in non-necrotrophic plant pathogens, but research on these molecules in necrotrophic pathogens has been neglected. Since emerging research highlights *Botrytis*' secretome, particularly the protein fraction, as the primary contributor to plant lesion formation, to bridge this gap, we have integrated several predictive bioinformatic tools and extensive RNA-seq data, pinpointing critical transcription factors (TF) most likely controlling CDIP expression. We use genetic knock-outs in *B. cinerea* to demonstrate that at least one selected TF modulates fungal virulence in tobacco plants. In addition, employing heterologous expression and infiltration (virulence) assays in plant leaves, we demonstrate the lesion-inducing capability of selected CDIP candidates, suggesting that they indeed encode for cell-death-inducing proteins. Current work aims to determine the transcriptional landscape of a selected TF and to understand the phytotoxic activity and mechanisms of action of the newly identified CDIPs. Building on existing and newly generated data, our work offers a distinctive strategy to discover novel *Botrytis* virulence factors. We hope to provide fundamental insights into effector molecules' mechanisms within *Botrytis* in the near future, shedding light on a neglected group of necrotrophic virulence determinants.

Keywords: *Botrytis cinerea*, CDIP, Virulence

Financing: ANID-Millennium Science Initiative Program-ICN17\_022 and FONDECYT 1190611

Tipo de presentación:

# **Simposio 3**

Plastisfera

Tipo de presentación: Simposio

### **Hidrolasas de poliéster de ambientes marinos polares y su posible aplicación en la degradación del tereftalato de polietileno (PET)**

**Beatriz Diez Moreno**<sup>1,2,3</sup>, César Ramírez-Sarmiento<sup>4,5</sup>, Jerónimo Cifuentes-Anticevic<sup>1,6</sup>, Aransa Griñen<sup>4,5</sup>, Paula Básquez-Sánchez<sup>4,7</sup>, Richard Garratt<sup>8</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile, Department of Molecular Genetics and Microbiology, Biological Sciences Faculty, Libertador Bernardo O'Higgins 340, Santiago, Chile

(2) ANID-Millennium Institute Center for Genome Regulation (CGR), Chile

(3) FONDAPE-Center for Climate and Resilience Research (CR)<sup>2</sup>, Chile

(4) Institute for Biological and Medical Engineering, Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile

(5) ANID- Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), Chile

(6) Max-Planck Institute for Marine Microbiology. Germany

(7) Institute of Analytical Chemistry, Leipzig University, Germany

(8) Sao Carlos Institute of Physics, University of Sao Paulo, Brazil

A handful of microbial species can use plastics as a (sole) source of carbon, energy, and biomass production, and their plastic-degrading enzymes are being explored as eco-friendly alternatives for plastics recycling. Metaomics have recently been used to discover new organisms or enzymes involved in plastic degradation directly from the environment, proving the high prevalence of polyester hydrolases in the global ocean microbiome. Most known polyesterases, particularly polyethylene terephthalate (PET) hydrolases (PETases), are thermophilic and require 60- 70°C for efficient hydrolysis. However, partial hydrolysis of PET at lower temperatures has been reported for a few PETases. Unsurprisingly, there is a lack of data from Polar Regions, rich in psychrophilic microorganisms and where relevant ocean plastic accumulation areas are found. We aimed to reveal bacterial psychrophilic members carrying enzymes potentially capable of degrading PET, to expand the known repertoire of these enzymes to be used as biocatalysts for plastic recycling at lower temperatures. We demonstrated that PETases from the Antarctic bacteria *Moraxella* sp. strain TA144 (Mors1) and *Oleispira antarctica* RB-8 (OaCut) hydrolyze polycaprolactone (PCL) and PET at a temperature of 25°C. Additionally, analysis of metagenomes from Chile Bay (South Shetland Islands, West Antarctic Peninsula) showed that other members of the *Moraxellaceae* family carry candidate genes encoding for psychrophilic PET hydrolases. A broader bioinformatics study of the distribution of marine PETases in Arctic and Antarctic metagenomes from superficial and deep waters in comparison with temperate surface waters, revealed 445 new and diverse potential PETases. In their phylogeny, some clades group together novel polar PETases with reference enzymes used for the sequence-based search. These results suggested that these polar enzymes were in fact polyesterases, which was demonstrated by assaying their activity against PCL. Altogether, marine Polar regions are a potential reservoir of organisms with polyesterases capable to function efficiently at lower temperatures and represent an alternative to known thermophilic or mesophilic enzymes with proven activity for plastic degradation.

Keywords: Microbial Ecology, Polyester hydrolases, tereftalato de polietileno, Marine Polar region

Financing: INACH (RT\_04\_19, RG\_47\_16); ANID Programa Iniciativa Científica Milenio (ICN2021\_044, ICN17\_022); ANID-FAPESP 2019/13259-9

Acknowledgments: INACH-RT\_04\_19, RG\_47\_16; ANID Programa Iniciativa Científica Milenio (ICN2021\_044, ICN17\_022); ANID-FAPESP 2019/13259-9

Tipo de presentación: Simposio

### **Microplastics effect on Plants and Soil Properties**

#### **Efecto de los microplásticos sobre las plantas y las propiedades del suelo**

##### **Mauricio Schoebitz<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Concepción, Suelos y Recursos Naturales, Agronomía, Edificio Facultad de Agronomía. Campus Universitario s/n, Concepción, Chile

Microplastics (MPs) correspond to plastics between 0.1  $\mu\text{m}$  and 5 mm in size, and these can be intentionally manufactured to be microscopic or generated from the fragmentation of larger plastics. Currently, MPs contamination is a complicated subject due to its accumulation in the environment. They are a novel surface and a source of nutrients in soils because MPs can serve as a substrate for the colonization of microorganisms. Its presence in soil triggers physical, chemical (nutrients availability, organic matter, and pH), and biological changes (microbial activity and soil fauna). All these changes alter organic matter degradation and biogeochemical cycles such as the nitrogen cycle, which is a key predictor of ecological stability and management in the terrestrial ecosystem. The accumulation of MPs in terrestrial environments is a significant threat to soils. However, research on their impact on microbiological and chemical soil properties, particularly in volcanic ash-derived soils is limited. This study aimed to elucidate the effect of different MPs types and doses on plant growth, soil basal respiration, and enzymatic activities in an Andisol.

Keywords: platisphere, soil pollution, volcanic soils, polyethylene, enzymes activities

Financing: Fondecyt Regular N°1220425

Acknowledgments: Fondecyt Regular N°1220425



Tipo de presentación: Simposio

### **Plastisphere and its contribution in the ocean**

#### **Plastisfera y sus implicancias en el oceano**

**Veronica Andrea Molina Trincado**<sup>1,2,3</sup>, Marcela Cornejo<sup>4</sup>

(1) Departamento de Ciencias y Geografía y HUB Ambiental UPLA, Universidad de Playa Ancha. Playa Ancha, Valparaíso.

(2) Centro COPAS Coastal, Universidad de Concepción. Concepción.

(3) Laboratorio Internacional Asociado LIA- MAST

(4) Escuela de Ciencias del Mar e Instituto Milenio de Oceanografía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

El plástico es un material alóctono al ecosistema marino y constituye una de las principales fuentes de contaminación acumulándose en todo el océano, incluyendo zonas abisales, siendo conspicuo en los Giros subtropicales (100.000 piezas km<sup>-2</sup>). Este material, sin embargo, es rápidamente colonizado por comunidades microbianas, la denominada plastisfera, una biopelícula que presenta una composición característica de acuerdo con el tipo de plástico y también relacionado con el ambiente donde se encuentre. Un aspecto menos estudiado es la contribución biogeoquímica de la plastisfera, aspecto que ha sido preliminarmente evaluado desde un enfoque experimental durante el crucero oceanográfico (Cimar 21 y FIP Montes Submarinos) mediante la recolección de microplástico desde 5 m de profundidad en ambientes contrastantes en su condición trófica basada en reservorios de nutrientes en el agua del Pacífico Sudoriental incluyendo sitios más oligotróficos del Giro Subtropical. Los experimentos se basaron en la determinación de tasas de cambio de gases de efecto invernadero y una caracterización de la comunidad microbiana activa basada en iTag 16S rRNA además de la cuantificación de grupos microbianos nitrificantes mediante RT-qPCR. Estos experimentos muestran un rango de CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O desde un consumo de -20.5 a una producción +4.5 μmol/m<sup>2</sup>/d de GEI. La mayor producción de GEI se encontró en la condición ambiental de transición desde la zona costera hacia el giro. La comunidad microbiana de la plastisfera se caracterizó por presenta grupos microbianos de bacterias asociadas a las Proteobacterias, incluyendo gamma y betaproteobacterias, además de Bacteroidetes que varían de acuerdo con el sitio de recolección, incluyendo grupos quimioautótrofos que posiblemente participan en la producción de gases como el N<sub>2</sub>O y recicladores de nutrientes. Experimentos cortos utilizando PET y PP expuestos en agua de mar de la zona costera confirman la presencia de una plastisfera diversa, activa y dinámica que da cuenta de un enriquecimiento en comunidades que potencialmente interactúa con los principales reservorios de nutrientes y gases de efecto invernadero en el océano.

Keywords: Plastisphere, gases de efecto invernadero, grupos funcionales, plastico

Financing: 1140356, 1171324, 1211977, FONDAP Coastal Proyecto ANID FB210021

Tipo de presentación:

## **Simposio 4**

Vigilancia Genómica

Tipo de presentación: Simposio

**Pathogen detection and genomic surveillance in wildlife: expanding the One Health approach**

**Detección de patógenos y vigilancia genómica en vida silvestre: ampliando el enfoque One Health**

**Claudio Azat<sup>1</sup>**

(1) Universidad Andres Bello, Centro de Investigación para la Sustentabilidad, Ciencias de la Vida, Republica 440, Santiago, Chile

El planeta enfrenta una cuádruple crisis ambiental. A la extinción masiva de especies, el cambio climático y la contaminación, se ha sumado con fuerza la amenaza de las enfermedades infecciosas emergentes, las que pueden provocar grandes impactos en los ecosistemas, poblaciones animales y la salud pública. El enfoque One Health propone una estrategia integradora y unificada para abordar las crecientes problemáticas de salud, reconociendo que la salud de las personas, animales y plantas están estrechamente relacionados y son interdependientes. Sin embargo, con frecuencia la vida silvestre recibe menos atención, a pesar de que en las últimas dos décadas han surgido tres pandemias de origen silvestre. El año 1999 se describe al hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* causante de la quitridiomycosis de los anfibios. Esta enfermedad es responsable de la mayor pérdida de biodiversidad asociada a un patógeno, causando la declinación de más de 500 especies de anfibios, incluida la presumible extinción de 90 especies. A partir de la secuenciación del genoma completo de *B. dendrobatidis* se identificó su origen en Asia, desde donde se diseminó a nivel global a través del comercio internacional de anfibios. El año 2002 surge en China una enfermedad respiratoria altamente contagiosa causando grandes estragos en la población. Desde esa fecha, tres epidemias por coronavirus han sido descritas, causadas por los virus SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2. La secuenciación de aislados virales ha revelado que murciélagos Asiáticos, particularmente del género *Rhinolophus*, son los reservorios naturales de los coronavirus tipo SARS, y que distintas especies animales han actuado como hospederos intermediarios facilitando la transmisión al ser humano. En octubre 2020 se detectó el virus Influenza aviar A H5N1 clado 2.3.4.4b en un pato silbón Europeo en Países Bajos. En los siguientes dos años el virus se distribuyó a nivel global dispersado por aves migratorias, causando grandes impactos en la biodiversidad y la producción avícola mundial, con casos zoonóticos en humanos que han levantado las alarmas de una posible una nueva pandemia. La detección temprana, continua vigilancia epidemiológica y genómica de patógenos en vida silvestre son cruciales para prevenir y controlar las actuales y futuras enfermedades emergentes.

Keywords: *Batrachochytrium dendrobatidis*, enfermedades emergentes, H5N1, pandemia, SARS-CoV-2

Financing: Proyecto Fondecyt Regular 1211587

Tipo de presentación: Simposio

### **Harnessing COVID-19 Evidence to Predict and Optimize Pandemic Control Strategies**

#### **Utilizando la evidencia de COVID-19 para predecir y optimizar las estrategias de control de pandemias**

**Rafael Gonzalez<sup>1</sup>**

(1) Universidad Mayor, Centro de Nanotecnología Aplicada, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Camino La Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Santiago, Chile

Based on the extensive data accumulated during the COVID-19 pandemic, we put forward simple to implement indicators that should alert authorities and provide early warnings of an impending sanitary crisis. Testing, Tracing, and Isolation (TTI) in conjunction with disciplined social distancing and vaccination were expected to achieve negligible COVID-19 contagion levels; however, they proved insufficient, and their implementation has led to controversial social, economic, and ethical challenges. This paper focuses on the development of simple indicators based on the experience gained by COVID-19 data, which provide a sort of yellow light as to when an epidemic might expand despite some short-term decrements. We show that if case growth is not stopped during the 7 to 14 days after onset, the growth risk increases considerably and warrants immediate attention. Our model examines the COVID contagion propagation speed and how it accelerates as a function of time. We identify trends that emerge under the various policies that were applied, as well as their differences among countries. The data for all countries was obtained from ourworldindata.org. Our main conclusion is that if the reduction spread is lost during one, or at most, two weeks, urgent measures should be implemented to avoid scenarios in which the epidemic gains strong impetus.

Keywords: COVID-19

Tipo de presentación: Simposio

### **Genomic Epidemiology in Emergent Diseases (GENE2DIS)**

#### **Epidemiología Genómica en Enfermedades Emergentes (GENE2DIS)**

**Cecilia Vial**<sup>1</sup>, Rafael Araos<sup>1</sup>, Cecilia Poli<sup>1,3</sup>, Pablo Vial<sup>1,3</sup>, Katia Abarca<sup>2</sup>, Marcela Ferres<sup>2</sup>, Juan Ugalde<sup>4</sup>, Johanna Acevedo<sup>1</sup>, Thomas Weitzel<sup>1,3</sup>

(1) Clínica Alemana Universidad del Desarrollo, Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Facultad de Medicina, Av. Plaza 680, Santiago, Chile

(2) Universidad Católica de Chile, Departamento de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Medicina, Marcoleta 340, Santiago, Chile

(3) Clínica Alemana, Vitacura 5951, Santiago, Chile

(4) Universidad Andres Bello, Facultad Ciencias de la Vida, República 440, Santiago, Chile

La vigilancia de las enfermedades emergentes es fundamental para comprender su epidemiología y establecer respuestas inmediatas de atención médica, disminuyendo morbilidad y mortalidad. Estas son comúnmente causadas por nuevos patógenos, debido a mutaciones y/o un aumento en el rango de hospedadores, lo que resulta en infecciones zoonóticas, que pueden establecer una nueva infección en la población humana. La aparición del SARS-CoV-2 causó una pandemia con consecuencias que ilustran vívidamente los efectos de un virus de rápida evolución, que requiere una respuesta rápida. La aparición y propagación de nuevas variantes hacen que la vigilancia genómica sea urgente. Una plataforma que pueda detectar variantes circulantes, así como estudiar si producen enfermedades más graves, transmisibilidad y análisis experimental, hace que sea necesario contar con una plataforma de vigilancia genómica multidisciplinaria. En Chile, hay otros patógenos endémicos emergentes de gran interés. Desde el primer brote en 1997, nuestro grupo ha estudiado todos los aspectos de la infección por hantavirus (ANDV). ANDV se transmite de persona a persona, una característica única y preocupante que le da a este virus el potencial de constituir una epidemia o arma biológica. Otra infección zoonótica emergente con una morbilidad y mortalidad potencialmente significativas se ha descubierto recientemente en el sur de Chile. Esta es una infección bacteriana transmitida por vectores llamada tifus de los matorrales, endémica en partes de la región de Asia y el Pacífico, causada por la rickettsia *Orientia tsutsugamushi*. Chile representa el único foco endémico conocido de tifus de los matorrales fuera del llamado triángulo tsutsugamushi, coduciendo a un importante cambio de paradigma en la epidemiología de esta infección transmitida por vectores.

Construir una plataforma multidisciplinaria de epidemiología genómica es fundamental para establecer una respuesta rápida a las anomalías epidemiológicas detectadas en infecciones emergentes. Es crucial contar con personal capacitado para la secuenciación y análisis bioinformático, junto con la colaboración de un núcleo de laboratorio capaz de probar las predicciones bioinformáticas *in vitro*. La colaboración con agencias nacionales como el ISP también es fundamental para informar rápidamente los hallazgos de importancia para la salud pública.

Keywords: hantavirus, rickettsia, covid, SARS-CoV-2, Vigilancia genómica

Financing: ANILLO ATE 220061, Fondecyt 1201240

Tipo de presentación: Simposio

**Microbiomes in Enclosed Spaces in the Post-Covid Era: Detection of Respiratory Viruses in the Air and Wastewater of a School and Their Impact on the Nasopharyngeal Microbiota of Schoolchildren.**

**Microbiomas en los espacios cerrados en la era post-Covid: Detección de virus respiratorios en el aire y en el agua residual de una escuela y el efecto de estos virus en la microbiota nasofaríngea de los escolares.**

**Nicolás Pacheco Camus<sup>1</sup>**, Gabriel Krüger<sup>1</sup>, Phillippi Zepeda<sup>1</sup>, Valentina Pavez Rodríguez<sup>1</sup>, Francisca Urbina Arce<sup>1</sup>, Coral Pardo Esté<sup>3</sup>, Juan Castro-Severyn<sup>2</sup>, Francisco Remonselez Fuentes<sup>2,4</sup>, Jorge H. Valdes<sup>6</sup>, Aldo Gaggero Brillouet<sup>5</sup>, Claudia Saavedra Sanchez<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile.

(2) Universidad Católica del Norte, Laboratorio de Microbiología Aplicada y Extremófilos, Departamento de Ingeniería Química, Antofagasta, Chile.

(3) Universidad Católica del Norte, Laboratorio de Ecología Molecular, Microbiología Aplicada, Facultad de Ciencias, Antofagasta, Chile.

(4) Universidad Católica del Norte, Centro de Investigación Tecnológica del Agua en el Desierto, (CEITSAZA), Antofagasta, Chile.

(5) Universidad de Chile, Laboratorio de Virología Ambiental, Instituto de Ciencias Biomédicas iCBM Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(6) Universidad Andres Bello, Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

En la era post-Covid, la investigación sobre la carga viral en el aire de espacios confinados, ha suscitado gran interés. Los microbiomas en estos sistemas cerrados tienen un impacto significativo en la salud de quienes lo habitan, pues interactúan con los virus respiratorios presentes en el ambiente. Este trabajo se centra en una escuela modelo, lugar donde la densidad estudiantil y el tiempo de exposición entre individuos son elevados, esto aumenta el riesgo de transmisión de enfermedades respiratorias. El objetivo de esta investigación es analizar la presencia de virus respiratorios tanto en el aire como en el agua residual de la escuela Rebeca Matte Bello de la comuna de Renca en Santiago de Chile. Este estudio persigue comprender cómo los virus circulantes afectan la microbiota nasofaríngea de los estudiantes, y a su vez, cómo estos virus pueden ser detectados en las aguas residuales gracias al flujo lineal aire-individuo-agua. Para llevar a cabo este estudio, se recolectaron muestras de aire, agua residual y nasofaríngeas en la escuela modelo. La detección de virus respiratorios (Adenovirus, Influenza, Virus respiratorio sincicial, metapneumovirus, rinovirus y coronavirus) en las muestras colectadas se realizó mediante técnicas de qPCR. Además, se secuenció el ARNr 16S de las muestras nasofaríngeas para su análisis metataxonómico con la finalidad de evaluar la composición, abundancia y diversidad de su microbiota.

Los datos recopilados permitieron establecer la coocurrencia entre la presencia de virus respiratorios en ambientes escolar y la estabilidad en la composición de la microbiota nasofaríngea de los estudiantes. Esto sugiere que los virus respiratorios influyen en la diversidad y la abundancia de las comunidades microbianas en las vías respiratorias de los escolares, impactando directamente en la salud de los individuos. Además se demostró que los virus presentes en el aire, son detectados posteriormente en el agua residual del establecimiento.

Este estudio no sólo arroja luz sobre la transmisión de enfermedades respiratorias en espacios cerrados, sino que también resalta la importancia de mantener un sistema de detección temprana de virus respiratorios mediante vigilancia epidemiológica y la implicancia de la microbiota nasofaríngea en la protección de la salud pública en la era post-Covid.

Keywords: Virus respiratorios, aguas residuales, microbiota, vigilancia epidemiológica

Financing: Proyecto ANILLO ATE220007

Acknowledgments: Municipalidad de Renca Escuela Rebeca Matte Bello

Tipo de presentación:

## **Simposio 5**

Bacteriófagos como herramientas para desarrollar agricultura y ganadería sustentable

Tipo de presentación: Simposio

### **Use of bacteriophages to control bacterial canker in kiwi**

#### **Uso de bacteriófagos para controlar el cancro bacteriano en kiwis**

**Roberto Bastías<sup>1</sup>**

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Av. Universidad # 330, Valparaíso, Chile

*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) es el fitopatógeno causante del cancro bacteriano en kiwis que ha causado una pandemia en los principales países productores de este fruto, incluyendo Chile. Las principales estrategias de control de este fitopatógeno incluyen el uso de cobre y antibióticos, sin embargo, su aplicación está cada vez más restringida debido a la aparición de bacterias resistentes y la contaminación que producen.

El uso de fagos como antimicrobianos se ha propuesto como alternativa para controlar estos fitopatógenos debido a su carácter natural y especificidad. En este trabajo se presenta la caracterización y uso de fagos para controlar Psa en plantas de kiwi. Inicialmente se aislaron 13 fagos, los que fueron caracterizados de acuerdo con su rango de hospedero, patrón de restricción de su genoma y tolerancia a condiciones ambientales. Se seleccionaron 4 fagos (CHF1, CHF7, CHF19 y CHF21) para evaluar su efectividad en el control de Psa, descartándose previamente la presencia de genes asociados a virulencia o resistencia antimicrobiana. A través de ensayos in vitro (en laboratorio) e in vivo (en condiciones de invernadero) se demostró que estos fagos son capaces de reducir la carga bacteriana de Psa en al menos un 50% y reducen significativamente el daño producido por la bacteria en plantas de kiwi. A través de ensayos realizados en campos con distintas condiciones agroclimáticas (Peumo, Región de O'Higgins, y Linares, Región del Maule, Chile), durante dos temporadas (2019 y 2020), se demostró que la aplicación de fagos consistentemente reduce los daños producidos por Psa en cultivos de kiwi en comparación a plantas que reciben tratamiento con cobre. Más aún, durante la segunda temporada de ensayos se observó que las plantas que recibieron tratamientos con fagos mostraron un índice de daño un 20% menor que el índice de daño observado en las plantas sin tratamiento (32% en Peumo y 30% en Linares).

Estos resultados muestran que los fagos tienen el potencial para combatir las infecciones producidas por Psa en condiciones reales de producción de kiwi. Esperamos que este estudio contribuya al desarrollo de nuevas herramientas sustentables para la industria del kiwi en Chile.

Keywords: fagos, *pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, psa, kiwi, phage therapy

Financing: FONDEF ID15I20032



Tipo de presentación: Simposio

### **Challenges of the development of bacteriophage-based intervention to control *Salmonella* in chickens**

#### **Desafío de la aplicación de bacteriófagos para controlar *Salmonella* en carne de pollo**

**Andrea Moreno Switt<sup>1</sup>**

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina Veterinaria, Av. Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago, Chile

**Introduction.** *Salmonella* is one of the most important foodborne pathogens that, not only causes an estimated global burden of 93 million cases and 155,000 deaths, but also is the main cause of hospitalizations and deaths due to foodborne illnesses. A recent estimation attributed chicken and their meat as the main cause of salmonellosis, then, developing intervention in this commodity is crucial to reduce this burden. Bacteriophages represent a promising intervention to apply in a multiple hurdle approach.

**Purpose.** To develop a pipeline to study phage biology with the aim of developing a phage cocktail targeting predominant *Salmonella* strains found in humans, animals, and the environment.

**Results.** We obtained a collection of 425 *Salmonella* bacteriophages from fecal and environmental samples from diverse animals (chicken, swine, reptiles, wild birds, and foods). These phages were screened on their activity against *Salmonella* serovars Typhimurium, Infantis, and Enteritidis. We identified six phages specific to these strains of interest. These phages were sequenced and characterized for host range and lytic abilities. A panel of 10 *S. Infantis* and 23 other *Salmonella* serovars were used to identify the best phages combination. Two trials were then conducted, i) an intervention model in chickens infected with *S. Infantis* that evaluated a microencapsulated cocktail, which reduced 2 logs of *S. Infantis*; and ii) an intervention model in chicken breast, which reduced *S. Infantis* below the detection limit of MPN/gr.

**Significance.** Our approach shows that it is crucial to understand the host, the phage, and the system to further advance in phage-based interventions.

**Keywords:** bacteriophage, *Salmonella*, chickens

**Financing:** FONDECYT Regular 1181167 and 1231082, and FONDEF-Idea ID23I10093

Tipo de presentación: Simposio

**Exploring the potential of a bacteriophage mixture for the management of black rot on brassica crops, a disease caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris***

**Explorando el potencial de una mezcla de bacteriófagos para el manejo de la pudrición negra en cultivos de Brassica, enfermedad causada por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris***

**Inés-Marlene Rosales<sup>1</sup>**, Gabriel Paba<sup>1</sup>, Marcela Paz Muñoz<sup>1</sup>, Elizabeth Peña<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ciencias Vegetales, Facultad de Agronomía y Sistemas Naturales, Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago, Chile

*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) is a Gram-negative bacterium that invades vascular tissue, causing the disease known as black rot in brassica crops. In Chile, the brassica seed production market represents 25% of the total value of exported vegetable seeds, with Brassica oleracea being the primary species. Management of this disease predominantly relies on the application of copper-based pesticides and antibiotics like streptomycin. However, these practices contribute to environmental contamination and generation of resistance. Given the challenges of controlling bacterial diseases in agriculture, novel strategies are emerging that employ naturally occurring microorganisms to mitigate impacts on non-target organisms and the environment. One such alternative involves the utilization of bacteriophages, which are viruses that exclusively infect and replicate within bacteria. This study focuses on the biological and genetic characterization of two new lytic bacteriophages, named Phages M and G, which exhibit biocontrol potential against Xcc. The complete sequence of both genomes, conducted through de novo methods and comparative analysis, revealed sequences with low similarity to those deposited in the NCBI database. Genome analysis determined a size of 42.4 kb for the G phage, and 44.5 kb for phage M. Notably, no genes associated with lysogeny or antibiotic resistance were detected in their genomes. Both phages demonstrated a broad host range across a collection of Xcc isolates, encompassing samples from both Chilean and European origins. Moreover, these phages exhibited stability at temperatures exceeding 50°C and within a pH range of 2-11. They also exhibited tolerance to both UV-A and UV-B radiation and demonstrated systemic mobility within plants. Experiments conducted on cabbage plants under controlled conditions of temperature and humidity revealed that a phage mixture at a concentration of 10<sup>8</sup> (UFP/mL) exhibited curative effects on Xcc. These results demonstrate that these phages have the potential to be used as biocontrol agents to fight this disease, providing several benefits while protecting the environment, human health and biodiversity.

Keywords: Bacteriophages, Biocontrol, Phytobacteria, Plant pathogen

Financing: FONDEF IDeA ID18110187 Concurso Acelerador de Resultados de Investigación- CIENCIA E INNOVACIÓN 2030 UC

Tipo de presentación:

## **Simposio 6**

Patrones microbianos y enfermedad en el eje oral-intestinal

Tipo de presentación: Simposio

### **Role of the gut microbiota and metabolome in enteric infections**

### **Rol de la microbiota y el metaboloma intestinal en las infecciones entéricas**

#### **Mauricio Farfan<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Chile, Pediatría y Cirugía Infantil, Campus Oriente-CICA Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna, Medicina, Antonio Varas 360, Santiago, Chile

The expression of virulence genes in enteropathogens is a highly regulated process mediated by the environment and/or bacterial regulators. Under well-defined environmental conditions, the expression of virulence genes occurs at a specific site, allowing bacteria to initiate the infection process. Pathogens such as diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC) colonize the intestinal mucosa and encounter an environment that is strongly regulated by the resident microbiota and its metabolites. Several reports have demonstrated that a distinctive fecal gut microbiota is found in children suffering from diarrhea, such as those associated with infection by DEC pathotypes, compared with healthy individuals. These changes in microbiota composition have been associated with metabolites present in the intestinal tract that might favor interactions between the intestinal microbiota and the infecting pathogen. Compounds such as mucin, succinate, hydrogen, bile acids, autoinducers, and short-chain fatty acids (SCFA) have been implicated in this crosstalk between the microbiota and the pathogen. Although these metabolites have been associated with the regulation of virulence in enteropathogens, determination of its abundance in diarrheal episodes caused by DEC is limited. Our group has focused on describing the changes in the gut microbiota and metabolome in children under 5 years of age suffering from acute diarrhea. Our data might help decipher the molecular mechanisms underlying DEC infection and enable strategies for the prevention or treatment of diarrhea.

Keywords: microbiota, metabolome, enteric infection, Diarrheogenic *E. coli*, Diarrhea

Financing: Fondecyt-ANID 1200994

Tipo de presentación: Simposio

**Los hongos de la cavidad oral: Micotipos salivales y potencial predictivo de enfermedades orales**

**Oral fungi: salivary mycotypes and their predictive role in oral diseases**

**Anilei Hoare<sup>1</sup>.**

(1) Without Affiliation. anileipaz@gmail.com

Más allá de la presencia de especies del género *Candida*, la cavidad oral representa un ambiente propicio para el desarrollo de hongos, principalmente unicelulares que enriquecen la abundante microbiota oral. Dentro de estos, se encuentran *Malassezia* spp, históricamente reconocidas como habitantes de la piel, que pudimos identificar como un componente importante de la microbiota oral. Interesantemente, mediante técnicas moleculares y microbiológicas, hemos podido establecer la presencia de dos micotipos salivales predominantes en una cohorte de 59 pacientes. Uno de estos, enriquecido en especies del género *Candida* que correlaciona con la presencia de especies bacterianas más asociadas a caries dental, y uno enriquecido en especies del género *Malassezia*, menos diverso y mayormente relacionado con la presencia de bacterias asociadas a inflamación gingival otros parámetros clínicos característicos de la periodontitis.

Así, hemos podido definir dos patrones microbianos que se asocian a ambiente contrastantes en la cavidad oral, y que resltan la relevancia en las interacciones microbianas inter-reinos que podrían relacionarse con una may susceptibilidad a enfermedades de origen micorbiano. Las implicancias de esta interacciones locales en zonas extraorales quedan aún por determinarse.

Palabras Clave (1) interacciones bacteria-hongo, (2) micobioma oral, (3) ecología microbiana.

Financiamiento: FIOUCH S19-12

NIH/NIDCR #1R21DE023967-01

Tipo de presentación: Simposio

**Microbial dysbiosis of the oral microbiome, its study in humans and animal models**

**La disbiosis del microbioma oral, su estudio en humanos y modelo animal**

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

(1) Universidad de Chile, Patología y Medicina Oral, Laboratorio de Microbiología e Inmunología Oral, Odontología, Olivos 943, Independencia, Santiago, Chile

El microbioma que se encuentra en la cavidad oral tiene un papel fundamental en la mantención de la salud, no solo a nivel local, sino también impacta de manera importante la salud sistémica. El desequilibrio de estas comunidades microbianas orales, conocido como disbiosis, es parte fundamental del origen de las principales patologías a este nivel. Entre éstas, encontramos las enfermedades a las encías, y dentro de ellas la periodontitis, destaca como la condición más prevalente en Chile y el mundo, caracterizada por la destrucción de los tejidos que soportan los dientes, puede culminar con la pérdida de éstos. Hemos podido caracterizar en pacientes la disbiosis bacteriana que subyace la periodontitis, y además hemos podido contrastar dichos resultados de pacientes chilenos con estudios realizados en diversas poblaciones, encontrando patrones microbianos conservados de acuerdo al estado de salud gingival. Por otra parte, otra aproximación experimental para estudiar esta disbiosis y el microbioma oral en general es la utilización de modelos animales, en particular el modelo de periodontitis inducida por ligadura en el ratón, en el cual hemos podido evidenciar que existen diversos patrones microbianos que subyacen la pérdida de los tejidos, a través de re-análisis bioinformáticos. Además, nuestros estudios más recientes nos han permitido entender un poco mejor la temporalidad respecto a cómo se genera esta disbiosis en el ecosistema periodontal, revelando que existe un aumento importante muy temprano de la biomasa bacteriana, el cual antecede los cambios composicionales y estructurales que se evidencian en estas comunidades. A través de este y otros tipos de análisis, se puede comprender mejor cómo se inicia y perpetúa la disbiosis a este nivel, y cómo puede estar contribuyendo en la pérdida de los tejidos, con miras a poder mejorar nuestro entendimiento de la patogénesis de la periodontitis y plantear, en un futuro, nuevas aproximaciones preventivas y terapéuticas.

Keywords: microbioma oral, disbiosis, periodontitis, secuenciación

Financing: Proyecto FONDECYT regular 1231728, 1231350 (ANID, Chile) y R01DE031213-01(NIDCR, NIH, USA).

Acknowledgments: Laboratorio de Microbiología e Inmunología oral, Fac. Odontología, Universidad de Chile

Tipo de presentación:

## **Simposio 7**

Red Vibrio 2023, perspectivas actuales

Tipo de presentación: Simposio

## **Interaction networks between vibrios and bacteriophages**

### **Redes de interacción entre vibrios y bacteriófagos**

**Roberto Bastías<sup>1</sup>**

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Av. Universidad # 330, Valparaíso, Chile

Los vibrios son muy abundantes y diversos en ambientes marinos, entre estos encontramos especies patógenas como *V. cholerae* y *V. parahemolyticus*. Su abundancia está influenciada por diversos factores ambientales, como la temperatura, salinidad y la presencia de bacteriófagos.

Los fagos influyen directamente en la ecología, evolución y virulencia de los vibrios, pero la mayoría de los estudios se han centrado en parejas únicas de fago-bacteria, mientras que en la naturaleza existen múltiples fagos y vibrios interactuando simultáneamente. Por tanto, se necesitan nuevas estrategias para estudiar las redes de interacción entre vibrios y fagos.

En este estudio se utilizaron tanto métodos de bioinformática como de cultivo clásicos para explorar distintos aspectos de estas interacciones. En primer lugar, se evaluó la distribución de profagos portadores de la toxina zot en 4619 genomas de vibrios. Se encontraron 2030 posibles profagos portadores de zot de 13 tipos distintos, presentes en 43 especies de *Vibrio*. Algunos profagos, como CTX, se encontraron en sólo tres especies, mientras que otros, como phiVCY, se encontraron en 28 especies, lo que sugiere que fagos de amplio rango de hospedero serían más relevantes en la diseminación de la toxina zot entre los distintos vibrios.

En segundo lugar, se aislaron 29 fagos desde la bahía de Valparaíso (Chile) y se utilizaron 40 vibrios como hospederos para evaluar el efecto de diferentes condiciones ambientales en las redes de infección utilizando el ensayo de EOP. Se observó que algunos fagos cambiaban su rango de hospedero, alterando las propiedades de la red. El mayor anidamiento se observó a 15°C, 2.3% de NaCl y pH 7 donde 23 vibrios fueron infectados (NODF 28.74, conectancia 0.25), mientras que el menor anidamiento se observó a 25°C, 2.3% de NaCl y pH 5.5 (NODF 7.64, conectancia 0.23). Esto indica que los cambios en las condiciones ambientales pueden alterar la red de infección entre fagos y vibrios.

Este estudio muestra las complejas interacciones entre vibrios y sus fagos, que están marcadas por la presencia de fagos especialistas y generalistas. Entender cómo estas interacciones pueden ser alteradas por condiciones ambientales es importante frente a fenómenos como el calentamiento global.

Keywords: VIBRIO, FAGO, BACTERIÓFAGOS, REDES

Financing: FONDECYT 1200521



Tipo de presentación: Simposio

**Exploring the potential of short-chain fatty acids as modulators of the inflammatory response to Vibrio: implications for human health**

**Explorando el potencial de los ácidos grasos de cadena corta como moduladores de la respuesta inflamatoria ante Vibrio: Implicaciones para la salud humana**

**Diliana Celeste Pérez Reytor<sup>1</sup>**, Eduardo Karahanian<sup>1</sup>, Katherine García Jara<sup>1</sup>

(1) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencia Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Llano Subercaseaux 2801 5to piso. San Miguel, Santiago, Chile

Las uniones estrechas (TJ) se localizan en la membrana lateral de las células epiteliales y regulan el paso de macromoléculas y la entrada de patógenos desde el líquido extracelular hacia los tejidos. No obstante, los microorganismos entéricos comprometen o alteran estas TJ mediante la acción de sus toxinas secretadas, lo que les permite colonizar el intestino e inducir inflamación. Por otro lado, se ha evidenciado que los ácidos grasos de cadena corta (SCFA por sus siglas en inglés), como el butirato, el propionato y el acetato, resultan eficaces en fortalecer la resistencia transepitelial de las células intestinales al activar los receptores GPR109A y/o GPR43. Esto conlleva a una disminución de la inflamación y a una mejora en la función de barrera intestinal. Estos hallazgos los convierten en candidatos sobresalientes para abordar enfermedades que implican daños en el epitelio intestinal.

Por tanto, el propósito de este estudio radica en determinar si la activación de los receptores GPR109A y/o GPR43 por el butirato reduce la producción de citoquinas inflamatorias inducidas por Vibrio en células HT-29. Para evaluar el potencial antiinflamatorio de la activación de GPR109A y/o GPR43 por el butirato, evaluamos la expresión de las citoquinas TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  a través de RT-qPCR en células HT-29 expuestas a la cepa PMC53.7 de *Vibrio parahaemolyticus*, en presencia y ausencia de antagonistas de los receptores, en dos escenarios: preincubación con butirato de sodio (NaB) durante 16 horas o sin preincubación. Observamos que la preincubación de 16 horas con NaB reduce la expresión de ambas citoquinas inflamatorias cuando posteriormente se exponen a PMC53.7.

El antagonista de GPR43, GLPG0974, bloquea la influencia del NaB en la expresión de TNF- $\alpha$ , lo que sugiere que el butirato disminuye la expresión de esta citoquina al interactuar y transmitir señales a través de GPR43. Estos resultados nos brindan la oportunidad de postular la utilidad terapéutica potencial del butirato en la recuperación del epitelio intestinal dañado por infecciones bacterianas que secretan toxinas que afectan la integridad de la barrera epitelial.

Keywords: Butirato, ácidos grasos de cadena corta, *Vibrio parahaemolyticus*, Uniones estrechas

Financing: Proyecto interno de avanzada DIUAV 02-2022

Tipo de presentación: Simposio

**Identificación de un nuevo efector en el T3SS2 de *Vibrio parahaemolyticus* que contienen un dominio serina/treonina quinasa conservado**

**Identification of a novel *Vibrio parahaemolyticus* T3S effector containing a conserved serine/threonine kina domain**

**Nicolas Plaza<sup>1</sup>.**

(1) Without Affiliation.

nicolas.plaza@uautonoma.cl

*Vibrio parahaemolyticus* es la principal causa de gastroenteritis asociada al consumo de productos del mar en el mundo y son las cepas derivadas del clon pandémico con el Sistema de Secreción de Tipo III 2 (T3SS2) las principales en causar enfermedad. Los T3SS son nanomáquinas proteicas que permiten el transporte de proteínas bacterianas, conocidas como efectores, directamente al citoplasma de célula eucariontes, para controlar diversas vías de señalización celular.

Antes de este estudio, se habían descrito 9 efectores del T3SS2. En nuestro laboratorio, se identificó al ORF VPA1328 como posible nuevo efector del sistema, el cual presenta homología al efector de *Vibrio cholerae* VopG, de función desconocida. Adicionalmente, se identificó una posible similitud de VPA1328 a las serina/treonina quinasa de la familia NleH, involucradas en el bloqueo de la muerte celular y promoción de la supervivencia celular durante la infección.

Para determinar si VPA1328 es un efector, se realizó un ensayo de secreción al medio extracelular y de translocación a células infectadas a través del T3SS de *V. parahaemolyticus*. Mediante el reportero de la adenilato ciclasa (CyaA'), el cual fue detectado por inmunodetección para la secreción y cuantificada la producción de AMPc para comprobar la translocación a células Caco-2. Además, bioinformáticos revelaron que VPA1328 se encontraba distribuido en siete especies bacterianas de los géneros *Vibrio* y *Shewanella* (denominándolos como Familia VopG),

y que en la secuencia aminoacídica existía un dominio serina/treonina quinasa en el extremo C-terminal, el cual presenta similitud al dominio quinasa de la familia NleH, sugiriendo una potencial actividad quinasa para VPA1328.

Finalmente, ensayos de infección *in vitro* en células HeLa y Caco-2 demostraron que VPA1328, a diferencia de proteínas de la familia NleH, no contribuye a la supervivencia celular en células infectadas por *V. parahaemolyticus*. En conjunto, los resultados obtenidos permitieron identificar al décimo efector del T3SS2 de *V. parahaemolyticus*, el cual posee un dominio serina/treonina quinasa semejante a la familia NleH y está distribuido en diversas especies bacterianas.

Palabras Clave:

(1) *Vibrio parahaemolyticus*, (2) T3SS, (3) Sistema de secreción, (4) efector, (5) patogenesis.

Financiamiento:

(HHMI)-Gulbenkian International Research Scholar 55008749, FONDECYT 1201805 y RED1170269 (ANID) (C.J.B). FONDECYT 3200874 (ANID) (I.M.U) y FONDECYT 1190957 (ANID) (KG).

Agradecimientos:

Agradecimientos a los miembros del Laboratorio Blondel por sus útiles debates sobre todos los aspectos de este proyecto y por sus comentarios sobre el manuscrito.

Tipo de presentación:

## **Simposio 8**

Levaduras: Organismos modelo con aplicaciones biotecnológicas

Tipo de presentación: Simposio

**Optimization of fermentative processes based on multiomic analysis of *Saccharomyces* yeast metabolism**

**Optimización de procesos fermentativos basada en el análisis multiómico del metabolismo de levaduras del género *Saccharomyces***

**Amparo Querol<sup>1</sup>**

(1) Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Departamento de Biotecnología, C/ Catedrático Agustín Escardino Benlloch, 7, Paterna, Valencia, España

*Saccharomyces cerevisiae*, es la especie de levadura más utilizada en procesos fermentativos industriales. Su capacidad de fermentar en concentraciones elevadas de azúcares, tolerar concentraciones altas de etanol y soportar la adición de sulfitos, son algunos de los factores que explican su éxito en fermentaciones. El metabolismo fermentativo de *S. cerevisiae* en condiciones enológicas se conoce bien, sin embargo, poco sabemos sobre el metabolismo de las especies *S. uvarum* y *S. kudriavzevii*, quienes han suscitado recientemente el interés del sector vitivinícola por sus buenas propiedades fermentativas a bajas temperaturas, reducción del contenido en etanol en los vinos, incremento del contenido en glicerol y una alta complejidad aromática, propiedades que pueden contribuir a paliar los problemas asociados con el cambio climático en el sector. Este trabajo pretende ampliar nuestros conocimientos sobre el metabolismo fermentativo de *S. uvarum* y *S. kudriavzevii* en condiciones enológicas que nos ha permitido describir las diferencias existentes entre estas especies y cepas de *S. cerevisiae* de distintos orígenes. Para ello, hemos analizado la dinámica de los metabolomas y transcriptomas de cepas representativas de estas especies a diferentes temperaturas de fermentación. También, hemos desarrollado un modelo metabólico a escala de genoma que, junto a un análisis de balance de flujos, nos ha permitido cuantificar los flujos a través del metabolismo del carbono y del nitrógeno de levaduras en cultivo batch; así como el desarrollo de gemelos digitales (DT), técnicas de monitorización y control predictivo para ayudar a los enólogos a conseguir una producción más responsable con el medio ambiente.

Keywords: Biología de sistemas, Levaduras, Enología, flujo metabólico

Tipo de presentación: Simposio

**Wine yeast as a celular factory for biotechnological production of bioactive molecules**

**La levadura vínica como factoría celular para la producción biotecnológica de moléculas bioactivas**

**José Manuel Guillamón<sup>1</sup>**

(1) Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos - Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IATA-CSIC), Departamento de Biotecnología, Paterna (Valencia), España

La creciente demanda por parte de la sociedad de un estilo de vida más saludable y una mayor esperanza de vida supone un gran reto para las industrias alimentaria y farmacéutica a la hora de encontrar fuentes naturales y efectivas para medicamentos e ingredientes alimentarios beneficiosos para la salud. Algunas de las moléculas derivadas del metabolismo de los aminoácidos aromáticos (AA) de las levaduras, tales como la melatonina, serotonina, tirosol e hidroxitirosol, han despertado recientemente una gran atención debido a sus propiedades beneficiosas para la salud. En nuestro grupo, aprovechando nuestro trabajo de muchos años en el metabolismo de nitrógeno, hemos iniciado una nueva línea que tiene como objetivo el uso de la levadura vínica como una factoría celular para la síntesis de algunos de los metabolitos mencionados anteriormente. En la siguiente ponencia, se explicará las diferentes estrategias de ingeniería metabólica y biología sintética para la obtención de levaduras super-productoras de hidroxitirosol y melatonina, así como su optimización para conseguir una producción viable a nivel industrial.

Keywords: Levadura vínica, biotecnología, moléculas bioactivas

Tipo de presentación: Simposio

### **Optogenetic control of metabolic genes in yeast**

#### **Control optogenético de genes metabólicos en levadura**

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

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile

(2) ANID–Iniciativa Científica Milenio–Instituto Milenio de Biología Integrativa (iBIO), Santiago, Chile

La optogenética permite el control reversible de procesos biológicos utilizando luz como inductor. En la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, los interruptores optogenéticos son sistemas sintéticos basados en fotorreceptores que permiten la activación transcripcional de cualquier gen de interés en respuesta a un estímulo lumínico. Uno de estos interruptores es el sistema FUN-LOV (FUNgal Light Oxygen and Voltage), el cual está basado en la interacción proteína-proteína de dos fotorreceptores de luz azul, WC-1 y VVD, provenientes del hongo *Neurospora crassa*. En nuestro grupo de investigación hemos trabajado en la optimización molecular del sistema FUN-LOV, generando nuevas variantes llamadas FUN-LOV<sup>SP-Nat</sup> y FUN-LOV<sup>SP-Hph</sup>, las cuales pueden ser integradas en el genoma de la levadura y son funcionales en cepas vínicas de levadura. De esta forma, utilizamos la variante FUN-LOV<sup>SP-Hph</sup> para controlar por luz la producción de glicerol en una cepa vínica industrial. Adicionalmente, controlamos genes adquiridos por transferencia horizontal presentes en una cepa vínica, mejorando su capacidad fermentativa. Finalmente, estamos explorando otros fotorreceptores fúngicos para el desarrollo de nuevos interruptores optogenéticos en levadura, identificando en *Botrytis cinerea* un fotorreceptor con capacidad de auto-dimerización y activación transcripcional en respuesta a luz azul. En conclusión, los interruptores optogenéticos basados en fotorreceptores fúngicos permiten la activación, dependiente de luz, de cualquier gen metabólico en levaduras cambiando el fenotipo fermentativo.

Keywords: Levadura, optogenética, metabolismo, fermentación

Financing: ANID-FONDECYT 1210955

Tipo de presentación:

## **Simposio 9**

InflammAIDS

Tipo de presentación: Simposio

### **Current status of HIV**

### **Estado actual del VIH**

#### **Claudia Cortés<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Chile, Medicina, Medicina, Santa Elvira 629, Santiago, Chile

Actualmente se estima que hay 39,0 millones de personas que viven con el VIH (PVVIH) en todo el mundo. De ellas, 37,5 millones son adultos y 1,5 millones son niños. El 53 % de todas las personas que viven con el VIH son mujeres y niñas.

En 2022, se registraron 1,3 millones de nuevas infecciones por el VIH, una disminución del 21 % respecto a 2021. Sin embargo, las muertes por el sida se mantuvieron estables en 630.000. En Latino América, no obstante las cifras van en la dirección contraria, con un aumento de casos de un 5% y estabilidad en el número de fallecidos

La falta de acceso a la prevención, el diagnóstico y el tratamiento del VIH sigue siendo un desafío importante en muchos países.

Chile tiene acceso garantizado a través del GES a diagnóstico, tratamiento y controles médicos.

Los programas de prevención del VIH, como el uso de preservativos y la profilaxis preexposición (PrEP), han contribuido a la reducción de las nuevas infecciones en algunas regiones del mundo, llegando a casi desaparecer los nuevos casos, no obstante la realidad local dista bastante de aquello.

En la presentación revisaremos las epidemiología mundial, regional y nacional

Los significativos avances en tratamiento y el pipeline que viene a cambiar el enfrentamiento del VIH

Keywords: HIV/AIDS, epidemiología, terapia antiretroviral, PrEP

Financing: Anillo ATE220016, Inflammation in HIV/AIDS - InflammAIDS



Tipo de presentación: Simposio

### Dysbiosis and inflammation, obstacles for CD4 recovery in patients with HIV: a Chilean pilot study

### Disbiosis e inflamación, obstáculos para la recuperación de linfocitos T CD4 en pacientes con VIH

**Gabriel Castillo Rozas**<sup>1,2,3,4</sup>, Hermy Alvarez<sup>5</sup>, Fabian Tempio<sup>2,3</sup>, Jacqueline Aldridge<sup>5</sup>, Consuelo Merino<sup>2,3</sup>, Marcelo Navarrete<sup>5</sup>, Andres Soto<sup>8,9</sup>, Mercedes N Lopez<sup>2,3</sup>, Ricardo Soto-Rifo<sup>1,3,4</sup>, Claudia P Cortes<sup>4,6,7</sup>

(1) Universidad de Chile, Laboratorio de Virología Molecular y Celular, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Laboratorio de Regulación e Inmunoedición del Cáncer, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(3) Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Santiago, Chile

(4) Universidad de Chile, Center for HIV Integral Research (CHAIR), Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(5) Universidad de Magallanes, Centro Austral de Tecnología Genómica, Facultad de Medicina, Punta Arenas, Chile

(6) Universidad de Chile, Departamento de Medicina Interna Centro, Facultad de Medicina Campus Centro, Santiago, Chile

(7) Hospital Clínico San Borja-Arriarán, Fundación Arriarán, Santiago, Chile

(8) Universidad de Chile, Departamento de Medicina Interna Oriente, Facultad de Medicina Campus Oriente, Santiago, Chile

(9) Hospital del Salvador, Servicio de Medicina Interna, Sección Infectología, Santiago, Chile

**Introducción.** Un grupo de pacientes con VIH (PVV) no logra restablecer el recuento de linfocitos T CD4 a pesar del éxito de la terapia antirretroviral (TAR). Nuestra hipótesis es que un estado proinflamatorio impulsado por la composición del bacterioma intestinal podría obstaculizar la reconstitución inmune después del inicio del TAR.

**Métodos.** Realizamos un estudio analítico transversal. Se invitó a participar a pacientes indetectables en dos centros de VIH en Santiago y a voluntarios VIH negativos (VSN) previa firma de un consentimiento informado. Los pacientes bajo tratamiento se dividieron en 2 grupos: respondedores inmune (RI) y no respondedores (INR), según su recuento absoluto de CD4 y su aumento del recuento después de 12 meses de iniciada la TAR. La composición del bacterioma intestinal se analizó mediante la secuenciación del gen 16S rRNA. Se aislaron PBMC de muestras de sangre y se evaluaron los perfiles de activación de los linfocitos T CD4 mediante citometría de flujo. Las citocinas plasmáticas y los marcadores asociados a la translocación microbiana se midieron utilizando un kit Luminex®.

**Resultados.** Se reclutaron 21 IR, 12 INR y 20 VSN. La mayoría eran hombres (89%) y HSH (79%). Los VSN eran más jóvenes (28,5 vs 45 y 50 años,  $p < 0,0001$ ), tenían un IMC más bajo y consumían más alcohol y marihuana que las PVV. Encontramos citoquinas proinflamatorias elevadas (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18) entre las PVV, así como marcadores elevados de disfunción intestinal (MMP-7) y translocación microbiana (sCD163), sin diferencias entre los IR y INR. Además, encontramos una mayor abundancia de células T CD8+ IFN- $\gamma$ + y células T CD4+ activadas en los INR en comparación con los otros dos grupos. Finalmente, al comparar INR e IR, se observó una mayor abundancia relativa de *Prevotellaceae* (16,5 vs 12,8%), *Oscillospiraceae* (12,7 vs 7,7%) y *Lachnospiraceae* (12,7 vs 8,4%), así como una disminución de *Peptoniphilaceae* (10,9 vs 17,6 %).

**Conclusiones.** A pesar de las diferencias reportadas entre los grupos, no encontramos una diferencia relevante en las composiciones de bacteriomas intestinales de PVV y VSN. Algunas variables no controladas podrían explicar este resultado (IMC, consumo de sustancias, duchas rectales).

Keywords: Reconstitución inmune, microbiota, InflammAIDS

Financing: Tesis financiada por FONDECYT 1190156 (Ricardo Soto Rifo), FONDEF IT 19I0061 (Mercedes López) y Proyecto Anillo Inflammation in HIV/AIDS (InflammAIDS) -ATE220016-.

Tipo de presentación: Simposio

**Study of molecular mechanisms associated with the inflammatory response induced by HIV-1 replication in microglia**

**Estudio de mecanismos moleculares asociados con la respuesta inflamatoria inducida por la replicación del VIH-1 en microglía**

Camila Pereira-Montecinos<sup>1</sup>, Masyelly Rojas<sup>5</sup>, Victoria Rojas-Celis<sup>1,2</sup>, Ivanna Orellana<sup>3</sup>, Patricia Luz-Crawford<sup>5</sup>, Fernando Valiente-Echeverría<sup>2</sup>, Loreto Fuenzalida-Inostroza<sup>6</sup>, Sebastián Reyes-Cerpa<sup>3,4</sup>, Ricardo Soto-Rifo<sup>2</sup>, **Daniela Toro Ascuy**<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(3) Universidad Mayor, Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Santiago, Chile

(4) Universidad Mayor, Escuela de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Santiago, Chile

(5) Universidad de los Andes, Centro de Investigación e Innovación Biomédica, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(6) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de ciencias de la salud, Santiago, Chile

Currently, 30-50% of patients living with HIV-1 could develop some level of HIV-associated neurocognitive disorders (HAND). HAND is an immunopathological process produced by viral and cellular factors. One relevant process in HAND is the activation of microglia infected with HIV-1, producing the release of viral proteins and proinflammatory cytokines (such as Interferon (IFN), interferon-stimulated genes (ISGs), IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-10, and IL-1 $\beta$ ) causing neuronal damage. At transcriptional and post-transcriptional regulation levels, we explore two mechanisms that may be relevant to regulate the inflammatory process induced by HIV-1: epitranscriptomic mediated by m6A and the role of long non-coding RNAs (LncRNAs). In this work, we evaluated the effect on LncRNA and the abundance of the m6A modification in mRNAs associated with a proinflammatory response in microglia infected with HIV-1(VSV-G). Using MeRIP-seq, we analyzed the m6A profiles of the mRNAs, and with RNA-seq, we analyzed the transcript expression levels (mRNA and LncRNA), focusing on those that could play a role in Immune Response (IR). In these analyses, 303 ISGs changed their m6A status, and 121 LncRNAs changed their expression levels in HIV-1 (VSV-G) infected microglia. Of the total RNAs analyzed, we selected the two ISGs: STAT2 and ADAR; and four LncRNAs: Linc00640, Linc00574, PROSER2-AS1, and SPANXA2-OT1, which in our bioinformatic predictions interact with IR-related molecules. For STAT2 and ADAR, we validated the abundance of m6A using MeRIP-RTqPCR and observed an m6A-enrichment in both transcripts in infected cells. Additionally, we analyzed STAT2 and ADAR mRNA levels by RT-qPCR, and protein levels by Western blotting. As result, only STAT2 reduces its mRNA levels, and no changes were observed in protein levels for both ISGs. The results obtained for STAT2, and ADAR suggest that m6A is a key factor in regulating ISGs expression in microglia infected by HIV-1. On the other side, we are determining the function of selected LncRNAs in regulating the expression of inflammatory responses, which are important in developing HAND. In conclusion, our in-progress work suggests a modulation of the transcriptional and post-transcriptional regulation process by HIV-1 when microglia cells are infected, opening the possibility of exploring new targets for antiviral strategies.

Keywords: HIV-1, Microglia, Immune Response, LncRNA, m6A

Financing: FONDECYT 1230809 and FONDECYT 11180621.

Tipo de presentación: Simposio

**¿Es la proteína de señalización antiviral mitocondrial (MAVS) realmente antiviral para el virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1)?**

**Is the mitochondrial antiviral signaling protein (MAVS) truly antiviral for the human immunodeficiency virus type 1 (HIV- 1)?**

**Aracelly Gaete-Argel<sup>1, 2</sup>**, Catarina Ananías-Sáez<sup>1, 2</sup>, César Navarrete Mesias<sup>1, 2</sup>, Tomás Hernández-Díaz<sup>1, 2</sup>, Cecilia Rojas-Fuentes<sup>1, 2</sup>, Delia López-Palma<sup>1, 2</sup>, Camila Ortega-Orellana<sup>1, 2</sup>, Fernando Valiente-Echeverría<sup>1, 2</sup>, Ricardo Soto-Rifo<sup>1, 2</sup>,  
(1) Laboratorio de Virología Molecular y Celular, Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.  
(2) Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Santiago, Chile.  
aracelly.gaete@ug.uchile.cl

Desde el inicio de la pandemia del virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1) hace más de 40 años, cerca de 80 millones de personas se han infectado con este virus y se han registrado más de 38 millones de muertes relacionadas síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

Si bien la terapia anti-retroviral (TARV) es altamente eficiente inhibiendo la replicación viral a nivel sistémico, la infección produce un estado de inflamación crónica que predispone al desarrollo patologías no relacionadas a SIDA como trast neurocognitivos (TNC). Preocupantemente, se estima que 30-50% de personas que viven con VIH manifiestan deterioro neurocognitivo y/o alteraciones motoras.

La evidencia apunta a que el principal blanco de VIH en el sistema nervioso central son las microglías, las cuales se activan de manera exacerbada secretando citoquinas proinflamatorias que contribuyen al daño neuronal asociado al desarrollo de TNC.

A diferencia de otros blancos del virus como linfocitos T CD4+ o macróf residentes de tejido, las microglías son células de larga vida que se auto-renuevan y resisten a los efectos apoptóticos de la replicación viral, por lo que tienen un rol fundamental en la persistencia del virus en el SNC.

En este trabajo caracterizamos la replicación de VIH-1 en un modelo de microglías humanas inmortalizadas. Los resultados muestran que la presencia del ARN genómico viral induce la activación de microglías en etapas tardías de la infección, presentando un perfil pro-inflamatorio pero no antiviral. Interesantemente, a pesar que el sensor del ARN viral no ha sido descrito en células mieloides, el silenciamiento de la proteína de señalización antiviral mitocondrial (MAVS) reduce significativamente los niveles de ARN y proteína virales, sugiriendo que el virus debe ser sentido para repl eficientemente. Sin embargo, notamos que el virus inhibe la traslocación nuclear de proteínas río-abajo de MAVS como IRF3 y la subunidad p65 de NFκB, lo demuestra la complejidad del perfil de activación de microglías inducida por VIH-1.

Actualmente nos encontramos investigando los mecanismos a través de los cuales el virus induce un perfil de activación proinflamatorio en microglías y el rol de proteína MAVS durante la replicación viral.

Palabras Clave

(1) VIH-1, (2) MAVS, (3) Microglía, (4) Inflamación.

Financiamiento:

Fondecyt 1230102 (RS-R), Fondecyt 1211547 (FV-E), Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia (ICN2021\_045), Anillo Inflammation in HIV/AIDS (InflammaID (ATE220016)).

Tipo de presentación:

## **Simposio 10**

IV Simposio Chileno en Biotecnología Microbiana

Tipo de presentación: Panel

### **Uso de aguas residuales para la detección y el monitoreo de SARS-CoV-2 en la ciudad de Antofagasta**

Ignacio Ramos-Tapia<sup>1</sup>, Sergio Barahona<sup>2</sup>, Andrea Marcela Avellaneda<sup>2</sup>, Juan Castro-Severyn<sup>1</sup>, Aldo Gaggero<sup>3</sup>, Claudia Saavedra<sup>4</sup>, **Francisco Remonsellez Fuentes<sup>1,2</sup>**

(1) Universidad Católica del Norte, Ingeniería Química y Medio Ambiente, Antofagasta, Chile

(2) Universidad Católica del Norte, Centro de Investigación Tecnológica del Agua y Sustentabilidad en el Desierto-CEITSAZA, Antofagasta, Chile

(3) Universidad de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(4) Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

El monitoreo de aguas residuales es una estrategia exitosa para la detección de agentes químicos y biológicos relacionados con la actividad del ser humano incluyendo el uso de sustancias ilícitas (drogas), uso de fármacos (abuso), contaminación de agua y presencia de partículas virales entre otros. Las estrategias de vigilancia epidemiológica basada en aguas residuales, son actualmente una de las herramientas empleadas globalmente para monitorear y controlar enfermedades provocadas por algunos patógenos humanos. El virus SARS-CoV-2 fue declarado una emergencia de salud mundial en el año 2019 (COVID19), y a pesar de que su forma de contagio es mediante contacto directo entre humano-humano de pequeñas gotas generadas al exhalar, se ha logrado identificar la presencia de este virus en muestras de fecas humanas de pacientes contagiados. Este trabajo tiene como objetivo monitorear y detectar la presencia de SARS-CoV-2 circulante en muestras de agua residual desde puntos estratégicos de la ciudad de Antofagasta. El virus SARS-CoV-2 fue concentrado a partir de las muestras empleando polietilenglicol (PEG), previo a la extracción de ARN viral mediante kit comerciales. La detección del virus se realizó mediante cuantificación absoluta empleando la técnica de qPCR y la construcción de una curva estándar para determinar la carga viral (número de copias/uL) presente en cada una de las muestras analizadas. Un total de 176 muestras han sido analizadas desde septiembre del 2022 hasta Julio 2023, de las cuales 69 muestras fueron positivas para SARS-CoV-2 (39,2%), obteniendo rangos de carga viral entre 0,29 - 159 copias/uL. Nuestros resultados permiten evidenciar que el uso de aguas residuales es una herramienta sumamente útil para el monitoreo y detección de SARS-CoV-2, lo cual puede complementar a las estrategias de vigilancia de otros virus estacionales (virus respiratorios y gastrointestinales) empleadas por las autoridades de salud, previniendo potenciales brotes y monitoreando la dinámica de propagación de estos en la población.

Keywords: waste waters, SARS-CoV-2, Monitoring

Financing: Proyecto FNDR 40036014-0Proyecto Anillo ATE220007

Acknowledgments: Gobierno Regional de AntofagastaSeremi Regional de Antofagasta, Ministerio de Salud

Tipo de presentación: Simposio

**Avances en biotecnología ambiental para detección y mitigación de los impactos de la desalación sobre ecosistemas costeros**

**Claudio Alejandro Sáez Avaria**<sup>1,2</sup>

(1) HUB AMBIENTAL UPLA/Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile.

(2) Departamento de Ciencias del Mar y Biología Aplicada, Universidad de Alicante, Alicante, España.

Seawater desalination has arisen as one of the most important alternatives to complement freshwater needs for human consumption, agriculture, and industrial activities in the Climate Change era. However, there has been relevant concerns regarding its potential associated environmental impacts. In this regard, the desalination process through reverse osmosis (the most used technology) produces a so-called brine; a high salinity residue that can even double the natural salinity of the sea, and that the majority of cases is delivered back to the coastal area. It has been observed that the excess salinity within the brine influence area can have detrimental effects over certain organisms, especially those that cannot cope with osmotic pressure. In spite of this information, there is still important gaps of knowledge to understand the real impacts of desalination discharges. On one hand, to understand biological mechanisms of potentially affected organisms to thrive under brine discharges. Moreover, to eventually use those mechanisms in order to develop environmental biotechnology tools for early warning and mitigation of impacts. In this regard, marine macrophytes (i.e. macroalgae, seagrasses) have been described as reliable biomonitoring organisms, mostly due to their sessile nature, relative physiological complexity and tolerance to environmental fluctuations. In this presentation, we will cover several investigations under laboratory-controlled mesocosms and transplantation experiments within brine influence areas of desalination discharges in the South-eastern Pacific and Mediterranean Sea. Depending on the ecosystem, the model macrophyte species have been either macroalgae and/or seagrasses. Our investigations have demonstrated that the most important mechanisms to withstand salinity excess mediated by brines are related with a strong reactive oxygen metabolism and energy-dependent osmotic regulation. From the latter, a battery of metabolites and specific genes have been assessed and tested as reliable biomarkers. These biomarkers have been successful not only for early measures upon a brine-associated threat but can also provide insights on the responsibility of detrimental effects of different stressors where multiple impacts are present. These investigations can be extrapolated to different macrophyte species, ecosystems and stressors, and are expected to provide a significant advance in the fields of marine ecotoxicology and environmental biotechnology.

Keywords: : environmental biotechnology, macroalgae, seagrass, desalination, water

Financing: Marie Skłodowska-Curie Action (888415) and ANID InES I+D 2021 (INID210013), directed by Claudio A. Sáez.

Tipo de presentación: Simposio

### **Microbial mercury methylation from southern aquatic ecosystems**

**Celine Lavergne**<sup>1,2</sup>, Polette Aguilar Muñoz<sup>1</sup>, Macarena Pérez<sup>1,3</sup>, Gabriel Rambaldi<sup>4</sup>, Patricio Tapia<sup>5</sup>, Aurélie Dufour<sup>6</sup>, Claudio Sáez<sup>1,2</sup>, Emmanuel Tessier<sup>7</sup>, Jinping Xue<sup>7</sup>, Léa Cabrol<sup>6,8</sup>, David Amouroux<sup>7</sup>, Philippe Cuny<sup>6</sup>, Lars-Eric Heimbürger-Boavida<sup>6</sup>

(1) Universidad de Playa Ancha, HUB AMBIENTAL UPLA, Valparaíso, Chile

(2) Universidad de Playa Ancha, Departamento de Ciencias y Geografía, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Valparaíso, Chile

(3) Universidad de Playa Ancha, Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Valparaíso, Chile

(4) Universidad Andrés Bello, Viña del Mar, Chile

(5) Universidad Andrés Bello, Centro de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

(6) Mediterranean Institute of Oceanography (MIO), Aix-Marseille University Univ Toulon CNRS IRD, Marseille, France

(7) Université de Pau et des Pays de L'Adour, E2S/UPPA, CNRS, Institut des Sciences Analytiques et de Physico-chimie pour L'environnement et Les Matériaux (IPREM), Pau, France

(8) Universidad de Chile, Laboratorio de Ecología Molecular, Instituto de Ecología y Biodiversidad, Facultad de Ciencias, Santiago, Chile

Neurotoxin methylmercury has the feature, in addition to its high toxicity for living organisms, to be easily incorporated, bioaccumulated and biomagnified through the aquatic food web. In a context of increasing releases of contaminants to the atmosphere and aquatic environments, it is crucial to elucidate the fate of mercury in aquatic systems under various anthropogenic pressures, from a multidisciplinary and multiscale point of view. Aiming at filling gaps of knowledge associated to mercury methylation in aquatic systems, we explore through a multidisciplinary approach both the microbial diversity and the activity related to mercury methylation. Particularly, we search for mercury methylation in oxygenic systems, and we search for cold-adapted mercury methylator microorganisms.

In the pristine Kitiash lake (South Shetland Islands, Antarctic, Chile), 6.3% of the active community was constituted by putative methylators and a positive significant correlation was found between total mercury concentrations and putative methylating microorganism relative abundance. The metagenome-assembled genome (MAG) of Archaea *Methanoregula* revealed the presence of the *hgcA* gene, biomarker of mercury methylation, confirming the potential capacity of this archaea to methylate mercury. In the Aconcagua watershed (Central Andes, Chile), from the glacial lagoon influenced by inorganic input to the coastal zone receiving organic matter and anthropogenic contamination, an increasing gradient of methylmercury proportion and dissolved gaseous mercury concentration have been measured. The measurement of mercury methylation potential will give new information about mercury transformations in oxygenic aquatic systems. This investigation represents the first attempt to disclose the implication of microorganisms in the cycle and bioavailability of mercury in Chilean aquatic systems through microbial activities, molecular and chemical approaches.

Keywords: mercury methylation, archaea, aquatic systems, freshwater, Antarctic

Financing: ANID FONDECYT 11201072, PCI ECOS-ANID 210007 (ECOS-Sud C21B01), InES I+D INID210013, FIC-R BIP: 40046077, INACH FP\_07-18

Acknowledgments: We thank Chilean (INACH) and the Uruguayan (IAU) Antarctic Institute for the field logistic in Antarctica. We are grateful to the Parque Andino Juncal for the access to the glacial lagoon of the Juncal Norte.

Tipo de presentación: Simposio

**Efficient bioremediation of diesel-contaminated seawater by Antarctic bacterial consortia at mesophilic and cold temperatures: community composition dynamics**

**Ignacio Poblete-Castro<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Chile, Ingeniería Química y Bioprocesos, Ingeniería, A. Libertador Bernardo O'Higgins 3363, Santiago, Chile

Diesel contamination is ubiquitous on the planet. In 2020, more than 21,000 tons of diesel oil were accidentally spilled into aquatic ecosystems, underscoring the pressing nature of this issue. Industrial diesel synthesis via fractional distillation yields wastewater heavily tainted with hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). This problem also emerges in diesel power plants, where boilers, run-offs, cooling systems and storage tanks contribute to the wastewater outputs. Although industrial facilities employ physical-chemical processes, including filtration systems and settling tanks, these methods exhibit limited efficacy in removing the complex hydrocarbon mixture from oily water. Microbial bioremediation of diesel oil emerges as a cost-effective and robust technology to degrade hydrocarbons from water streams.

In this study, the isolation of Antarctic bacterial communities from contaminated soil with alkanes and PAHs was accomplished. Notably, these bacterial communities exhibited the remarkable capacity to use diesel oil as the only carbon substrate. Batch-stirred bioreactors supplemented with 50 (g/L) diesel showed the highest reported degradation rates of the pollutant, removing more than 70% of the initial titer within a week at 30 °C and 10 °C.

Further, an innovative continuous bioremediation setup was established, yielding an unprecedented diesel removal rate of 34.4 (g/L per day) at 30 °C and 24.5 (g/L per day) at 10 °C, remediating 83% and 65% of the initial pollutant load, respectively. Amplicon sequencing attempts unveiled that the prevalent bacterial constituents growing at 30 °C were *Achromobacter*, *Pseudomonas* and *Rhodanobacter*, whereas at 10 °C *Pseudomonas* and *Candidomonas* prevailed within the bioreactors. The high emulsification index values observed under both temperature regimes prompted a focused exploration of bacterial isolation from Antarctic communities aimed at identifying the preeminent biosurfactant producer. Through isolation efforts, *Rhodococcus* sp. emerged as a standout candidate, displaying a remarkable emulsification index of 87% and a reduction in surface tension when challenged with petrol and diesel oil as substrates. Initial characterization indicates the nature of this biosurfactant as a glycolipid as characterized via gas chromatography-mass spectrometry.

Keywords: diesel bioremediation, Antarctic bacterial community, bioreactors

Financing: Fondecyt 1210332



Tipo de presentación:

# **Simposio 11**

Simposio SUR: Microbiología aplicada a Bioprocesos

Tipo de presentación: Simposio

### **Microalgal Biotechnology: Challenges and opportunities**

#### **Biología de microalgas: Desafíos y oportunidades**

##### **Leonardo Curatti<sup>1</sup>**

(1) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biología (INBIOTEC), Universidad Nacional de Mar del Plata, Viedtes 3103, Mar del Plata, Argentina

La producción fotosintética de biomasa a partir de CO<sub>2</sub> y energía solar es la base de la cadena alimentaria del planeta y una de las principales fuentes de materiales y energía renovables.

Las microalgas y cianobacterias presentan una capacidad fotosintética superior a la de las plantas. Esta y otras propiedades hacen que las mismas sean consideradas como una alternativa complementaria para contribuir a la mayoría de los servicios que los cultivos vegetales convencionales brindan a la Humanidad: captura de CO<sub>2</sub>, suplementos nutricionales biocombustibles, materiales poliméricos, entre otros.

Los esfuerzos y el progreso científico-tecnológicos internacionales para acelerar la madurez tecnológica de la Biología algal han sido vertiginosos. Aun así, las posibilidades de aplicación masiva en el corto plazo son limitadas para la obtención de productos y/o servicios de bajo valor agregado.

En este simposio, presentaré un panorama general del estado del arte de esta tecnología y avances específicos de nuestro laboratorio en cuanto a la selección de cepas nativas, modelado de la productividad a nivel regional, aplicaciones específicas en la producción de biocombustibles, suplementos nutricionales y biomateriales, y biorrefinerías de biomasa algal para la producción conjunta de más de un producto y/o servicio. Comentaré sobre los avances y perspectivas para el escalado de la tecnología y el diseño conjunto con YFP-Tecnología del dispositivo Y-ALGAE para la captura de CO<sub>2</sub> en entornos urbanos.

Finalmente, plantearé interrogantes sobre aspectos que aun demandan innovaciones y/u optimizaciones para sortear las barreras techno-económicas actuales.

Keywords: Captura de CO<sub>2</sub> - biocombustibles - suplementos nutricionales - biofertilizantes - biorrefinerías

Financing: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica PICT2015 – 3559, PICT2018 – 3382 , y PICT-2021-CAT-II-00136. Y-TEC

Tipo de presentación: Simposio

**Metabolic and genetic approaches for the improvement of lipid production in oleaginous *Rhodococcus* strains**

**Enfoques metabólicos y genéticos para la mejora de la producción de lípidos en cepas oleaginosas de *Rhodococcus*.**

**Martín Hernández<sup>1</sup>**, Hector Alvarez<sup>1</sup>

(1) Instituto de Biociencias de la Patagonia (INBIOP-CONICET-UNPSJB), Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Hudson 52, Comodoro Rivadavia, Argentina

Bacteria belonging to the *Rhodococcus* genus are frequently found in microbial communities in diverse natural environments. Some species of this genus exhibit the ability to produce high amounts of neutral lipids, such as triglycerides (TAG), under specific growth conditions. In addition, these bacteria have the ability to degrade a wide range of carbon sources coupled to lipogenesis. Like other eukaryotic single-cell oil (SCO) producers and specialized fat tissues, these bacteria possess specific physiological properties and molecular mechanisms that allow them to synthesize TAGs at very high levels. Oleagenicity in rhodococci seems to result from a multi-layered process, including an exquisite combination of enzymes, metabolic pathways, transporters, and specific regulatory circuits. In this presentation, we will summarize several well-characterized physiological and biochemical mechanisms that enable oleaginous rhodococci to produce significant amounts of lipids, as well as the main metabolic and genetic approaches applied in our research group to improve their production. Molecular strategies, including overexpression and mutagenesis techniques, as well as major phenotypic changes in regard to growth and lipid production, are also discussed. Furthermore, in this presentation we discuss a comprehensive and integrated perspective on the potential of oleaginous rhodococci to be considered as microbial biofactories, not only for microbial lipid production but also as unconventional chassis for complex protein production and the exploration of new putative therapeutic agents.

Keywords: *Rhodococcus*, Triacylglycerol, Oleaginous bacteria, Lipids, Biotechnology

Financing: Project PICT2020 Serie A Nr. 02215, Project PICT2020 Serie A Nr. 03220 (ANPCyT, Argentina), and Project PIP2021-2023 N°11220200100916 (CONICET, Argentina).

Tipo de presentación: Simposio

### **Microbiología aplicada a la producción de energía y productos con valor agregado a partir de residuos**

**Claudia Etchebehere<sup>1</sup>**

(1) Laboratorio de Ecología Microbiana, Departamento de Bioquímica y Genómica Microbiana.

Nuestro país y Latinoamérica basan su economía en la producción de alimentos, esta producción genera grandes cantidades de residuos. Uno de los desafíos para nuestros países es desarrollar procesos sustentables y amigables con el ambiente. Para ello es fundamental desarrollar la tecnología para recuperar compuestos con valor agregado a partir de los residuos aplicando el concepto de Economía Circular. Nuestro laboratorio viene trabajando en diferentes bioprocesos que permiten obtener energía y otros productos con valor agregado a partir de aguas residuales y residuos sólidos. En particular hemos trabajado en la producción de hidrógeno, metano y electricidad a partir de aguas residuales con alta carga de materia orgánica (suero de quesería, vinaza de caña de azúcar) y residuos orgánicos (residuo de yerba mate y residuos de producción avícola). Estos procesos son llevados a cabo por consorcios de microorganismos, y muchas veces están influenciados por los microorganismos del propio residuo. Para poder optimizar estos procesos es necesario conocer los microorganismos que están involucrados y conocer los microorganismos que son perjudiciales para el proceso de manera de evitarlos. Para ello aplicamos técnicas de biología molecular incluyendo la secuenciación masiva de amplicones de ARNr de 16S, técnicas de metagenómica y meta transcriptómica. La unión entre los conocimientos de microbiología y de ingeniería es fundamental para poder diseñar y operar sistemas eficientes. En esta presentación hablaremos de ejemplos llevados a cabo por nuestro laboratorio en colaboración con otros laboratorios de Latinoamérica.

Keywords: Residuos

Tipo de presentación: Simposio

### **Microbial resources for biofuel production**

#### **Insumos microbianos para la producción de biocombustibles**

**Erika Arbildi Ferreira<sup>1</sup>**, Karen Oysejevi<sup>2</sup>, Silvana Vero<sup>1</sup>

(1) Laboratorio de Biotecnología, DEPPIO, Facultad de Química, UdelaR, Av Gral Flores 2124, Montevideo, Uruguay

(2) Laboratorio de Bioquímica, DEPPIO, Facultad de Química, UdelaR, Av. Gral Flores 2124, Montevideo, Uruguay

El bioetanol constituye una alternativa a los combustibles fósiles, obtenible de fuentes renovables. En nuestro país es producido a partir de caña de azúcar (ALUR Bella Unión) y cereales (ALUR Paysandú). Una de las materias primas utilizadas es el sorgo, un cereal rico en almidón capaz de crecer en una amplia variedad de condiciones. Los sorgos se clasifican según su contenido en taninos, en cultivares de bajo (0,0- 0,4%), medio (0,4-1,0%) y alto (1,0- 10%) tanino. El sorgo de alto tanino tiene ventajas productivas sustanciales, como inhibir el desarrollo de hongos y el ataque de pájaros. Sin embargo, la producción del etanol se realiza utilizando sorgo de bajo tanino, debido a que estos interfieren con los procesos enzimáticos involucrados en la etapa de sacarificación y fermentación, disminuyendo el rendimiento. Es por ello que este proyecto propone como objetivo general la obtención de sobrenadantes enzimáticos de origen fúngico que sean capaces de degradar los taninos condensados e hidrolizables del sorgo con el fin de contribuir a la mejora del proceso de obtención de etanol y subproductos a partir de sorgo de alto tanino. En el marco de este trabajo se han aislado 24 hongos de muestras de tierra, compost y de granos de sorgo capaces de crecer en taninos como única fuente de carbono. Se han obtenido hongos del género *Aspergillus* con actividad tanasa capaz de hidrolizar los taninos hidrolizables, y extractos enzimáticos de una cepa de *Alternaria alternata* capaz de degradar taninos condensados. Se han determinado las condiciones de reacción sobre taninos de sorgo y de producción de las enzimas en medio líquido. Por otra parte, también se ha observado que las paredes de levaduras logran disminuir los taninos condensados del sorgo en solución.

Keywords: taninos, bioetanol, sorgo

Financing: ANII

Tipo de presentación:

## **Simposio 12**

Zonas de riesgo de contaminación del agua de riego en Chile Central: Un trabajo colaborativo entre pequeños productores agropecuarios y academia

Tipo de presentación: Simposio

**Zonas de riesgo de contaminación del agua de riego en Chile Central: Un trabajo colaborativo entre pequeños productores agropecuarios y academia**

**Aiko Adell Nakashima**<sup>1</sup>, Fernando Dueñas Tamayo<sup>1</sup>, Natalia Pino Norambuena<sup>1</sup>, Carlos Alejandro Zelaya Menjívar<sup>1</sup>, Kathia Castro<sup>1</sup>, Isabel Huentemilla<sup>1</sup>, María Consuelo Arias Villalobo<sup>2</sup>, Macarena Fernández Donoso<sup>2</sup>, María Carla Vera Carrasco<sup>2</sup>, María Angélica Fellenberg Plaza<sup>2</sup>  
(1) Universidad Andres Bello, Escuela de Medicina Veterinaria,, Facultad Ciencias de la Vida, República 440, Santiago, Chile  
(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Ciencias animales, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Santiago, Chile

**Introducción:** Este simposio aborda la contaminación del agua de riego en la VI Región de Chile y su impacto en los pequeños agricultores. Se presenta un enfoque multidisciplinario que involucra a académicos, sector público y productores para analizar el Capital Social (CS) de los agricultores y detectar *Salmonella* y contaminación fecal en el agua. Además, se investiga la eficacia de filtros de arena para mitigar la contaminación.

**Métodos:** Se combinaron talleres participativos con agricultores y análisis de laboratorio. Los talleres de mapeo colectivo ayudaron a identificar fuentes de contaminación y medidas de prevención. Se evaluó el CS de los productores mediante encuestas. Se tomaron muestras de agua en 45 lugares críticos, encontrando *Salmonella* en el 23% de ellas. Además, la mayoría no cumplió con estándares de calidad, revelando un problema grave. Se diseñaron y probaron dos modelos de filtros de arena, mostrando reducciones significativas en *Salmonella* y coliformes fecales.

**Resultados:** La alta contaminación microbiológica del agua agrícola refleja preocupaciones de los agricultores. Los filtros de arena, especialmente el contenedor con tres tipos de arena, demostraron ser efectivos en la reducción de contaminantes. Se encontró que los productores tienen bajos niveles de CS y confían más en asesores que en sus pares.

**Importancia:** Este estudio confirma la seria contaminación del agua en la agricultura y destaca la necesidad de soluciones adaptadas a los productores. Los filtros de arena son una opción viable. Colaborar estrechamente con los agricultores es esencial.

**Conclusión:** El simposio resalta la urgencia de abordar la contaminación microbiológica en el riego agrícola en la VI Región de Chile y ofrece soluciones prácticas para beneficiar a los pequeños agricultores.

Keywords: Inocuidad alimentaria, calidad de agua, capital social, coliformes fecales, *Salmonella*

Financing: Este trabajo fue financiado por el proyecto FIC Regional 2020 (IDI 40027681-0)

Acknowledgments: Agradecemos a Prodesales, INDAP (VI Región), pequeños agricultores (VI Región) y estudiantes de la PUC (facilitadores) en talleres del proyecto. También al Dr. Juan Fuentes (UNAB) por la cepa de *Salmonella* en pruebas de filtros de arena.

Tipo de presentación:

## **Simposio 13**

Microbiología marina: a lo largo de la costa chilena



Tipo de presentación: Simposio

**Outstanding properties of freshwater and marine microorganisms: cellular and biotechnological features**

**Propiedades destacadas de los microorganismos marinos y de agua dulce: características celulares y biotecnológicas**

**Mónica Vásquez Pérez**<sup>1</sup>, Derly Andrade Molina<sup>1,2</sup>, Jorge Olivares<sup>1</sup>, Bernardita Cayupe<sup>1</sup>, Daniel Moreno Zanetti<sup>1</sup>, Hector Osorio<sup>1</sup>  
(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Libertador Bernardo O'Higgins 340, Santiago, Chile  
(2) Universidad Espíritu Santo, Guayaquil, Ecuador

Cyanobacteria and microalgae possess distinct and noteworthy characteristics from both cellular and biotechnological standpoints. Notably, the process of cell division in multicellular cyanobacteria remains a topic of intrigue. While the FtsZ protein is recognized for its role in bacterial cell division, its significance extends further in filamentous cyanobacteria. Additional proteins exclusive to this group also defy expectations with their importance. The influence of FtsZ encompasses not only the division process but also cell morphology. Our research group has unveiled the pivotal function of a unique protein found solely in filamentous cyanobacteria: CyDiv. This protein plays a critical role in shaping the filamentous phenotype, maintaining cell wall integrity, and orchestrating the localization of the Z-ring. We postulate that CyDiv constitutes a fundamental component of the divisome assembly in these cyanobacteria. Cyanobacteria are renowned for producing secondary metabolites, including toxins that frequently lead to Harmful Algae Blooms (HABs) in freshwater and marine environments. Notably, paralytic shellfish toxins (PSTs), generated by both cyanobacteria and marine dinoflagellates, exert significant economic and social impacts due to their dangerous nature. However, these toxins can also find application in pharmacology, aiding in the exploration of cortical functions, anesthesia, and cosmetics. Marine microalgae have significantly contributed to the advancement of various products, such as algal biofuels and nutritional supplements. Strains from the *Nannochloropsis* genus stand out as a renewable source of secondary metabolites, specifically long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFAs) and antioxidants derived from  $\beta$ -carotenoids, such as lutein, violoxanthin, and zeaxanthin. In essence, the distinct attributes of cyanobacteria and microalgae reverberate across ecosystem dynamics and industrial innovation, yielding implications for growth and understanding while fostering novel solutions in diverse sectors.

Keywords: Cyanobacteria, Microalgae, Cell division, Toxins, PUFA  
Financing: FONDECYT 1161232Proyecto CORFO IFAN 16PTECAI66648-P31  
Acknowledgments: Fundación Copec UC (FCUC)

Tipo de presentación: Simposio

**Bioprospección de Actinobacterias marinas: un mar de posibilidades**

**Bioprospection of marine actinomycetes: a sea of possibilities**

**Beatriz Cámara**

The search for bioactive compounds from natural sources remains the best option for the development of new drugs to address the current crisis of multi-resistant pathogens. Our country, with its extensive coastline, proposes an alternative to explore marine actinomycetes, where the environmental conditions act as selection pressure for diversification and production of new molecules. In this sense, our laboratory has a collection of approximately 450 actinomycetes, from sediments and marine sponges obtained from the coasts of Chile. Our bioprospecting approach encompasses three main focuses: identification and taxonomy of marine Actinomycetota, genome sequencing and analysis; metabolomics, chemical dereplication and production of compounds. Specifically, we focus on the study of their biosynthetic gene clusters (BGCs) using similarity networks that allow elucidation of distribution patterns. This way, we have the description of new taxa, complete genomes, unique BGCs and new members of an antibiotic family, which demonstrate the richness of our marine biodiversity in Chile.

Financing: Fondecyt 1221264, 1171555 y 11121571; Anillo ACT172128, Swedish Research Council N° 2013-6713

Tipo de presentación: Simposio

**Potential of marine microorganisms to promote Productive Diversification in Northern Chile**

**Potencial de los microorganismos marinos para favorecer la Diversificación Productiva en el Norte de Chile**

**Carlos Riquelme Salamanca<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Antofagasta, Centro de Bioinnovacion, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biologicos, Angamos 601, Antofagasta, Chile

La región de Antofagasta se destaca principalmente por su industria minera, pero también posee características únicas desde el punto de vista climático y ecológico. Esta área alberga el desierto más árido del mundo y sus costas se enriquecen con las surgencias de la corriente de Humboldt, creando hábitats únicos desde una perspectiva microbiológica.

A pesar de la prominencia de la minería, la región debe importar alimentos de otras partes de Chile y del extranjero para mantener su creciente población. Para abordar este desafío de sostenibilidad, especialmente impulsado por la actividad minera, se ha identificado el potencial de las microalgas como un recurso valioso en el desierto costero.

El Centro de Bioinnovación (@cbia.ua) de la Universidad de Antofagasta ha desarrollado y mantiene un cepario de microalgas aisladas de las costas del desierto de Atacama. Algunas de estas cepas muestran un gran potencial biotecnológico en diversas aplicaciones, como bioestimulantes agrícolas, mejoramiento de suelos y producción de nutraceuticos. Además, se ha logrado adaptar cepas de microalgas de agua dulce para su cultivo en agua de mar, lo que amplía sus posibilidades comerciales. También se trabaja con bacterias marinas para mitigar los impactos de las floraciones algales en los procesos de desalación de agua para consumo humano en la región.

En la actualidad, el centro opera una planta piloto con la capacidad de cultivar continuamente hasta 70,000 litros de microalgas. Además, se ha demostrado la efectividad de estos bioactivos microalgales en diversas aplicaciones biotecnológicas en condiciones de campo. Actualmente se está impulsando el proceso de transferencia tecnológica de las tecnologías desarrolladas a la comunidad. Este enfoque innovador podría desempeñar un papel crucial en la sostenibilidad económica y ambiental de la región, permitiendo un mayor autoabastecimiento de alimentos y la generación de productos de alto valor a partir de recursos locales.

Keywords: Microalgas, bioestimulantes, nutraceuticos

Financing: Proyecto ANID ID22I10227; SATREPS Japon; ANID ID22I10317

Acknowledgments: A todos los investigadores y personal tecnico del CBIA

# MICROBIOLOGÍA

## Medios de Cultivo

En Fermelo Biotec, desde ya 35 años, ayudamos a las ciencias de la vida desarrollando gran interés en comprender las necesidades de los microbiólogos, simplificando el estudio de la microbiología a través de innovaciones progresivas y brindando soluciones personalizadas. Por esto nuestra representada HiMedia entrega soluciones listas para usar de alta calidad.

Con la más amplia gama de medios de cultivo deshidratados, medios encapsulados, medios granulados, medios cromogénicos, kits de prueba de agua, bases de medios de cultivo, suplementos únicos y específicos de medios, ayudas de diferenciación, discos de sensibilidad y tiras MIC, kits HiMIC al servicio de la comunidad científica en Chile, facilitando así los flujos de trabajo y evitando procedimientos laboriosos.

## HiMedia Laboratories: Innovación en Microbiología

Descubre la Excelencia en Diagnóstico Microbiológico Con más de 50 años de experiencia, HiMedia es tu aliado confiable en el campo de la microbiología. Productos de Calidad para Resultados Precisos Medios de cultivo, reactivos, kits de pruebas y más - todo lo que necesitas para un laboratorio eficiente y exacto.

Compromiso con la Educación y la Investigación Apoyamos a científicos y estudiantes con recursos y formación para avanzar en el conocimiento microbiológico.



Bases para  
medios de cultivo



Desinfectantes



Susceptibilidad  
antimicrobiana



Diferenciación  
bacteriológica



Medios de cultivo  
deshidratados



Medios listos  
para preparar



Suplementos  
de medios



## Productos que le ayudarán a liberar el potencial de sus ideas.

Todos nuestros productos y servicios tienen un único objetivo: ofrecer soluciones que le ayuden a alcanzar su destino científico. Está donde esté, puede estar seguro de que nuestra presencia mundial y más de ocho décadas de experiencia le ofrecerán una base de conocimientos inigualable.

El portafolio de Sigma-Aldrich® ofrece materiales de laboratorio y de producción de alta calidad, fiables y consistentes en las siguientes categorías:

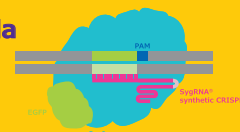
- Productos químicos de laboratorio y especializados
- Reactivos y kits para Life Science
- Diagnóstico, biosistemas y materiales regulados

Cualquiera que sea el producto que elija para dar rienda suelta a sus ideas, contamos con un equipo de ventas científicas altamente cualificado dispuesto a ayudarle.

Para más información, visite  
[SigmaAldrich.com/UnleashTheImpossible](http://SigmaAldrich.com/UnleashTheImpossible)

### Productos de vanguardia para usted.

Edición del genoma guiada  
por ARN nucleasa  
CRISPR/Cas



KitAlysis™ Kits  
de análisis de  
alto rendimiento



Disolventes de RMN  
(isótopos estables)



Avanti® Lípidos polares



Nanomateriales



Anticuerpos



XtremeGENE™



Soluciones de  
diagnóstico tisular



Oligos y sondas qPCR  
personalizadas



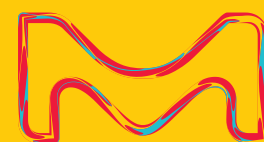
Aromas y fragancias



La división Life Science de Merck opera como MilliporeSigma en los Estados Unidos y Canadá.

©2021 Merck KGaA, Darmstadt, Alemania y/o sus filiales.  
Todos los derechos reservados. Merck, The Vibrant M, Sigma-Aldrich, KitAlysis son marcas comerciales de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania o sus filiales. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños. Puede consultarse la información detallada sobre marcas comerciales en recursos accesibles al público.

Lit. No. MK\_FL3791ES Ver. 3.0



Tipo de presentación:  
**Comunicación Oral**

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Development of a bacteriophage cocktail with high lytic efficacy against *Salmonella enterica* in vitro and in vivo**

**Nicolás Cifuentes Muñoz<sup>1</sup>**, Matías Aguilera<sup>1</sup>, Soledad Ulloa<sup>1</sup>, Luis León<sup>1</sup>, Christian Pieringer<sup>1</sup>, Daniel Castillo<sup>1</sup>, Constanza Sandoval<sup>1</sup>, Hans Pieringer<sup>1</sup>, Pablo Cifuentes<sup>1</sup>

(1) Phagelab SpA, Centro de Innovación Anacleto Angelini, 5<sup>to</sup> piso, Santiago, Chile

*Salmonella enterica* is a major human pathogen that can cause up to 7.8 millions of foodborne diseases and 59,153 deaths worldwide annually. The major route of infection is through fecal-oral transmission, and a variety of food matrices have been reported as sources and vehicles of *Salmonella* spp. The most frequent meat involved in salmonellosis are associated with poultry (chicken, turkeys, ducks and geese). However, the use of antimicrobials as a primary tool to control *Salmonella* in poultry is highly restricted in Europe and the US. In this context, bacteriophage-based cocktails have arisen as an alternative to antibiotics to reduce the growth of *Salmonella*.

Here, we isolated and sequenced 47 bacteriophages that showed variable degrees of lytic activity against 258 *Salmonella* isolates obtained from a Brazilian commercial chicken company. These bacteriophages were microbiologically and genomically characterized, and three were selected to assemble a cocktail. The lytic activity of the cocktail was tested in conditions that more closely resembled the chicken gut such as anaerobiosis, 42 °C and *Salmonella* mono-strain biofilms. *In vitro* quantitative assays determined the cocktail to have an efficacy of 97% against the collection of *Salmonella*, showing high activity against the most prevalent serovars including Minnesota, Heidelberg and Agona.

The cocktail was formulated at the facilities of Phagelab Chile, and tested in a large field trial involving 46 aviaries from a Brazilian commercial chicken company. Three doses of the cocktail were applied in each aviary per cycle, in four consecutive cycles that involved a total of 3.3 million treated chicken and 1.1 million untreated chicken. The total load of *Salmonella*, and specific loads of serovars Newport, Minnesota, Heidelberg, Agona, Mbandaka and Braenderup were measured from faecal swabs by qPCR. Our results showed a significant reduction of up to 3 log in *Salmonella* loads in the aviaries at days 28 and 42 (the day of slaughter) upon treatment with the bacteriophage cocktail.

Our results highlight the relevance of an optimized *in vitro* development of bacteriophage cocktails with high lytic efficacy against *Salmonella* and strong potential to be applied *in vivo*.

Keywords: *Salmonella*, bacteriophage, cocktail, chicken

Financing: This work was supported by the Chilean Economic Development Agency (CORFO) [grant number 22CYE-201546, 2022] ; and by private funding.

Acknowledgments: Special acknowledgements to all the persons from the Technology and Operations areas at Phagelab that participated in this project.

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **BGC similarity networks in *Spiractinospora alimapuensis* and the family *Nocardiopsaceae* to assess novelty of potential RiPPs**

#### **Redes de similitud de BGC en *Spiractinospora alimapuensis* (Chile) y la familia *Nocardiopsaceae* para evaluar novedad de los potenciales RiPPs**

**Fernanda P. Claverías<sup>1</sup>**, Andrés Cumsille<sup>1</sup>, Eduardo Sanchez<sup>1</sup>, Beatriz Cámara<sup>1</sup>

(1) Universidad Técnica Federico Santa María, Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental & Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Av. España 1680, Valparaíso, Chile

Given the growing resistance to antibiotics, it is essential to intensify the search for new pharmacological compounds. Ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides (RiPPs) are natural products characterized by their complex chemical structures and potent biological activities.

Bacteria from the family *Nocardiopsaceae* stand out for producing secondary metabolites, including RiPPs. *Spiractinospora alimapuensis*, recently described in *Nocardiopsaceae*, was isolated in the bay of Valparaíso (Chile). Preliminary studies demonstrated antimicrobial activity, while genomic analysis identified 6 biosynthetic gene clusters (BGCs) encoding RiPPs.

The aim of this work was to study the pathways that encode RiPPs in *S. alimapuensis* and to assess their genomic novelty, by building metabolic networks with other *Nocardiopsaceae* strains. Using antiSMASH, BAGEL4, and PRISM, the BGCs of *S. alimapuensis* were studied. Then, the available *Nocardiopsaceae* genomes were downloaded from the NCBI database. Finally, the BGCs of each strain were compared using similarity networks. Two of the BGCs encoding RiPPs in *S. alimapuensis* were the most interesting, LAP and thiopeptide types. Each of the genes was analyzed and chemical structures of their potential products were proposed. Although these BGCs belong to families of RiPPs described, the possible structures would present novel modifications. The BGC of the LAP harbors transporters and immunity genes, suggesting the potential production and secretion of an antimicrobial compound. In addition, the presence of a putative enzyme not previously characterized in the literature, which contains an RRE domain (RiPP recognition element), could contribute novel modifications to LAPs. Regarding the thiopeptide, the proposed structure shows 2 possible configurations of its macrocycle: 32 members and an oxazolyl-thiazolyl-bridged nucleus of 35 members and an oxazolyl-oxazolyl-bridged nucleus, forming unprecedented structures in the context of thiopeptides.

The networks of BGCs built with 103 genomes of *Nocardiopsaceae* strains did not show clustering of the *S. alimapuensis* RiPPs with BGCs of the family or with known products.

This study shows the unique BGCs of *S. alimapuensis* and *Nocardiopsaceae*, highlighting their promising biotechnological potential.

Keywords: *Spiractinospora alimapuensis*, *Nocardiopsaceae*, RiPPs, BGC similarity networks

Financing: Conicyt Doctorado Scholarship N° 21171494 & Fondecyt Regular N° 1221264.



Tipo de presentación: Comunicación Oral

**Isolation of KPC-type carbapenemase-producing Enterobacterales strains obtained from wastewater in the Gran Concepción Metropolitan area**

**Aislamiento de cepas de Enterobacterales productoras de carbapenemasas tipo KPC obtenidas de aguas servidas del Gran Concepción.**

**Franco Ilabaca Carrasco**<sup>1</sup>, Carlos Peña Raddatz<sup>1</sup>, Claudia Torres Bustos<sup>1</sup>, Mauricio Hernández Cea<sup>2</sup>, Guillermo Nourdin Galindo<sup>2</sup>, Pablo Saldivia Flandez<sup>2</sup>, Cristian Vargas<sup>2</sup>, Elard Koch<sup>2</sup>, Andrés Opazo Capurro<sup>1</sup>, Helia Bello Toledo<sup>1</sup>, Gerardo González Rocha<sup>1</sup>

(1) Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos LIAA, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción

(2) División de Biotecnología, MELISA Institute, Concepción

**Introducción.** La investigación sobre la resistencia antibiótica en aguas residuales es amplia a nivel internacional, pero en Chile hay pocos informes al respecto. Las bacterias resistentes a los carbapenémicos del orden *Enterobacterales* (ERC) son de gran importancia en los ámbitos humano, ambiental y animal, y la resistencia a estos antibióticos  $\beta$ -lactámicos, mediada por carbapenemasas, es una de las más significativas a nivel global. Las variantes KPC-2 y KPC-3 son las carbapenemasas más frecuentemente detectadas. El objetivo de este trabajo fue identificar cepas de ERC productoras de carbapenemasas, centrándose en la familia KPC, en muestras de aguas servidas (AS).

**Métodos.** Se aislaron 50 cepas de *Enterobacterales* a partir de muestras de AS del Gran Concepción (10 comunas, Región del Biobío), empleando placas de agar MacConkey (MCC) con y sin meropenem (2 ug/mL) o ceftriaxona (4 ug/mL), e incubadas a 35°C por 24-48 h. Los aislados se identificaron preliminarmente con pruebas bioquímicas convencionales. La detección de carbapenemasas se hizo mediante Blue-Carba, y a las cepas positivas se les aplicó el inmunoensayo NG-Test® CARBA-5 (NG Biotech) para identificar la familia de la carbapenemasa. Se extrajo el ADN genómico (ADNg) de dichas cepas con la matriz *InstaGene* (Bio-Rad®). Este ADNg se usó como molde para la pesquisa de *bla*<sub>KPC</sub> mediante PCR convencional. Posteriormente, las cepas *bla*<sub>KPC</sub>[+] se secuenciaron por la plataforma Illumina, y los genomas ensamblados se analizaron para confirmar la identificación a nivel de especie, identificar las variantes de *bla*<sub>KPC</sub> y los secuenciotipos de las cepas (MLST).

**Resultados.** Se confirmaron tres cepas productoras de carbapenemasas tipo KPC, que correspondieron a *Klebsiella grimontii* ST no asignado, *K. pneumoniae* sensu stricto ST-273 y *Citrobacter portucalensis* ST-214. La reacción de PCR convencional confirmó la presencia del gen *bla*<sub>KPC</sub> en dichas cepas, y la secuenciación Illumina determinó que todas eran de la variante KPC-2.

**Conclusión.** Este corresponde al primer hallazgo de cepas de ERC productoras de carbapenemasa KPC-2 en aguas servidas de Chile, realzando la importancia de realizar vigilancia genómica, bajo el enfoque *One Health*, para conocer el impacto de la diseminación de bacterias portadoras de este importante mecanismo de resistencia.

Keywords: Resistencia antibiotica, Aguas servidas, Enterobacterias resistentes a carbapenemicos, Carbapenemasas KPC-2, One Health

Tipo de presentación: Comunicación oral

**A genomic and artificial intelligence approach: adaptation and resistance of *Salmonella* in the poultry industry**

**Un enfoque genómico y de inteligencia artificial: Adaptación y resistencia de *Salmonella* en la industria avícola.**

**Gabriel Krüger**<sup>1</sup>, Coral Pardo-Este<sup>1,2</sup>, Valentina Salinas<sup>1</sup>, Valentina Pavez<sup>1</sup>, Francisca Urbina<sup>1</sup>, Juan Castro-Severyn<sup>3</sup>, Jorge Olivares-Pacheco<sup>4</sup>, Claudia Saavedra<sup>1</sup>

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

(2) Laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile

(3) Laboratorio de Microbiología Aplicada y Extremófilos, Departamento de Ingeniería Química, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile

(4) Grupo de Resistencia Antibacteriana en Bacterias Patógenas Ambientales GRABPA, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile

El estudio de la resistencia de *Salmonella* a diferentes entornos industriales es crítico para comprender su adaptación a diversos factores de estrés. La genómica comparativa y la tecnología avanzada de secuenciación permiten rastrear la propagación de bacterias patógenas. En la industria avícola, *Salmonella enterica* destaca por su multirresistencia y virulencia. Esta investigación se enfoca en la adaptación de aislados de *Salmonella* a multifactores de estrés presentes en una granja de pollos, donde el uso constante de desinfectantes promueve la tolerancia bacteriana antimicrobianos y disminuye su diversidad. Mediante un enfoque de inteligencia artificial tratamos de identificar que modificaciones son necesarias en el genoma de *Salmonella* para sobrevivir al ambiente estresante industrial. Para llevarlo a cabo se caracterizó los genomas de 186 aislados de *Salmonella*, identificando algunos elementos genéticos móviles asociados a la resistencia a antibióticos. Posteriormente, se evaluaron características fisiológicas de las cepas en respuesta a hipoclorito de sodio, estrés ácido, osmótico y antibióticos. Los resultados muestran que el 75% de los aislados son resistentes a hipoclorito de sodio, y el 81% se clasificaron como formadoras de biopelículas, duplicando o cuadruplicando su resistencia. En particular, los aislados identificados del serotipo Infantis presentaron mayor resistencia a los diversos tipos de estrés, destacando el matadero como un foco de resistencia a antimicrobianos y otros estresores. Además, con los perfiles transcriptómicos de dos cepas aisladas de matadero y granja resistentes a los factores de estrés evaluados se obtiene una clasificación de marcadores de resistencia, buscando objetivamente patrones de respuesta al estrés ambiental. Finalmente, se desarrolló un sistema de aprendizaje automático para identificar la adaptación de *Salmonella* a antimicrobianos en la línea de producción de una granja de pollos, con una alta precisión de 0.987 y exactitud de 0.976 en la clasificación de los aislados. En conclusión, se destaca la importancia de comprender la adaptación y resistencia de *Salmonella* en la industria avícola. La integración de tecnologías avanzadas y herramientas de inteligencia artificial es prometedora para abordar estos desafíos. Este estudio busca establecer una capacidad predictiva en función de la vigilancia genómica de *Salmonella*, siendo identificada mediante la aplicación de inteligencia artificial e información genética.

Keywords: Bioinformática, Inteligencia Artificial, Resistencia antimicrobiana, Genómica, *Salmonella*

Financing: Fondecyt 1210633Beca Doctorado Nacional 21231337

Acknowledgments: Agradecimientos a Luis Alvarez-Thon por uso del Cluster Informático de la UCEN

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Prevalencia de la portación de bacilos Gram negativo productores de carbapenemasas aislados de hisopado rectal en adultos hospitalizados, en el período 2020-2023.**

**Daniela Andrea Otárola Bascur**<sup>1</sup>, Miguel Angel López Valladares<sup>1</sup>, Daniela Andrea Mella Acevedo<sup>1</sup>, Paula Ignacia Perez Clavijo<sup>1</sup>, Paz Yolanda Orellana González<sup>2</sup>

(1) Hospital Dr. Lucio Córdova, Programa de Control de IAAS, Gran Avenida José Miguel Carrera 3204, Santiago, Chile  
(2) Universidad Autónoma de Chile, Facultad de Ciencias de la Salud, El Llano Subercaseaux 2801, San Miguel, Chile

**Introducción:** La diseminación de bacilos Gram negativo productores de carbapenemasas (BGNPC) es un problema de salud pública. En nuestro país, previo a la pandemia COVID-19, se identificaron como portadoras de carbapenemasas con mayor frecuencia *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter cloacae*. Desde la pandemia se posicionó *Pseudomonas aeruginosa* por sobre *E. cloacae*. Las carbapenemasas más prevalentes en clínica son KPC, VIM, OXA-48, NDM e IMP. La vigilancia de BGNPC permite implementar medidas de identificación y contención de brotes en pacientes hospitalizados.

**Objetivo:** establecer la prevalencia de BGNPC en aislados de hisopado rectal en adultos hospitalizados en el Hospital Dr. Lucio Córdova entre junio de 2020 y junio de 2023.

**Método:** Estudio descriptivo transversal. Se analizaron los registros de vigilancia de carbapenemasas de 6778 muestras de hisopado rectal de adultos hospitalizados. Estas muestras fueron sembradas en agar chromID® Carba-Smart y analizadas con NG-Test® CARBA-5 para identificación de carbapenemasas. Las especies bacterianas se identificaron mediante MALDI-TOF. Se realizó un análisis estadístico descriptivo.

**Resultados:** Se aislaron 55 cepas portadoras de carbapenemasas, con una prevalencia del 0,8%. Se identificaron 34 (61,8%) *K. pneumoniae*, 6 (10,9%) *E. cloacae*, 4 (7,3%) *P. aeruginosa*, 4 (7,3%) *E. coli*, y 7 (12,7%) otras. Se identificaron 58 carbapenemasas, de las cuales 27 (46,6%) corresponden a KPC, 19 (32,8%) NDM, 10 (17,2%) VIM, 2 (3,4%) IMP. No se identificó OXA-48. Se encontró KPC (n=27) en 21 (77,8%) cepas de *K. pneumoniae*, 4 (14,8%) *E. coli*, 1 (3,7%) *K. oxytoca*, 1 (3,7%) *E. cloacae*. Se encontró NDM (n=19) en 15 (78,9%) *K. pneumoniae*, 2 (10,5%) *K. oxytoca*, 1 (5,3%) *C. freundii*, 1 (5,3%) *E. cloacae*. Se encontró VIM (n=10) en 5 (50%) cepas de *P. aeruginosa*, 4 (40%) *E. cloacae*, 1 (10%) *S. marcescens*. IMP (n=2) sólo se encontró en *A. baumannii*. Existió coproducción de KPC y NDM en 2 *K. pneumoniae*.

**Conclusiones:** Se encontró baja prevalencia de portación de BGNPC. *K. pneumoniae* y *E. cloacae* fueron las bacterias más prevalentes, similar a la época pre-pandemia COVID-19 en Chile. Las carbapenemasas KPC y NDM mostraron mayor prevalencia. La vigilancia epidemiológica, junto a medidas de contención, son necesarias para controlar la diseminación de BGNPC.

Keywords: Carbapenemasas, Resistencia a antimicrobianos, Bacilos Gram negativo, Vigilancia

Acknowledgments: Programa de Control de IAAS, Hospital Dr. Lucio Córdova

Tipo de presentación: Comunicación oral

### Large-scale genomic analysis reveals widespread dissemination of *Salmonella enterica* serovar Infantis carrying bla<sub>CTX-M-65</sub>-positive pESI-like megaplasms in Chile

Alejandro Piña-Iturbe<sup>1</sup>, Constanza Díaz-Gavidia<sup>1</sup>, Rocio Barron-Montenegro<sup>1</sup>, Diana M. Álvarez-Espejo<sup>1</sup>, Patricia García<sup>2</sup>, Francisca P. Álvarez<sup>1</sup>, Rodrigo Constenla-Albornoz<sup>3,4</sup>, Doina Solís<sup>5</sup>, Magaly Toro<sup>6</sup>, Jorge Olivares-Pacheco<sup>4</sup>, Angélica Reyes-Jara<sup>5,7</sup>, Jianghong Meng<sup>6</sup>, Rebecca L. Bell<sup>8</sup>, Andrea I. Moreno-Switt<sup>1</sup>

(1) 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

(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(3) SEREMI Salud Región de Valparaíso, Laboratorio de Salud Pública, Ambiental y Laboral, Valparaíso, Chile

(4) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales, GRABPA, Instituto de Biología, Valparaíso, Chile

(5) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Santiago, Chile

(6) University of Maryland, Joint Institute for Nutrition and Food Safety (JIFSAN), Maryland, United States

(7) Millennium Institute Center for Genome Regulation (CGR), Santiago, Chile

(8) Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Maryland, United States

In the past decade, multidrug-resistant (MDR) *Salmonella enterica* serovar Infantis emerged in different continents as a zoonotic pathogen causing foodborne illness associated with the consumption of poultry products. Its emergence and success are linked to the acquisition of a  $\approx 300$  kbp pESI-like megaplasmid which encodes virulence, fitness-enhancing, and antibiotic-resistance factors, making this pathogen a global threat to public health. In Chile, recent research, mostly phenotypic or involving few isolates, is showing the spread of MDR *Salmonella* Infantis in diverse niches, including a rise in human cases. However, the magnitude of the spread and its molecular epidemiology remain unknown. We sequenced 396 genomes of *Salmonella* Infantis and analyzed them with all publicly available genomes of this pathogen from Chile (440 genomes in total), representing isolates from environmental, food, animal, and human sources obtained from 2014 to 2022. Among all strains, 435 (98.9%) were ST32 (7-gene MLST) while the other five were single locus variants. The hierarchical clustering of genomes with 20 or less cgMLST-allele differences (HC20) revealed different HC20 groups, dominated by clusters HC20\_343 and HC20\_775 (92% of genomes). Importantly, cluster HC20\_343 (322 genomes) was the only one associated with up to 12 acquired antimicrobial resistance genes/mutations predicted to result in resistance to aminoglycosides, cepheems, folate pathway antagonists, chloramphenicol, fosfomicin, lincosamides, fluoroquinolones and tetracycline. From this HC20:343 cluster, 321 genomes (99.7%) carried genes/mutations potentially resulting in an MDR phenotype. We screened the entire genome dataset for the presence of the pN55391 pESI-like megaplasmid genes. Noteworthy, we found that only the HC20:343 cluster harbored pESI-like megaplasms carrying the antibiotic resistance genes *bla*<sub>CTX-M-65</sub>, *floR*, *aph(4)-Ia*, *aac(3)-IVa*, *dfrA14*, and *aph(3')-Ia*. Our work represents the first large-scale genomic analysis of the *Salmonella* Infantis population in Chile, which comprises strains lacking genetic determinants of antibiotic resistance, as well as strains that harbor the pESI-like megaplasmid and carry multiple antibiotic-resistance determinants, including the *bla*<sub>CTX-M-65</sub> gene, both from the globally spread ST32. Moreover, we found that megaplasmid-carrying strains are circulating among environmental, food, diverse animals, and human niches. Our findings highlight the urgent need to study the dissemination dynamics of this pathogen to devise effective control measures.

Keywords: Antibiotic resistance, Genomics, *Salmonella* Infantis, CTX-M-65, Chile

Financing: This work was supported by Agencia de Investigación y Desarrollo de Chile (ANID) through FONDECYT Postdoctorado Folio 3230796 (to A.P.-I.) and Folio 3210317 (to D.A.-E), FONDECYT Regular Folio 1231082 (to A.I.M.-S), and Millennium Science Initiative Program – ICN2021\_044 (to A.R.-J).

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Biological function of silver nanoparticles functionalized with ceftriaxone.**

**Función biológica de nanopartículas de plata funcionalizadas con ceftriaxona.**

**Agustín Rodríguez**<sup>1,2</sup>, Luciana Robino<sup>5</sup>, Erlen Cruz<sup>2</sup>, Nicolás Fernández Navarro<sup>2,3,4</sup>, María José González<sup>2</sup>, PAOLA SCAVONE<sup>2</sup>

(1) Facultad de Ingeniería, Universidad ORT, Montevideo, Uruguay., Montevideo, Uruguay

(2) Laboratorio de Biofilms Microbianos, Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

(3) Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS), Santiago, Chile

(4) Center of New Drugs for Hypertension (CENDHY), Santiago, Chile

(5) Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Universidad del República, Montevideo, Uruguay

Las Infecciones asociadas a dispositivos médicos son causadas por *biofilms* microbianos. Estos son difíciles de erradicar con antibióticos pudiendo requerir sustituir el dispositivo.

Se están buscando nuevas estrategias para atacar estas infecciones, las nanopartículas pueden ser una alternativa ya que algunas tienen actividad antimicrobiana intrínseca y pueden usarse como transportadoras de antibióticos. En este trabajo se evaluaron nanopartículas de plata (AgNPs) funcionalizadas con ceftriaxona (CRO), un antibiótico modelo, sobre las bacterias *P. aeruginosa* y *S. aureus* en forma planctónica y en *biofilm*.

La funcionalización de las NPs se realizó por intercambio de ligando utilizando relaciones molares 1:1 y 1:3 (AgNPs:CRO). Las nanopartículas se caracterizaron por DLS ("Dynamic Light Scattering") y espectrofotometría. Se estudiaron la concentración inhibitoria mínima (CIM) de AgNPs, AgNPs:CRO y CRO con la técnica de microdilución, la citotoxicidad de las mismas mediante ensayos con resazurina y la capacidad de inhibir *biofilms in vitro* en placas de microtitulación.

Las AgNPs:CRO 1:1 presentaron un diámetro de ~15 nm, un PdI de 0.3, un potencial  $\zeta$  de ~-30 mV y una concentración de CRO de 0.016 mM. Las 1:3 tienen diámetro de ~17 nm, un PdI 0.3, un potencial  $\zeta$  de ~-34 mV y 0.24 mM de CRO.

La CIM de *P. aeruginosa* resultó superior a 0,82 mM en todos los casos. Para *S. aureus* la CIM de AgNPs:CRO 1:1 es 0,82 mM, la de 1:3 es 0,41 mM mientras que la de AgNPs y CRO es superior a 0,82 mM. La acción de las AgNP sobre *S. aureus* fue bacteriostática. Todas las nanopartículas presentaron efecto citotóxico sobre *S. aureus* mientras que en *P. aeruginosa* no presentó ningún efecto citotóxico.

Las AgNPs:CRO inhibieron la formación del *biofilm* de *P. aeruginosa* mientras que la CRO no. El *biofilm* de *S. aureus* se mostró más sensible a las AgNPs:CRO que al antibiótico pero no hubo diferencia entre el efecto de 1:1 y 1:3.

Las AgNPs con CRO podrían disminuir la prevalencia de algunas infecciones sobre dispositivos médicos.

Keywords: Nanopartículas, Biofilms, Nanopartículas de plata, Silver nanoparticles, nanoparticles

Acknowledgments: Al Laboratorio de Biomateriales de Facultad de Ciencias, UdelaR, Uruguay

Tipo de presentación: Comunicación oral

***Corynebacterium striatum* resistome and its association with Integrative and Conjugative Elements (ICE)**

**Catherine Urrutia<sup>1</sup>**, Benjamin Leyton<sup>1</sup>, David Madariaga<sup>1</sup>, Michel Abanto<sup>1</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Genomics and Bioinformatics Unit, Scientific and Technological Bioresources Nucleus, BIOREN, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

*Corynebacterium striatum* is a bacterium present in the skin microbiota and nasal mucous membranes of humans; however, in recent years, it has been reported as the etiological agent of hospital-acquired and community-acquired infections. This bacterium is characterized by exhibiting resistance to multiple antimicrobials, making it a global public health issue. Integrative and Conjugative Elements (ICE) are mobile genetic elements that play a crucial role in the emergence and dissemination of antibiotic resistance genes among bacterial populations. However, in *C. striatum*, these elements have not been studied. Therefore, the aim of this study was to evaluate the resistome of *Corynebacterium striatum* and identify a potential relationship with ICEs and antimicrobial resistance. Through genomic analyses, we worked with a total of 365 *C. striatum* genomes, which were retrieved from the NCBI Pathogen Detection database. These genomes underwent quality control measures and assembly. Subsequently, phylogenetic and pangenome analyses were conducted to investigate evolutionary relationships and genetic diversity. Furthermore, antibiotic resistance genes were identified and clustered based on their presence or absence through a heatmap analysis. Lastly, we employed bioinformatics tools to identify features associated with ICEs, including bacteriophage-related sequences and integrase genes that are conserved within these elements. From our analyses, the geographical distribution of the bacterium and its link to global outbreaks were observed. Antibiotic resistance genes were highlighted, with the *ermX* gene being particularly more frequently. Additionally, the presence of a potential ICE was detected, characterized by the presence of transposases, integrases, and genes related to adaptive capability; however, no resistance genes were found associated with this element. Although a significant association between ICE carriage and antibiotic resistance was not observed, further analyses are required to confirm this finding. Nevertheless, this study provided valuable insights into geographical spread and outbreak prevalence, along with the identification of resistance genes that may be subjects of future research and therapeutic approaches.

Keywords: *Corynebacterium striatum*, Integrative and conjugative elements, Antibiotic resistance

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Chestnut Shell Extract (*Castanea sativa*) in the Control of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. isolated from the Poultry Chain**

**Extracto de Cáscara de Castaña (*Castanea sativa*) en el Control de *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* spp. Resistentes a Antibióticos aislados de la Cadena Productiva Avícola**

**Valeria Velasco**<sup>1</sup>, Felipe Medina<sup>1</sup>, Franco Guzmán<sup>1</sup>, Ana María Bonilla<sup>1</sup>, Pamela Williams<sup>1</sup>, Christian Folch<sup>2</sup>

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Av. Vicente Méndez 595, Chillán, Chile

(2) Universidad de Concepción, Departamento de Agroindustrias, Facultad de Ingeniería Agrícola, Av. Vicente Méndez 595, Chillán, Chile

La industria avícola en Chile ha experimentado un crecimiento constante, siendo esencial asegurar la inocuidad alimentaria, considerando que dentro de los principales patógenos asociados están *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* spp., los cuales pueden exhibir resistencia antimicrobiana (RAM). Algunos residuos de la industria agroalimentaria, como la cáscara de castaña (*Castanea sativa*), contienen compuestos con actividad antimicrobiana, y podrían ser usados como antimicrobianos naturales.

El objetivo fue determinar la susceptibilidad a extracto de cáscara de castaña de cepas de *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* spp. resistentes a antibióticos aislados de la cadena productiva avícola.

Se extrajeron muestras de animales (piel n=120, cloaca n=120) en planteles; carne de pollo (n=98) y huevos (n=138) en supermercados y tiendas. Se utilizaron enriquecimientos y cultivos selectivos para aislar *S. aureus* y *Salmonella* spp. La confirmación de las cepas se realizó a través de PCR. Para determinar diferencias significativas en la prevalencia de cepas entre diferentes tipos de muestras se utilizó el test Chi-cuadrado ( $P \leq 0,05$ ). Se seleccionaron algunas cepas genéticamente diferentes a través de análisis fingerprinting, para determinar la susceptibilidad a antibióticos y a extracto de cáscara de castaña a través del método de difusión en disco.

La prevalencia total de *S. aureus* fue de 13,5%, sin diferencias significativas entre tipo de muestra (animales, carne, huevos). Se presentó mayor prevalencia en animales y huevos provenientes de sistema convencional que libre de jaula, y en carne no envasada comparada con carne envasada ( $P \leq 0,05$ ). La prevalencia total de *Salmonella* spp. fue de 5,1%, con mayor prevalencia en carne envasada. Ocho cepas de *S. aureus* fueron seleccionadas, de las cuales 2 fueron susceptibles a todos los antibióticos y 4 fueron multirresistentes (resistencia a 3 o más clases). Tres cepas de *Salmonella* spp. fueron seleccionadas, siendo todas multirresistentes. El extracto de cáscara de castaña resultó ser moderadamente inhibitorio (halo 12-20 mm) en cepas resistentes a antibióticos.

Por lo tanto, cepas de *S. aureus* y *Salmonella* spp. resistentes a antibióticos están presentes en la cadena productiva avícola, resultando primordial establecer acciones para mejorar la inocuidad. El extracto de castaña tiene potencial como agente antimicrobiano para ser aplicado en la industria de alimentos.

Keywords: Inocuidad alimentaria, Prevalencia, Multiresistencia, Antimicrobianos naturales, Inhibición

Financing: Proyecto VRID 2021000173INV, Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo, Universidad de Concepción, Chile

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Molecular insights into the unprecedented colistin resistance of the antarctic multiresistant strain *Pseudomonas* spp. Yep6B**

**Bases moleculares de la resistencia sin precedentes a la colistina de la cepa antártica multirresistente *Pseudomonas* spp. Yep6B**

**Jorge Manuel Vielma Salazar**<sup>1,2</sup>, Macarena Varas Poblete<sup>1</sup>, Pablo Saldivia Flandez<sup>3</sup>, Guillermo Nourdin Galindo<sup>3</sup>, Cristián Vargas Manríquez<sup>3</sup>, Rosalba Lagos Mónaco<sup>1</sup>, Francisco P. Chávez<sup>2</sup>, Andrés Marcoleta Caldera<sup>1</sup>

(1) Grupo de Microbiología Integrativa, Laboratorio de Biología Estructural y Molecular BEM, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

(2) Laboratorio de Microbiología de Sistemas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

(3) Biotechnology Division, MELISA Institute, San Pedro de la Paz, Chile

In the ongoing antibiotic resistance crisis, understanding the origin of resistance genes and the role of the environment under a One Health prism is of utmost relevance. In this regard, the microbiota of remote areas, whose diversity remains largely unexplored, could be a source of resistance genes that clinical pathogens could acquire, aggravating this problem. In previous work on the natural resistome of the Antarctic Peninsula, we isolated the multidrug-resistant strain *Pseudomonas* spp. Yep6b, with high resistance to colistin, a last-resort antibiotic against pathogenic *Pseudomonas*. Genomic analyses failed to identify known mechanisms accounting for such resistance, suggesting that non-canonical mechanisms, or mechanisms partially similar to the canonical ones but with different molecular actors, may be operating. Here, we studied the resistance profile and molecular basis of colistin resistance in *Pseudomonas* Yep6B by using global proteomic profiling. We determined the colistin MIC by broth microdilution assays and the sensitivity profile to other antimicrobials using sensidiscs. Additionally, we used quantitative proteomics to characterize the global physiological response to colistin and identify genes and proteins potentially involved in resistance. Remarkably, *Pseudomonas* Yep6b showed a colistin MIC higher than 20 mg/mL and was resistant to 21 of the 35 antibiotics tested, including ertapenem and a wide array of beta-lactams. Moreover, global proteomics showed a different response comparing shock treatment (5 h after colistin addition to log phase cultures) versus 13-hour adapted culture (exposed to colistin since the inoculation), including the overexpression of several predicted efflux pumps and uncharacterized enzymes for the modification and biosynthesis of Lipopolysaccharide. Also interesting is the downregulation of a predicted biosynthetic cluster involved in synthesizing cationic peptides of unknown function, which could contribute to the antimicrobial effect of colistin. The long-term response involved a notable turnover of predicted Lipoproteins, with a significantly overexpressed set and others downregulated. In conclusion, *Pseudomonas* spp. Yep6B, isolated from a remote Antarctic area, can resist a vast repertoire of clinical antibiotics and has the highest colistin resistance reported in *Pseudomonas*. This multifactorial resistance involves canonical and non-canonical mechanisms like potentially Lipopolysaccharide modification enzymes.

Keywords: *Pseudomonas*, colistin, resistance, antibiotics, Antartica

Financing: Grants FONDECYT 1221193 and ANILLO mBioClim ACT210044



Tipo de presentación: Comunicación oral

**Towards a genome scale model of the chemolithoautotrophic and oleaginous bacteria *Rhodococcus opacus* DSM 43205**

**Hacia un modelo de escala genómica de la bacteria quimiolitotrófica y oleaginosa *Rhodococcus opacus* DSM 43205**

**Blanca Araya**<sup>1</sup>, Carmen Paz Torres<sup>1</sup>, Alberto Vergara-Fernandez<sup>1</sup>, Felipe Scott<sup>1</sup>

(1) Universidad de los Andes, Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, San Carlos de Apoquindo 2200. Las Condes, Santiago, Chile

**Introducción**

Se ha identificado en la bacteria Gram positivas, *Rhodococcus opacus* DSM 43205, la capacidad inherente de acumular lípidos, en forma de triglicéridos en su interior. Además de consumir diferentes tipos de sustratos como metanol, ácido acético y mezclas de H<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. Lo que la convierte en una potencial candidata como chasis de producción de ácidos grasos de origen renovable.

**Metodología**

El genoma fue secuenciado en SeqCenter LLC (Pittsburg, PA) utilizando la tecnología PabBio HiFi. Las herramientas bioinformáticas como, Canu HiFi, HiFiASM, IPA y Flye se usaron como ensambladores *de novo*. El genoma obtenido fue anotado en la plataforma kbase (<https://www.kbase.us/>) con la herramienta RASTtk – v1.073. El modelo metabólico a escala de genoma fue construido con la herramienta Build Metabolic Model v2.0.0 de Model Seed. El modelo fue curado manualmente a partir de literatura existente de *R. opacus* DSM 43205 y de otras bacterias filogenéticamente similares. La calibración del modelo se realizó utilizando datos de quimiostatos simples con medio mineral y ácido acético como fuente de carbono, determinando velocidades de crecimiento y flujos específicos de consumo de sustrato y producción de metabolitos. Los cultivos fueron realizados en un fermentador de 1.5 L con diferentes tasas de dilución. La biomasa y sustrato se determinaron mediante espectrofotometría y HPLC, respectivamente.

**Resultados**

A partir de los análisis de balances de flujo (FBA) el modelo permite predecir rendimientos, productividades y el diseño y optimización de rutas metabólicas. Los resultados muestran que el modelo curado pudo ser calibrado al set de datos experimentales obtenidos, incluyendo aspectos específicos del metabolismo de *R. opacus* como su capacidad de respirar anaeróbicamente con nitrato como último aceptor de electrones. Adicionalmente, el modelo es capaz de explicar el perfil de los ácidos grasos obtenidos desde mediciones experimentales.

**Conclusiones**

Este trabajo representa el primer modelo a escala de genoma de *Rhodococcus opacus* DSM 43205 curado manualmente y calibrado experimentalmente, que permite a la comunidad de investigación evaluar el metabolismo de esta bacteria a nivel sistémico y guiar posibles modificaciones genéticas y optimización de rutas metabólicas para la producción de metabolitos de alto valor industrial aprovechando los recursos locales del país como el hidrógeno.

Keywords: *Rhodococcus opacus*, Chemolithoautotrophs, Flux balance analysis, Chemostat, Metabolic model

Financing: FODECYT POSTDOCTORADO 3220633ANILLO ATE 220045

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **The Microbial World in Copper Sulfide Flotation Plants (CSFP): Insights into Bacterial Communities and Harnessing Halophilic Bacteria as Prospective Flotation Bioreagents**

#### **El mundo microbiano en las plantas de flotación de sulfuro de cobre (CSFP): Conocimientos sobre las comunidades bacterianas y el aprovechamiento de las bacterias halófilas como posibles bio-reactivos de flotación**

**Dayana Arias<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Antofagasta, Biomedico, Ciencias de la Salud, Av. Angamos 601, Antofagasta, Chile

La mayoría de las investigaciones relacionadas con la flotación de minerales se han centrado en el análisis de parámetros fisicoquímicos, dejando en segundo plano el papel que desempeñan los microorganismos. Nuestra investigación se basa en la premisa de que los microorganismos interactúan de manera natural con diversos minerales, lo que sugiere que podrían utilizarse de manera beneficiosa en la industria. Mediante la tecnología de secuenciación Illumina MiSeq realizamos un análisis detallado del componente bacteriano *in situ* en varias etapas del proceso de dos plantas de flotación de minerales sulfurados las cuales operan con agua cruda (RawFlo) y agua de mar (SwFlo). En ambas plantas, observamos que los filos más abundantes fueron Proteobacteria y Bacteroidetes. Sin embargo, hubo diferencias en las especies presentes en cada tipo de planta. Por ejemplo, *Algoriphagus olei* se encontró exclusivamente en muestras RawFlo en contacto con el agua de proceso, mientras que *Cupriavidus metallidurans* y *Pseudomonas\_uc* predominaron en el mineral antes de la molienda. En el caso de SwFlo, las especies más abundantes fueron *Marinobacter flavimaris* y *GU061212-s*, que también se encontraron en el agua de mar utilizada en el proceso. Estos resultados nos llevan a suponer que las aguas de proceso son las que aportan la mayor abundancia bacteriana. Adicionalmente, evaluamos distintas cepas de bacterias halófilas como posibles bio-reactivos en la flotación de minerales, destacando una cepa de *Bacillus subtilis* como bio-colector debido a que la recuperación de pirita (Py) y calcopirita (CPy) mejoró significativamente con su adición en pruebas de microflotación (recuperación de un 89.4% ±3.6 de Py y 81.8%±1.1 de CPy). Esto sugiere un mecanismo de adhesión basado en la naturaleza hidrofóbica de la bacteria, lo cual fue confirmado mediante espectroscopia infrarroja de Fourier (FT-IR), que reveló la presencia de picos de amida relacionados con proteínas en todo el espectro. Finalmente, con este estudio se ha podido comprender la influencia de las comunidades bacterianas en los procesos de flotación de minerales sulfurados y destaca el potencial de las bacterias halófilas como bio-reactivos prometedores para mejorar la eficiencia de estos procesos, al tiempo que contribuyen a una producción más respetuosa con el medio ambiente.

Keywords: bio-flotacion, cobre, *Bacillus subtilis*, flotacion, bioreactivos

Financing: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo-ANIDA través de los programas Fondecyt Postdoctorado 2021 # 3210675 y programa PIA ANID/ACT210027.

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Bacterial proteins in the biosynthesis of fluorescent cadmium nanoparticles: Effect of the DnaK chaperone on the synthesis of CdS Quantum Dots**

**Proteínas bacterianas en la biosíntesis de nanopartículas fluorescentes de cadmio: Efecto de la chaperona DnaK en la síntesis de Quantum Dots de CdS**

**Nicolás Bruna**<sup>1</sup>, Javiera Ramos-Zúñiga<sup>1</sup>, Matías Vargas-Reyes<sup>1</sup>, Patricia Gomez<sup>2</sup>, Alberto Paradela<sup>2</sup>, José M Pérez-Donoso<sup>1</sup>  
(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, Primer paso, Santiago, Chile  
(2) Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Laboratorio de Proteómica, Centro Nacional de Biotecnología, c/ Darwin 3, 28049, Madrid, España

Las chaperonas son proteínas que ayudan al plegamiento de proteínas recién sintetizadas y de proteínas agregadas o desnaturalizadas frente a una condición de estrés. Trabajos previos de nuestro laboratorio sugieren que las chaperonas DnaK y GroES interaccionan con nanopartículas (NPs) fluorescentes o *Quantum Dots* de CdS biosintetizadas por *E. coli*, *Halobacillus* sp y *A. ferrooxidans*. Además, se ha descrito que chaperonas ayudan en el control de tamaño y/o estabilidad de NPs de oro y platino sintetizadas químicamente, sin embargo, estos nanocristales no son *Quantum Dots*.

En este trabajo biosintetizamos NPs de CdS con la bacteria antártica *Arthrobacter vasquezii*. Luego, desarrollamos un nuevo método de purificación mediante columnas de afinidad de tiol-sefarosa y mediante nano-LC/MS identificamos 32 proteínas unidas a las NPs, dentro de estas, la proteína chaperona DnaK.

Para comprender el efecto de DnaK, se realizaron ensayos de biosíntesis en cepas de *E. coli* mutantes para el gen que codifica para la chaperona DnaK y en cepas de *E. coli* que sobreexpresan la proteína DnaK. Como resultado, la ausencia de DnaK afectó los tiempos de biosíntesis y sus propiedades ópticas (*bandgap*) con respecto a una cepa control (WT). Este retraso en los tiempos de biosíntesis podría indicar un potencial rol en la formación de estas nanoestructuras. A su vez, utilizando la cepa que sobreexpresaba DnaK, se observó una mayor emisión de fluorescencia que la cepa control WT.

Posteriormente, se purificó la proteína DnaK de *E. coli* para evaluar su efecto en NPs de CdS sintetizadas tanto por métodos biológicos como químicos. La incorporación de DnaK purificada a células de *E. coli* biosintetizando NPs generó cambios en las propiedades ópticas, proporcionales a la concentración de DnaK agregada. Actualmente, nos encontramos evaluando el efecto de la proteína DnaK de *Arthrobacter vasquezii* en la biosíntesis a bajas temperaturas de NPs, mediante la expresión heteróloga de la proteína en *E. coli*.

Este es el primer estudio que identifica proteínas en la cubierta orgánica de NPs de CdS biosintetizadas por bacterias. A su vez, abre la puerta para nuevos protocolos que utilicen proteínas durante la biosíntesis, permitiendo modular la cubierta orgánica de NPs de CdS.

Keywords: Bionanotecnología, Quantum Dots, Chaperonas, DnaK, Nanopartículas

Financing: Financiado por Fondecyt 1200870 e INACH DG\_01-21

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Use of cadmium nanoparticle-producing Antarctic bacteria for diesel degradation**

#### **Uso de bacterias antárticas productoras de nanopartículas de cadmio para la degradación de diésel**

**Valentina Carrasco**<sup>1</sup>, Tomás Moyano<sup>2</sup>, Javiera Ramos Zúñiga<sup>1</sup>, Claudio Dietz Vargas<sup>1</sup>, José Miguel Álvarez<sup>2</sup>, José Manuel Pérez Donoso<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Bionanotecnología y Microbiología, Facultad de Ciencias de la Vida, Av. República 330, Santiago, Chile

(2) Universidad Andrés Bello, Centro de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias de la Vida, Av. República 330, Santiago, Chile

Los derrames accidentales de combustibles constituyen una de las principales amenazas al ambiente antártico. Los suelos contaminados por diésel se ven enriquecidos en hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y metales pesados, los cuales son recalcitrantes y altamente tóxicos para los organismos vivos. La descontaminación mediante microorganismos antárticos degradadores de HAPs constituye una estrategia factible de ser utilizada, sin embargo, se sabe que los metales pesados pueden inhibir la degradación de hidrocarburos e incluso el crecimiento bacteriano. Teniendo en cuenta que existen microorganismos antárticos capaces de disminuir la toxicidad del cadmio mediante la biosíntesis de nanopartículas (NPs) de CdS, se planteó como objetivo obtener bacterias antárticas capaces de biosintetizar NPs de CdS al ser crecidas utilizando HAPs como fuente de carbono, y caracterizar este proceso. A partir de una muestra de suelo antártico contaminado por diésel se aisló una bacteria identificada como *Pseudomonas veronii* capaz de crecer utilizando tanto diésel como HAPs (fenantreno y antraceno) como única fuente de carbono, e incluso de degradarlos en presencia de hasta 500 µg/ml de Cd. El aislado logró biosintetizar NPs intracelulares de CdS al ser crecido utilizando diésel o fenantreno como única fuente de carbono, algo que no había sido descrito previamente. Mediante RNA-seq y análisis de expresión diferenciada de genes fue posible tener un acercamiento al entendimiento del metabolismo de la bacteria en las condiciones ensayadas. Se determinó que en presencia de diésel la cepa experimenta un shift metabólico, dejando de invertir energía en crecer y dividirse, activando vías de utilización de otras fuentes de carbono, e incluso con la activación de genes vinculados a la motilidad. Por otra parte, en condiciones de biosíntesis de NPs se observó un aumento en la expresión de genes vinculados a proteínas ribosomales. Estas proteínas ya han sido asociadas por nuestro grupo a la biosíntesis de NPs y se sugiere que podrían actuar como chaperonas estabilizando las NPs. También se observó que existe una respuesta a estrés oxidativo, muy probablemente producto de la presencia del Cd. Se espera que este trabajo contribuya al desarrollo de una novedosa estrategia de biorremediación de suelos contaminados por diésel.

Keywords: Antartica, Bioremediation, Diesel, RNA-seq, Nanoparticles

Financing: INACH DG\_13-22DGI-UNAB DI-03-23/INIFONDECYT 1200870

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Evolutionary potential of novel interspecific lager yeast hybrids to brewing fermentative environments**

**Francisco Cubillos**<sup>1,2,3</sup>, Jennifer Molinet<sup>1,2</sup>, Pablo Villarreal<sup>1,2</sup>, Roberto Nespolo<sup>3,4</sup>

(1) Facultad de Química y Biología, Departamento de Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, 9170022, Chile.

(2) Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), Santiago, 7500574, Chile.

(3) Millenium Nucleus of Patagonian Limit of Life (LiLi), Santiago, 7500574, Chile

(4) Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

*Saccharomyces pastorianus* is widely used to produce lager-pilsner beer at low temperatures. Given that the exact *S. cerevisiae* and *S. eubayanus* parental genomes of *S. pastorianus* are not available, the complex molecular origin and how genome plasticity prompted a greater fitness in lager hybrids is unknown. Here, we determined the genome plasticity and evolvability of *S. cerevisiae* x *S. eubayanus* laboratory hybrids under different environmental conditions. For this, we generated a large set of novel interspecific lager yeast hybrids using a genetically rich collection of wild Chilean strains for beer wort fermentation. We generated 31 interspecific hybrids at two temperatures (12 °C and 25 °C). These hybrids showed similar fermentation capacities to their parental strains, with no evidence of positive heterosis. To ameliorate the hybrid's fermentative performance, four F1s were selected for genetic improvement through a process of adaptive evolution. The different evolved lines showed higher fitness in the same evolution environment than the ancestral hybrids, demonstrating that hybrids greatly improve their fitness. Hybrids generated at low temperature, and which retained the mitochondria of *S. eubayanus*, showed the greatest improvements in fermentation capacity, similar to the commercial Lager strain. OMICs analysis demonstrated signatures of selection that explained the greater fitness. Most genetic changes occurred in the *S. cerevisiae* genome portion, while to a lower extent in *S. eubayanus*. Changes in *S. eubayanus* were in mitochondria-related genes, suggesting a mito-nuclear interaction. This study provides novel lager hybrids demonstrating the greater genomic plasticity of these strains to fermentative environments.

Keywords: Yeast, Beer, Patagonia

Financing: Millenium Institute for Integrative Biology - ICN17\_022 Millenium Nucleus LiLi - NCN2021\_050FONDECYT 1220026

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Biological and biomimetic synthesis of NaYF<sub>4</sub>:Tb,Er Quantum Dots, a rare earth element fluorescent nanoparticle capable of upconversion of infrared light**

**Síntesis biológica y biomimética de Quantum Dots de NaYF<sub>4</sub>:Tb,Er, una nanopartícula fluorescente de metales de tierras raras capaces de upconversion de luz infrarroja**

**Claudio Dietz-Vargas**<sup>1</sup>, Chih-Han Hsu<sup>1</sup>, Juan José León<sup>1</sup>, Nia Oetiker<sup>1</sup>, José Manuel Pérez-Donoso<sup>1</sup>

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

Quantum dots (QDs), a type of fluorescent nanoparticles possess enormous potential in the field of green hydrogen production, bioremediation, and photonics, among other uses. The fluorescent exhibited by these nanoparticles is usually of the downconversion type, absorbing energy with a lower wavelength (such as UV light) and emitting light at a higher visible wavelength, as seen in CdS or CuS QDs. A less common upconversion fluorescence, where the opposite behavior is observed, is observed in rare earth elements (REE) nanoparticles. This last type of QDs has advantages in the field of biomedicine and imaging, by taking energy from a non-harmful low-energy source, such as infrared light, and reemitting in a higher energy wavelength, even ultraviolet light.

Although promising, these upconverting QDs remain less studied, therefore less research is available on both uses and synthesis. As other nanoparticles, they require careful control of synthesis conditions, involving high temperature and pressure, up to 180 °C and 8 ATM, hindering their widespread study. Aiming to find simpler synthesis conditions with a focus on NaYF<sub>4</sub>:Tb,Er nanoparticles, we sought to decrease the temperature and pressure required to obtain these by introducing a biological component, *Shewanella sp.* By growing the bacteria in the presence of the QDs precursors the synthesis could be carried by the bacteria at 37 °C in 24 hours, followed by a step of desorption at 100 °C.

We believe that the *Shewanella sp.* membrane and/or the membrane-bound proteins play a fundamental role in the biosynthesis, by forming a biological metal-membrane complex that allows for the slow release of the REE required for the formation of the NaYF<sub>4</sub>:Tb,Er, while controlling the size and shape of the nanoparticles. Using a biomimetic approach to REE QDs synthesis, we found that by replacing the sodium citrate, which forms a citrate-REE complex we could carry the synthesis at 1 ATM and 90 °C. These results not only show the first biological and biomimetic synthesis of this type, but they also put forward *Shewanella sp.* as a valuable tool in achieving high-yield synthesis of highly fluorescent upconverting REE QDs.

Keywords: Upconversion, Rare-earth element, Quantum-Dots, *Shewanella sp.*

Financing: This work was supported by Fondecyt 1200870 and DARPA grant #FA8650-22-2-7218 (US Department of Defense).

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Using an optogenetic tool to control horizontally acquired genes in a wine yeast during fermentation**

#### **Utilización de una herramienta optogenética para controlar genes adquiridos horizontalmente en una levadura vínica durante la fermentación**

**David Figueroa**<sup>1,2</sup>, Diego Ruiz<sup>1,2</sup>, María Vázquez<sup>3</sup>, José Manuel Guillamón<sup>3</sup>, Francisco Salinas<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Valdivia, Chile

(2) Insitute Milenio de Biología Integrativa (iBio), Santiago, Chile

(3) Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (IATA-CISC), Departamento de Biotecnología de los Alimentos, Valencia, España

La transferencia horizontal de genes (HGT) es un proceso evolutivo clave que permite a los organismos adaptarse a diferentes condiciones ambientales. La HGT generalmente ocurre entre especies lejanamente relacionadas que comparten el mismo nicho ecológico. En las cepas de levaduras vínicas se ha demostrado que los genes adquiridos horizontalmente desempeñan un papel importante en la mejora de su rendimiento fermentativo. Sin embargo, la caracterización funcional de estos genes a nivel molecular ha sido poco atendida. En este contexto, una herramienta de biología sintética como los interruptores optogenéticos podría permitir el análisis funcional de genes adquiridos por transferencia horizontal. Los interruptores optogenéticos son dispositivos moleculares que permiten el control de diferentes procesos celulares mediante la luz. En comparación con los sistemas inducibles tradicionales, los interruptores optogenéticos ofrecen ventajas como: la regulación de la respuesta a la dosis, alta resolución espaciotemporal, bajo costo y toxicidad moderada. En este trabajo, se utilizó una nueva variante del interruptor optogenético FUNgal Light Oxygen and Voltage (FUN-LOV) para controlar la expresión de 12 marcos abiertos de lectura (ORF) provenientes de la región A adquirida horizontalmente desde *Torulaspota sp.*, permitiendo la sobreexpresión del gen objetivo bajo estimulación con luz azul o represión en condiciones de oscuridad en la cepa ALL de levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Dependiendo de la condición de crecimiento utilizada, la sobreexpresión de los genes adquiridos horizontalmente inducida por la luz puede aumentar o reducir el rendimiento de la fermentación. De manera similar, la represión de los genes adquiridos horizontalmente en oscuridad muestra una disminución en el rendimiento de la fermentación de la levadura, principalmente en condiciones de crecimiento con baja disponibilidad de nitrógeno. Nuestros resultados demuestran el potencial del interruptor optogenético FUN-LOV como herramienta para el análisis funcional de genes adquiridos horizontalmente en levaduras, y su posible aplicación para la mejora del proceso de fermentación.

Keywords: Transferencia horizontal de genes, Optogenética, Levadura, Expresión génica, Fermentación

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Obtaining and identification of native phosphate solubilizing bacteria from a mine tailing.**

**Obtención e identificación de bacterias nativas solubilizadoras de fosfato desde un relave minero.**

**Gabriel Galvez**<sup>1,2</sup>, Jaime Ortega<sup>1,2</sup>, Gladis Serrano<sup>1,2</sup>, Mauricio Gonzalez<sup>3</sup>, Mauricio Latorre<sup>1,2,3</sup>

(1) Laboratorio de Bioingeniería; Instituto de ciencias de la ingeniería; Universidad de O'Higgins, Rancagua, Chile.

(2) Centro de biología de sistemas para el estudio de comunidades extremófilas de relaves mineros (SYSTEMIX), Universidad de O'Higgins, Rancagua, Chile.

(3) Millennium Institute Center for Genome Regulation (CRG), INTA, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

En Chile del total de los minerales de cobre procesados, al menos el 98% de su composición corresponde a residuos, que finalmente se depositan en grandes depósitos llamados relaves. Dentro de ellos, sólo el 15% está activo. Por otro lado, la alta concentración de distintos metales presentes en los relaves, como también el pH ácido del suelo, generan un reservorio natural para bacterias adaptadas a condiciones extremas, presentando una oportunidad en la obtención de bacterias con potenciales biotecnológicos, como, por ejemplo, bacterias solubilizadoras de fosfato, bacterias útiles en distintos procesos industriales vinculados a la minería y a la agricultura. En este escenario, el siguiente trabajo tiene por objetivo la obtención de aislados bacterianos del relave Cauquenes (región de O'Higgins, Chile), con capacidad de solubilizar fosfato *in vitro* (método de Pikosvkaya). Con este propósito, se recolectaron muestras de suelos desde 12 puntos del relave Cauquenes. Posteriormente, se realizó la extracción y secuenciación del ADN total de suelo de cada sitio para identificar la abundancia y diversidad bacteriana del relave. Finalmente se aislaron bacterias, usando diferentes medios de cultivos, seleccionando aquellas con capacidad de solubilizar fosfato a través de la generación de halo en medio sólido Pikosvkaya (PKV). En términos generales se observó que dentro de la comunidad bacteriana existe una mayor abundancia de OTUs pertenecientes a las familias *Erwiniaceae*, *Pseudomonadaceae* y *Micrococcaceae*, familias con potencial en la solubilización de fosfato. En el aislamiento de bacterias, de un total de 232 aislados no redundantes, 15 de ellos presentaron la capacidad de formación de halo en el medio Pikosvkaya, indicando su actividad en la solubilización de fosfato, destacándose bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Arthrobacter* como las más representadas, indicando el gran potencial que existe en el relave. Esperamos que estos resultados nos permitan proponer una opción biotecnológica con base en el uso de bacterias obtenidas de ambientes extremos, sumado a brindar nuevo conocimiento sobre la diversidad bacteriana presente en relaves mineros de nuestro país.

Keywords: bacterias solubilizadoras de fosfato, relave minero, aislamiento, biotecnología

Financing: Centro de Modelamiento Matemático (CMM) BASAL ANID FB210005, ANID – Millennium Science Initiative Program – ICN2021\_044, Fondo Interdisciplinario Interno UOH, ANID FONDECYT 1230194, SYSTEMIX ANID ANILLO ACT210004, Beca ANID 21211367 y 21220593



Tipo de presentación: Comunicación oral

**Comunidades bacterianas y bacterias migratorias de hifas en compost, suelo y rizosfera en un huerto de uva de mesa**

**Bacterial communities and hyphal migratory bacteria in compost, soil and rhizosphere in a table grape orchard**

**Milko Jorquera**<sup>1</sup>, Susett Gonzalez<sup>1,2</sup>, Javiera Manquian<sup>1</sup>, Jacqueline Acuña<sup>1</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada (EMALAB), Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Programa de Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

El compostaje es una fuente de nutrientes y microorganismos beneficiosos para la agricultura. Los microorganismos (bacterias y hongos) son esenciales para el compostaje, degradando compuestos recalcitrantes y/o liberando nutrientes y elementos esenciales beneficiosos para la fertilidad del suelo. Sin embargo, aún se comprende poco el papel de las interacciones entre bacterias y hongos para la fertilización impulsada por compost. En este estudio, analizamos la composición de la comunidad bacteriana de un compost comercial (C), suelo sin aplicación de compost (BS) y suelo de rizosfera con aplicación de compost (RSC) de un huerto de uva de mesa *Vitis vinifera* L. en la zona central de Chile. Además, usamos un sistema de columna (fungal highway column system, FHCS) para aislar y caracterizar parejas hongos-bacterias crecidas desde las muestras de C y RSC. Las parejas de hongos-bacterias luego se identificaron mediante secuenciación (genes 16S y 18S rRNA) y rasgos representativos de la promoción del crecimiento vegetal (PGP) se analizó en las bacterias migratorias. Los resultados mostraron una mayor riqueza, diversidad y conectividad bacteriana en muestras de RSC y BS comparado con C, donde Actinomycetota (11-46%) y Pseudomonadota (22-38%) fueron las filas más abundantes. El sistema de columna permitió aislar hongos de los géneros *Aspergillus*, *Mucor*, *Ulocladium*, *Rhizopus* y *Syncephalastrum*, y bacterias de los géneros *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Glutamicibacter* y *Microbacterium*. En las hifas de los hongos, Bacillota fue el filum bacteriano dominante (>90%) en las comunidades migratorias en 10 de 18 hongos aislados, mientras que Pseudomonadota y Actinomycetota fueron dominantes en las restantes cepas de hongos. Las bacterias migratorias aisladas también mostraron rasgos PGP, tales como síntesis de auxina, actividad ACC desaminasa o mineralización de fósforo. Nuestros resultados revelan en detalle la diversidad de comunidades bacterianas migratorias a lo largo de las hifas de hongos crecidas desde compost y suelo rizosféricos, determinadas por interacciones específicas hongos-bacterias, incluyendo bacterias no cultivables y bacterias con mecanismos PGP. Así, el compostaje no solo puede ser un proveedor de nutrientes, sino también una fuente de dispersión de microorganismos emparejados en los suelos agrícolas.

Keywords: comunidad bacteriana, hongos, compostaje, micosfera, *Vitis vinifera*

Financing: FONDECYT no. 1201386 y 1221228.

Acknowledgments: Los autores agradecen a Jorge Parrague y Osmar Morillo de Armony S.A.

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Assessment of Antimicrobial Activity of Biosurfactants Derived from Strains Isolated from a Biopurification systems**

#### **Determinación de la actividad antimicrobiana de biosurfactantes provenientes desde cepas aisladas de un sistema de biopurificación de plaguicidas.**

**Claudio Andres Lamilla**<sup>2</sup>, Andrés Huenchupan<sup>2</sup>, Daniela Avila<sup>1</sup>, David Troncoso<sup>1</sup>, Ignacio San martin<sup>1</sup>, Heidi Schalchli<sup>2</sup>, Maria Cristina Diez<sup>2,3</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Biotecnología, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Centro de Excelencia en Investigación Biotecnológica Aplicada al Medio Ambiente (CIBAMA), Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Universidad de La Frontera, Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

Los sistemas de biopurificación (SBP) se utilizan para prevenir y contener derrames accidentales de plaguicidas antes de su aplicación en la agricultura. Dentro de un SBP en operación, la biomezcla alberga diversos microorganismos activos, especialmente bacterias y hongos, que adquieren rasgos únicos debido a su exposición constante a diversas mezclas de plaguicidas. Estudios recientes han demostrado que ciertas bacterias en suelos contaminados y en SBP pueden producir biosurfactantes. Estas moléculas, generadas por microorganismos, reducen la tensión superficial entre líquidos y tienen propiedades emulsionantes, espumantes y humectantes. Los biosurfactantes tienen aplicaciones industriales y ambientales. Los biosurfactantes poseen diversas aplicaciones en campos industriales y ambientales, además de estar bajo investigación por su potencial acción antimicrobiana, ya que ciertos tipos de biosurfactantes pueden inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos. En este marco, el objetivo del estudio es determinar la actividad antimicrobiana de biosurfactantes obtenidos de cepas aisladas de un SBP de plaguicidas. Se escogió la cepa *Bacillus amyloliquefaciens* C11, cultivada en un reactor de tres litros con medio de cultivo Landy a 100 rpm y 28 °C por 72 horas. El biosurfactante se extrajo centrifugando a 10.000 rpm y 4 °C durante 10 minutos, y el sobrenadante se procesó con cloroformo y metanol, luego analizado mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión en agar Miller Hilton, utilizando discos con 25 µL de biosurfactante en las cepas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Los resultados mostraron una producción de biosurfactante a 50 mg/mL y actividad inhibitoria en ambas cepas, con halos de 25 mm. Comprobar la actividad antimicrobiana es esencial en la evaluación de sustancias con potencial terapéutico. En este contexto, el biosurfactante demuestra un prometedor potencial como agente antimicrobiano, mereciendo futuras investigaciones como alternativa o complemento a tratamientos convencionales.

Keywords: Biosurfactantes, Bacillus, Plaguicidas, antimicrobiana

Financing: VICERRECTORÍA INVESTIGACION Y POSTGRADO

Acknowledgments: ANID/FONDAP/15130015, FONDECYT 1211738, PIA21-0002

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Effect of different carbon sources on the composition and activity of a sulfate-reducing microbial consortium and the purity of a NaHS solution obtained from the produced biogenic H<sub>2</sub>S**

**Efecto de diferentes fuentes de carbono sobre la composición y actividad de un consorcio microbiano reductor de sulfato y la pureza de una solución de NaHS obtenida a partir del H<sub>2</sub>S biogénico producido**

**Sabrina Marín<sup>1</sup>**, Tamara Campillay<sup>1</sup>, Roberto Véliz<sup>1</sup>, Osvaldo Toro<sup>1</sup>, Cristian Zúñiga<sup>1</sup>, María Angélica Yáñez<sup>1</sup>, Cecilia Demergasso<sup>1</sup>  
(1) Universidad Católica del Norte, Centro de Biotecnología Profesor Alberto Ruiz, Avenida Angamos 0610, Antofagasta, Chile

La producción biogénica de H<sub>2</sub>S ha sido ampliamente estudiada y descrita. La investigación y desarrollo de este proceso ha hecho posible su aplicación industrial tanto para el procesamiento de minerales de oro y cobre - donde el H<sub>2</sub>S es utilizado para precipitar el cobre desde soluciones cianuradas, mediante proceso SART (Sulphidization–Acidification–Recycle–Thickening) - como en procesos de flotación. Otros agentes sulfidizante utilizados en la industria minera son el sulfuro de sodio (Na<sub>2</sub>S) y el sulfhidrato de sodio (NaHS). Uno de los aspectos limitantes a la hora de escalar procesos biotecnológicos es el alto costo de producción asociado a los reactivos que son utilizados como nutrientes, por lo que es necesario identificar fuentes alternativas y más económicas de estos insumos para favorecer la viabilidad de los procesos. Por otra parte, uno de los desafíos en la producción de Na<sub>2</sub>S y NaHS es obtener un producto puro, libre de impurezas como el Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el crecimiento y la actividad de un consorcio de microorganismos nativo del Desierto de Atacama, bajo distintas fuentes simples (glucosa, lactato, etanol, glicerol) y complejas de carbono, estas últimas provenientes de subproductos o desechos de la industria cervecera, vitivinícola y alimentaria, para la producción de H<sub>2</sub>S y su posterior uso para la producción de NaHS. Todas las fuentes de carbono fueron evaluadas en cultivos batch de laboratorio. Posteriormente, la fuente de carbono seleccionada fue evaluada en un biorreactor continuo con un tiempo de residencia de cinco días. Se analizó el crecimiento de los cultivos, el pH del medio, la reducción de sulfato, el consumo de la fuente de carbono, los cambios en la composición microbiana del consorcio y la pureza de la solución de NaHS producida. Se evidenciaron cambios en la composición del consorcio microbiano y en el nivel de pureza de NaHS entre las distintas fuentes de carbono analizadas. La fuente de carbono seleccionada mantuvo entre un 90 y 100% la reducción de sulfato en el biorreactor y aseguró una producción final de NaHS sin impurezas.

Keywords: Reducción desasimilatoria de sulfato, Producción de H<sub>2</sub>S biogénico, Producción de NaHS, Fuentes alternativas de carbono, Consorcio microbiano

Financing: Proyecto Fondef IT20i0073, ANID

Acknowledgments: Proyecto Fondef IT20i0073, ANID

Tipo de presentación: Comunicación oral

### Effect of Ethanol and Acetate Initial Concentrations on Hydrogen Production in *Clostridium kluyveri* Batch Cultures.

**Andres Suazo**<sup>1</sup>, Fabián Otalora<sup>1</sup>, Jimmy Martinez<sup>1</sup>, Fabian Véliz<sup>1</sup>, Pamela Cortes<sup>1</sup>, Raul Conejeros<sup>1</sup>, Germán Aroca<sup>1</sup>  
(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Av. Brasil 2085, Valparaíso, Chile

**Background:** *Clostridium kluyveri* is an anaerobic carbon chain elongator bacteria that can be cultured with ethanol as carbon and energy source and short chain organic acids (e.g. acetate, butyrate) as electron acceptors. The reverse  $\beta$ -oxidation (rBOx) pathway allows production of medium chain carboxylates acids (MCCAs) between 4 and 8 carbons (e.g. butyrate or caproate) while producing  $H_2$  as end-product. The aim of this work is to study the effect of the initial ethanol:acetate molar ratios on the production of  $H_2$ .

**Methods:** *Clostridium kluyveri* DSM 555 was cultured in DSMZ 52 medium, using 500 mL vials with 250 mL of working volume. Headspace gas initial pressure was 0.5 bar, with a composition of 27%  $CO_2$  and 73%  $N_2$ . Optical density at 600 nm was used to measure biomass concentration. Liquid substrates and products concentrations were measured by HPLC. Cultures were made by triplicate monitored for 50 hours. Headspace pressure was measured before taking each sample, while  $H_2$  and  $CO_2$  compositions were determined by GC. Ethanol initial concentration was 0.34 M, while the three conditions for acetate initial concentrations were 0.05, 0.17 and 0.29 M (6.8, 2.0 and 1.2 ethanol:acetate molar ratios, respectively).

**Results:** *C. kluyveri* growth rate is decreased by increasing initial acetate concentration, maximum biomass concentration of  $0.25 \pm 0.01$  g/L was reached for all conditions.

For 0.05, 0.17 and 0.29 M of initial acetate concentration, 88%, 67% and 57% of acetate was utilized, correspondingly. Of all the acetate concentrations tested, only the lowest one resulted in incomplete depletion of ethanol with 84% consumption. At 50 h, caproate to butyrate molar ratios were 4.76, 1.03, 0.68 for the initial acetate concentrations of 0.05, 0.17 and 0.29 M, respectively. For the abovementioned initial acetate concentrations, the best results were obtained for 0.17 M of initial acetate, with a maximum  $H_2$  productivity of  $9.54 \pm 0.32$  mmol/(g cell\*h) achieved at 30 h of culture time and a maximum yield of  $154.8 \pm 8.4$  mmol  $H_2$ /g cell.

**Conclusion:** The best hydrogen specific productivities were achieved during the log phase. Also, higher hydrogen production was achieved at an ethanol:acetate molar ratio of 2, which slightly benefits chain elongation to caproate.

Keywords: Biohydrogen, Green Hydrogen, *Clostridium kluyveri*

Financing: Proy. Anillo ANID ATE220045. Fueling a new sustainable industry in Chile via integrated and intensified bio-electrochemical processes for  $CO_2$  upcycling using green hydrogen and renewable energy for alleviating climate change.

Acknowledgments: Andrés Suazo has been supported by the ANID-Chile scholarship N° 21201429.

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Green synthesis of long-lifetime fluorescent terbium sulfide nanoparticles using *E. coli***

**Síntesis verde de nanopartículas de sulfuro de terbio fluorescentes de larga vida útil utilizando *E. coli***

Juan José León<sup>1,2,3</sup>, Nicolás Torres<sup>1</sup>, Nía Oetiker<sup>1,2,3</sup>, Nicolás Bruna<sup>1</sup>, Paras N. Prasad<sup>2</sup>, José Manuel Pérez-Donoso<sup>1</sup>, Mark Swihart<sup>3</sup>  
(1) Universidad Andrés Bello, Center for Bioinformatics and Integrative Biology (CBIB), Facultad de Ciencias de la Vida, República #330, Santiago, Chile

(2) University at Buffalo, Department of Chemistry and the Institute for Lasers, Photonics, and Biophotonics, Buffalo, United States

(3) University at Buffalo, 3Department of Chemical Engineering, Buffalo, United States

Rare-earth sulfide nanoparticles (NPs) have been proposed as good lanthanide (Ln) hosts with multiple applications in nanotechnology. The interesting and novel properties of these NPs arise from the unique electronic structure of their +3 Ln which have sharp fluorescence emission peaks and long fluorescence lifetime, that is why multiple probes and bioimaging assays have been developed with this kind of NPs. However, few chemical methods to synthesize these NPs have been reported to date, most of them involving high temperatures and long synthesis times. A green alternative to these protocols corresponds to the biosynthesis of NPs using bacteria. Bacterial NP synthesis has been extensively reported, however, few lanthanide-based NPs have been biosynthesized and no biosynthesis of sulfide NP has been reported to date. Here we report the first biological method to synthesize Terbium sulfide NPs using microorganisms. The interaction of Tb with *Escherichia coli*, the minimal inhibitory concentration (MIC), and the effect of the metal on bacterial viability was determined. Based on this, we developed a method that allows *E. coli* to extracellularly produce TbS NPs at 37 °C by controlling the cellular sulfur metabolism to produce high sulfide concentrations. NPs with fluorescent properties and electron diffraction pattern matching TbS nanocrystals were obtained. HR-TEM analysis revealed NPs with spherical shape and a mean size of  $4.088 \pm 1.3$  nm, being the smallest terbium sulfide NPs described to date. EDX elemental analysis confirmed the colocalization of terbium and sulfur in the nanostructures. Fluorescent analysis revealed a high fluorescent lifetime with sharp emission peaks ( $\tau = 1.76$  ms). This study gives insight into the Rare Earth Element (REE)-bacteria interaction, showing that *E. coli* can grow and tolerate higher concentrations of the REE when biosynthesizing extracellular TbS NPs. This novel lanthanide sulfide nanoparticle green synthesis method opens new routes for the manufacturing and tuning of different and more complex rare earth elements-based nanocrystals.

Keywords: Nanoparticles, Terbium, Biosynthesis, rare earth elements, Green synthesis

Financing: This work was supported by DARPA grant #FA8650-22-2-7218(US Department of Defense) and Fondecyt 1200870.

Tipo de presentación: Comunicación Oral

**Heterosis identification in aromas of *Saccharomyces eubayanus* x *Saccharomyces cerevisiae* polyploid hybrids generated considering the genetic diversity of both species for the fermentation of beer wort**

**Identificación de heterosis en aromas de híbridos poliploides *Saccharomyces eubayanus* x *Saccharomyces cerevisiae* generados considerando la diversidad genética de ambas especies para la fermentación de mosto de cerveza**

**Vasni Zavaleta Acosta**<sup>1</sup>, Laura Pérez-Través<sup>2</sup>, Amparo Querol<sup>2</sup>, Francisco A. Cubillos<sup>1,3</sup>

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

(2) Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (IATA-CSIC), Departamento de Biotecnología, Valencia, España

(3) Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), Santiago, Chile

Las levaduras se usan comúnmente en la producción de bebidas fermentadas, siendo la cerveza la más popular. Una de las levaduras más estudiadas es *Saccharomyces pastorianus*, un híbrido entre *Saccharomyces eubayanus* y *Saccharomyces cerevisiae*. A pesar de su alto rendimiento fermentativo a bajas temperaturas para la producción de cerveza lager, las cervezas lager actuales carecen de complejidad organoléptica. Esto contrasta con las nuevas tendencias de consumidores quienes muestran un mayor interés en probar cervezas elaboradas con levaduras que ofrecen perfiles aromáticos distintivos. A la luz de esta demanda, mediante la hibridación de cepas de diversas especies se logran generar nuevas cepas cerveceras. Estos híbridos pueden presentar heterosis, esto es, superioridad en un determinado rasgo fenotípico al compararse con el de sus parentales, lo cual resulta ser de interés industrial. Aprovechando la gran diversidad genética de *S. eubayanus* y *S. cerevisiae*, en este trabajo hemos generado híbridos poliploides *S. eubayanus* x *S. cerevisiae*. Así, cruzamos mediante *rare mating* levaduras *S. cerevisiae* de los linajes Bioetanol, Vino, Sake y Cerveza con cepas *S. eubayanus* nativas del sur de Chile de los linajes PB-1, PB-2, PB-3 y Admixed. Evaluamos la capacidad fermentativa a 12°C de 47 híbridos y determinamos que aquellas provenientes de un parental *S. cerevisiae* de cerveza exhibieron una mayor producción de CO<sub>2</sub>, probablemente asociado a un mayor consumo del azúcar maltotriosa presente en el mosto. También, determinamos el número de ploidía que varió de 2n a 4n. Además, evaluamos la producción de ésteres volátiles y encontramos que los híbridos exhibieron un perfil organoléptico significativamente más diversificado en comparación con sus especies parentales y con heterosis en la producción de isoamil acetato (plátano) y etil acetato (dulce, frutal). Finalmente, la secuenciación completa del genoma de 9 híbridos de alta fermentación reveló variaciones genéticas, que probablemente subyacen al perfil de aroma de estos híbridos, junto con establecer una herencia preferencial de la mitocondria de *S. eubayanus*, rasgo asociado a una mayor tolerancia a bajas temperaturas. Estos resultados arrojan luces sobre la posible diversificación aromática de la cerveza lager al generar nuevas cepas híbridas de *S. eubayanus* x *S. cerevisiae*.

Keywords: Levaduras, Híbridos, Heterosis, Aromas, *Saccharomyces eubayanus*

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Microbial responses to environmental gradients in a North Patagonian fjord, Comau Fjord**

#### **Respuestas microbianas a gradientes ambientales en un Fiordo de la Patagonia Norte, Fiordo de Comau**

**Polette Aguilar-Muñoz**<sup>1</sup>, Marcela Cornejo<sup>2</sup>, Roberto Orellana<sup>1,3</sup>, Paula Celis-Pla<sup>1,3</sup>, Céline Lavergne<sup>1,3</sup>, Camila Fernández<sup>4,5,6,7</sup>, Sara Beier<sup>7,8</sup>, Yoanna Eissler<sup>9</sup>, Claudia Piccini<sup>10</sup>, Samuel Hormazabal<sup>2</sup>, Veronica Molina<sup>1,3,4</sup>

(1) HUB Ambiental UPLA, Universidad de Playa Ancha, Subida Leopoldo Carvallo 207, Valparaíso, Chile

(2) Escuela de Ciencias del Mar e Instituto Milenio de Oceanografía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile

(3) Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Valparaíso, Chile

(4) Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

(5) Centro de Investigación Oceanográfica COPAS Sur-Austral, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

(6) Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

(7) Laboratoire d'Océanographie Microbienne, Observatoire Océanologique de Banyuls-sur-Mer, Sorbonne Université, Banyuls-sur-Mer, France

(8) Department of Biological Oceanography, Leibniz Institute for Baltic Sea Research Warnemünde (IOW), Rostock, Germany

(9) Instituto de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile

(10) Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

El Fiordo de Comau presenta gradientes físicoquímicos asociados a la circulación estuarina con agua dulce-salobre y agua de mar en la superficie y subsuperficie, respectivamente, asociados al aporte terrígeno a través de ríos, cascadas y otras fuentes naturales hidrotermales, además fuentes antrópicas como la acuicultura. Avances en la ecología microbiana del ecosistema indican que la estructura comunitaria es dinámica y cambia espaciotemporal y potencialmente asociado a los gradientes de enriquecimiento en nutrientes. En este estudio se implementó una estrategia de trasplante recíproco en bolsas de diálisis (permite el paso de nutrientes y materia orgánica <12,000 KDa) para identificar alteraciones a nivel comunitario y de grupos microbianos funcionales, i.e., arqueas y bacterias amonio oxidantes, nitrito oxidantes, metano oxidantes y sulfato reductoras, basado en metabarcoding (16S rRNA) y RT-qPCR, sumado a una caracterización biogeoquímica de dos extremos del fiordo. Sitio MH, cercano al aporte de ríos como el Lloncochaigua y salmonicultura, comparada con el extremo opuesto del fiordo (XH) donde se encuentra un paredón con aporte de fluido hidrotermal. Los resultados dan cuenta de condiciones de físicoquímicas similares, aunque ligeramente enriquecido en nitrógeno en MH en comparación a XH. En general, se observó una alta riqueza microbiana compartida con 44% ASV, seguido por un mayor número de ASVs en XH en comparación a MH. La diversidad disminuyó en los experimentos, especialmente en MH en comparación a su inicial e *in-situ*, enriqueciéndose en grupos microbianos como Thalassotalea, Colwellia, Flavobacterium. En conclusión, el trasplante permite identificar grupos microbianos potencialmente claves en responder a gradientes ambientales presentes en el fiordo.

Keywords: Respuesta Microbiana, Metabarcoding, Fiordo de Comau

Financing: Fondecyt 1211977

Tipo de presentación: Comunicación Oral

**Spatial and temporal variation of bacterial communities in lakes of the Fildes Peninsula, King George Island, Maritime Antarctica.**

**Variación espacial y temporal de las comunidades bacterianas en lagos de la Península Fildes, Isla Rey Jorge, Antártica Marítima**

**Diego Ahumada**<sup>1,2</sup>, Léa Cabrol<sup>2,3</sup>, Julieta Orlando<sup>1,2</sup>

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

(2) Instituto Milenio Biodiversidad de Ecosistemas Antárticos y Subantárticos (BASE), Chile

(3) Aix Marseille University, CNRS, IRD, Mediterranean Institute of Oceanography (MIO), Marseille, France

La biogeografía microbiana estudia la distribución de los microorganismos en relación con el espacio y el tiempo. Los patrones biogeográficos son generados por procesos de ensamblaje, los cuales incluyen la selección de especie, la dispersión, la deriva y la mutación. Estos procesos actúan de manera conjunta para determinar la composición y estructura de las comunidades bacterianas. La contribución relativa de estos procesos depende de factores como la distancia geográfica, el tipo de hábitat, las características funcionales, el estilo de vida de las comunidades, y el nivel de resolución taxonómica y/o filogenética utilizado en los análisis. Sin embargo, aunque la biogeografía microbiana ha sido ampliamente estudiada a nivel espacial, se ha prestado menos atención a la integración de la escala temporal en los estudios de los procesos de ensamblajes. En este trabajo, se evaluó el efecto de la variación espacial y temporal sobre los procesos de ensamblaje de las comunidades bacterianas en lagos antárticos. Para ello, se recolectaron 164 muestras en duplicado desde dos hábitats (sedimento y agua, filtrada a 0,22 µm) en 11 lagos ubicados en la Península Fildes, Isla Rey Jorge, Antártica Marítima durante 4 campañas de terreno en verano austral, en las fechas 2017, 2019, 2021 y 2023. Mediante *metabarcoding* de la región V4-V5 del 16S se identificaron las comunidades bacterianas en ambos tipos de muestras y las secuencias obtenidas se procesaron mediante MOTHUR aplicando análisis multivariados. La mayor diferencia se observó entre las comunidades bacterianas de sedimentos y agua superficial en términos de composición y abundancia relativa. Además, la variación espacial (i.e., comparaciones entre lagos un mismo año) tuvo un impacto mayor sobre la estructura de las comunidades que la variación temporal (i.e., comparaciones entre años para un mismo lago). Los procesos de ensamblaje de las comunidades también revelaron diferencias dependiendo del hábitat. En particular, la limitación de la dispersión (restricción del movimiento o del establecimiento en un lugar) prevaleció como el principal proceso de ensamblaje en el sedimento, mientras que en el agua prevaleció el proceso de deriva (cambios al azar en las abundancias relativas de taxones dentro de una comunidad).

Keywords: Microbiología, Ecología, Antártica, Biogeografía, Lagos

Financing: Financiado por ICN2021\_002 y FONDECYT 1211672



Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Multi-omics applications in biotechnology of bacteria from extreme environments**

#### **Aplicaciones multiómicas en biotecnología de bacterias de ambientes extremos**

**Leticia Barrientos Díaz**<sup>1</sup>, Kattia Nuñez Montero<sup>1</sup>, Andrés Santos Ñanculef<sup>2</sup>, Pablo Bruna Ferj<sup>3</sup>, Ana María Zárate Riveira<sup>1</sup>, Rodrigo Salazar Celedón<sup>3</sup>, María José Contreras Rivas<sup>1</sup>, Karla Leal Villegas<sup>1</sup>

(1) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Aplicadas, Ingeniería, Avenida Alemania 1090; Las Delicias 440, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Ciencias Básicas, Medicina, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Doctorado en Ciencias, mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, Avenida Las Encinas 895, Temuco, Chile

La bioprospección de moléculas bioactivas sugiere que las actinobacterias y otros microorganismos extremófilos tienen potencial biosintético para la producción de nuevos compuestos con propiedades únicas. Ambientes extremos, como la Antártida, dan lugar a ecosistemas complejos para la vida de los microorganismos, por lo que se espera que estas bacterias alberguen rutas biosintéticas únicas y, como resultado, nuevos metabolitos secundarios producto de la evolución y adaptación a las condiciones poliextremas a las que se enfrentan y las interacciones entre especies en un ambiente hostil. Nuestro trabajo se basa en el estudio y la caracterización de bacterias antárticas y sus compuestos derivados con aplicaciones biotecnológicas. Para ello hemos desarrollado métodos de aislamiento de distintas especies nuevas, incluyendo actinobacterias "raras" o poco frecuentes, reporte de genomas completos de éstas, minería de datos para comprensión del potencial metabólico que representan, así como comprensión del arsenal de genes asociados a la adaptación al ambiente extremo. Además, hemos obtenido resultados positivos en la activación/obtención de metabolitos secundarios bacterianos a través del cultivo en microbiorreactores de alto rendimiento (HTP) en condiciones de elicitación y simulaciones de amenazas ambientales. Por su parte, se han realizado ensayos de bioactividad, correlacionando perfiles metabolómicos (detección LC-QTOF-MS/MS) con la información genómica, destacando las cepas con mayor capacidad bioactiva contra patógenos humanos y fitopatógenos. Además, se han identificado otras capacidades en las bacterias aisladas y caracterizadas, entre ellas la producción de pigmentos para su potencial aplicación en cosmética y fotosensibilización de celdas solares; así como la sinergia entre consorcios para la promoción del crecimiento vegetal. En este contexto, se está trabajando en el estudio de comunidades bacterianas antárticas expuestas a condiciones de calentamiento acelerado y la conectividad del resistoma de comunidades marino-bentónicas, en ambientes contaminados con metales, para comprender los cambios que podrán impactar estos ambientes poco estudiados y proponer posibles soluciones. Como perspectivas, nuestro grupo de investigación pretende utilizar enfoques integradores para la comparación de datos multiómicos y predicciones precisas, con el fin de aportar nuevas soluciones biotecnológicas en la producción agrícola, animal y vegetal, así como aportar el conocimiento científico de la ecología microbiana de ambientes extremos.

Keywords: Extremófilos, Biotecnología, Bioactividad, Genómica

Financing: Fondecyt Regular 1210563Fondecyt Iniciación 11230475Fondecyt Posdoctoral 3220504

Acknowledgments: Fondecyt Regular 1210563Fondecyt Iniciación 11230475Fondecyt Posdoctoral 3220504

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Insights into early evolutionary adaptations of the *Akkermansia* genus to the vertebrate gut: a phylogenomic approach**

**Adaptaciones evolutivas tempranas del género *Akkermansia* al intestino de los vertebrados: un estudio filogenómico**

**Juan Pablo Cardenas**<sup>1,2</sup>, Damariz Gonzalez<sup>1</sup>, Mauricio Morales-Olavarria<sup>1</sup>, Boris Vidal-Veuthey<sup>1</sup>, Claudio Martinez<sup>3</sup>

(1) Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Universidad Mayor, Santiago, Chile

(2) Escuela de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Universidad Mayor, Santiago, Chile

(3) Programa de Ingeniería en Biotecnología, Facultad de Ciencias Naturales, Matemática y del Medio Ambiente, Universidad Tecnológica Metropolitana (UTEM), Santiago, Chile

Los organismos del género *Akkermansia*, especializados en degradar mucina, son los únicos representantes dentro del filo *Verrucomicrobiota* que forman parte de la microbiota intestinal de vertebrados. Por ende, *Akkermansia* es un interesante modelo evolutivo para entender cómo grupos microbianos evolucionan para convertirse en miembros de la microbiota animal, respecto a contrapartes que habitan otros nichos. Se hipotetiza que el origen de *Akkermansia* estuvo asociado a la masiva ganancia de genes asociados a su estilo de vida simbiote y que hubieron varios eventos de transferencia genética horizontal (HGT) asociados a este proceso.

Para evaluar esta hipótesis, una colección de 367 genomas de *Akkermansia* provenientes de aislados y metagenomas (junto a un conjunto de genomas de otros miembros de *Verrucomicrobiota*) fueron sometidos a un análisis filogenómico, basado en cálculos de familias de genes conservados usando *OrthoFinder*. Posteriormente, por medio de *Count*, se generó un modelo de ganancia/pérdida de genes para predecir el patrimonio genético del ancestro que originó a *Akkermansia* (bautizado como *LAKKCA*). Se predijeron eventos de HGT usando *HGTector* y algunos ejemplos fueron validados por filogenia.

El análisis filogenómico confirmó la existencia de 25 especies de *Akkermansia*, distribuidos en dos clados principales claramente divergentes de sus parientes fuera del género. El modelo de ganancia/pérdida de genes sugiere un reemplazo de funciones asociadas a ciertos procesos metabólicos durante el origen de *Akkermansia*, como la degradación de carbohidratos y la adquisición de otras funciones, asociadas a elementos genéticos móviles, durante la evolución tardía del género. Este análisis mostró que *LAKKCA* poseía genes asociados con la maquinaria de degradación de la mucina, indicando que este rasgo característico es una innovación ancestral involucrada en el origen de *Akkermansia*. La detección de eventos de HGT sugieren además que varios de estos eventos involucraron donantes indefinidos u otros habitantes del intestino (ej.: *Bacteroides*).

En conclusión, masivos eventos de ganancias y pérdidas genéticas, y la adquisición de nuevos tipos de funciones, asociadas a capacidades nicho-específicas, marcaron la aparición y evolución de *Akkermansia* dentro del filo *Verrucomicrobiota*. Esto puede ser clave para futuras indagaciones sobre cómo hacer posible la adaptación personalizada de organismos para residir en el nicho intestinal.

Keywords: *Akkermansia*, phylogenomics, gene gain/loss model, horizontal gene transfer, mucin degradation

Financing: Fondecyt-ANID Proyecto 11200209 (J.P.C.), ANID Doctorado Nacional/2021-21211564 (B.V-V.)

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Structures and dynamics of the microbial community in a biofilter of a commercial recirculating water system (RAS) for Atlantic salmon (*Salmo salar*)**

**Estructuras y dinámicas de la comunidad microbiana en biofiltro de un sistema de recirculación de agua (RAS) comercial para Salmón del Atlántico (*Salmo salar*)**

**Diego Caro**<sup>1</sup>, Yoandy Coca<sup>2</sup>, Rudy Suárez<sup>3</sup>, Jacob Bledsoe<sup>4</sup>, Juan Ugalde<sup>5</sup>, César Antonio Sáez Navarrete<sup>2</sup>, Juan Pablo Pontigo<sup>6</sup>, Marcos Godoy<sup>1,6</sup>, Marco Andre Montes de Oca Salto<sup>1</sup>

(1) Centro de Investigaciones Biológicas Aplicadas (CIBA), Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Santiago, Chile

(3) Universidad Católica del Norte, Programa de Magíster en Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar, Coquimbo, Chile

(4) University of Idaho, Aquaculture Research Institute, Moscow, USA

(5) Universidad Andres Bello, Microbial Data Science Lab, Santiago, Chile

(6) Universidad San Sebastián, Facultad Ciencias de la Naturaleza, Medicina Veterinaria, Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Chile

**Introducción**

Los sistemas de acuicultura en recirculación (RAS) están siendo cada vez más empleados en la producción de salmón del Atlántico (*Salmo salar*), dado su potencial para intensificar la producción a la par de controlar el entorno de cultivo con un uso mínimo de agua y reducido impacto ambiental. La perspectiva teórica de brindar condiciones ambientales óptimas implica que, siempre y cuando se domine completamente la tecnología y operación, los RAS pueden proporcionar un escenario propicio para el crecimiento, supervivencia y resistencia a enfermedades en los peces. El biofiltro constituye un elemento central en los sistemas de acuicultura en recirculación (RAS) y por lo general alberga una microbiota variada, que incluye bacterias nitrificantes. La operación de los RAS depende de las bacterias nitrificantes para transformar los productos de desecho nitrogenados tóxicos generados por los peces en formas menos nocivas.

**Métodos**

En este estudio se realizó un análisis secuencial del desarrollo del microbioma de un biofiltro de un sistema productivo de salmón del Atlántico (*S. salar*). Para esto se tomaron muestras de agua del afluente, biofiltro, biomedio, y efluente. El gen 16S fue secuenciado mediante tecnología Illumina.

**Resultados**

La abundancia relativa a nivel de phylum, clase y género muestran un mayor número de taxones en muestras de biomedio, con respecto al resto de tipos de muestra. La diversidad alfa muestra una mayor diversidad en muestras de biomedio, con respecto al resto de tipos de muestra. La evaluación de beta diversidad muestra que el componente 1 discrimina entre muestras de biomedio, con respecto a otros tipos de muestras. Se destaca la presencia del género Nitrosomonas en muestras de biomedio, las que poseen un rol relevante como bacterias nitrificantes.

**Conclusión**

La genómica emerge como esencial en la acuicultura chilena. Estudios de la comunidad microbiana mediante la metodología 16S en sistemas RAS para salmón del Atlántico (*S. salar*) revelan perspectivas cruciales para optimizar producción y minimizar impacto ambiental.

Keywords: Microbioma, RAS, Biofiltro

Financing: Centro de Investigaciones Biológicas Aplicadas (CIBA)

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Exploring the pathogenic potential of Antarctic bacterial isolates with virulence-based agars**

### **Explorando el potencial patogénico de aislados bacterianos Antárticos con agares de virulencia**

**Gabriela Carrasco**<sup>1,2</sup>, Hugo Gonzalez<sup>2</sup>, Matías Gálvez Silva<sup>2</sup>, Joaquín Acosta<sup>2</sup>, José Coche-Miranda<sup>2</sup>, Milko Jorquera<sup>3</sup>, Macarena Varas<sup>1,2</sup>, Marco Campos<sup>3</sup>, Jacqueline Acuña<sup>3</sup>, Verónica Cambiazo<sup>4</sup>, Andrés Esteban Marcoleta Caldera<sup>2</sup>, Francisco P. Chavez<sup>1</sup>  
(1) Systems Microbiology Laboratory (SystmicroLab), University of Chile, Department of Biology, Science Faculty, Santiago, Chile  
(2) Integrative Microbiology Group, University of Chile, Department of Biology, Science Faculty, Santiago, Chile  
(3) Laboratory of Applied Microbial Ecology (EMALAB), University of La Frontera., Scientific and Technological Center of Bioresources (BIOREN)  
(4) Laboratory of Bioinformatics and Gene Expression, National Institute of Food Technology, INTA, University of Chile

In the era of global warming, rising temperatures are leading to the melting of Antarctic permafrost, potentially heralding the emergence of an unknown diversity of microorganisms. Moreover, part of the ancient microbiota could be potentially pathogenic or encode putative virulence factors, which, if transferred to pathogens, could promote the emergence of new infectious diseases. This phenomenon could be facilitated by the increasing movement of people to and from Antarctica and the adaptation of the microbiota to the increasing temperatures. In this context, the main goal of this study was to assess the repertoire of potential virulence factors (virulome) produced by bacteria isolated from Antarctic soils. Bacteria isolated from soil samples collected at King George Island and Union Glacier were characterized and classified based on microbiological characteristics and virulence factors production. A total of 334 isolates were obtained from the soil samples, of which 53 were selected for comprehensive virulence factor characterization. Using virulence agar assays adapted to Antarctic bacteria, we identified 16 isolates exhibiting hemolytic activity, 19 lecithinase activity, 9 DNase activity, 17 producing siderophores, and 14 producing pyocyanin. Furthermore, taxonomic identification indicated that most belonged to the *Pseudomonas* genus. Other genera, such as *Flavobacterium*, *Mycetocola*, and *Kocuria*, were also identified. Finally, we sequenced the genome and searched for genes potentially responsible for some of the observed phenotypes of the model isolate *Pseudomonas* spp. RD3, comparing them with the virulome encoded in the pathogen *P. aeruginosa* PAO1. We found genes potentially linked to siderophore production, quorum sensing, and efflux pumps, although no genetic basis could be established for lecithinase activity. Our results suggest the presence of bacteria in the Antarctic soil microbiota that produce potential virulence factors. Further studies are necessary to determine whether some of these bacteria or factors can promote infection or cause damage to a model host and consequently be considered pathogenic.

Keywords: Phenotypic assays, Culturomics, virulence-based agar, environmental pathogens, Antarctic bacteria  
Financing: Anillo de Investigación en Ciencia y Tecnología Temático. ACT210044

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Phylogenetic and functional diversity over space and time in microbial communities from the Comau Fjord (42 °S)**

**Diversidad filogenética y funcional en espacio y tiempo en las comunidades microbianas del Fiordo Comau (42 °S)**

Sergio Guajardo-Leiva<sup>1,2</sup>, Valentín Berríos-Farías<sup>1,2</sup>, **Eduardo Castro-Nallar**<sup>1,2</sup>

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

(2) Universidad de Talca, Centro de Ecología Integrativa, Avenida Lircay s/n, Talca, Chile

Humans have affected the Earth System in indelible ways, in what has been dubbed a new epoch in Earth's geological history, the Anthropocene. This new epoch is characterized by humans' recent, yet profound, influence on the global environment, ranging from biogeochemical cycles to the evolution of life. Human industrial activity is one of the factors contributing to these long-lasting effects on the Earth System, where food animal production, e.g., animal husbandry and aquaculture, plays a vital role.

Here, we reveal the composition, structure, and function of microbial communities of the Comau Fjord (42°S) and discover marked seasonal and spatial changes at the phylogenetic and functional levels (e.g., high levels of Thaumarchaeota, Cyanobacteria, and Actinobacteria phyla in Winter, as opposed to high levels of Verrucomicrobia, Proteobacteria, and Bacteroidetes in Summer). We use phylogenetically-informed functional indices to understand assembly processes, whether stochastic or deterministic and their association with physical-chemical environmental variables.

Keywords: Functional ecology, microbiome, fjords, high-throughput sequencing

Financing: FONDECYT 1200834

Acknowledgments: Huinay Scientific Research Station Dr. Maria Stockenreiter and Dr. Herwig Stibor from Ludwig Maximilian Universitat Munich

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Forged at the extreme: importance of Chilean Altiplano and Atacama Desert rhizobiomes in climate change times**

**Juan Castro-Severyn**<sup>1,2</sup>, Jonathan Fortt<sup>1</sup>, Alessandra Choque<sup>1</sup>, Andrea Avellaneda<sup>1</sup>, Gabriel Donoso<sup>1</sup>, Coral Pardo-Esté<sup>3</sup>, Claudia P Saavedra<sup>4</sup>, João Saraiva<sup>5</sup>, Eduardo Castro-Nallar<sup>6</sup>, Ulisses Nunes da Rocha<sup>5</sup>, Francisco Remonsellez<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Católica del Norte, Laboratorio de Microbiología Aplicada y Extremófilos, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Antofagasta, Chile

(2) Universidad Católica del Norte, Centro de Investigación Tecnológica del Agua en el Desierto - CEITSAZA, Antofagasta, Chile

(3) Universidad Católica del Norte, Laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Antofagasta, Chile

(4) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

(5) Helmholtz Centre for Environmental Research - UFZ, Department of Environmental Microbiology, Leipzig, Germany

(6) Universidad de Talca, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Talca, Chile

The repercussions of climate change, overpopulation and the extractive pressure over the non-renewable natural resources are being evidenced all over the globe. Thus, securing food supplies by improving soil and water usage is proposed as a game changer, where stress-resistant crops are key. While many studies have revealed the great impact of rhizospheric microbes (rhizobiome) over the plant physiology and adaptation (increasing growth efficiency and abiotic stress resistance, there are almost no studies evaluating these interactions in extreme environments. 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 microbes/plants interaction, suggesting functional associations enabling them to thrive under extreme conditions. For this, we took 200 rhizospheric soil samples from SH plants (*Deyeuxia curvula* and *Werneria incisa*) and 30 samples from YHAC plants (*Suaeda foliosa* and *Distichlis spicata*) for 16S rRNA amplicon sequencing and physicochemical/elements analysis. Our results in SH show that the geographical location and plant species vary significantly in diversity and electric conductivity, humidity and some elements (As, Li, B) seem to be influencing communities segregation between the species. 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. In YHAC it is possible to observe the "fertile island effect" as plants under extreme drought conditions can acidify the soil and decrease EC. Also, *Suaeda foliosa* have higher TC, TOC and C/N ratio, which can favor heterotrophic microorganisms; some of which could be cultivated and effectively improve plant growth in controlled conditions. The knowledge about these special microbial communities inhabiting extreme ecosystems holds the potential to improve the growth efficiency and abiotic stress resistance in crops, as well as reinforce conservation policies for these unique and fragile ecosystems.

Keywords: Extremophiles, Rhizobiomes, abiotic stress, native plants, amplicon sequencing

Financing: This research was sponsored by ANID (Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo de Chile) grants: Post-Doctoral FONDECYT 3210156, Regular FONDECYT 1220902 and ANID Estrategia en Sequía FSEQ210029.

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Biological control of *Xanthomonas arboricola* (pv) corylina by Quorum Quenching using native Lactic Acid Bacteria from European hazelnut (*Corylus avellana*)**

**Control biológico de *Xanthomonas arboricola* (pv) corylina mediante Quorum Quenching utilizando Bacterias Ácido Lácticas nativas de avellana europea (*Corylus avellana*)**

**Mariannys Chávez**<sup>1,3</sup>, Eulalia Sans-Serramitjana<sup>2</sup>, Nathalia Dias<sup>2</sup>, Ana Mutis<sup>5</sup>, Josefa Mendoza<sup>3</sup>, Paola Duran<sup>3,4</sup>

(1) PhD in Natural Resources Sciences, Universidad de La Frontera, Temuco 4811230, Chile.

(2) Scientific and Technological Bioresource Nucleus, Universidad de La Frontera, Temuco 4811230, Chile.

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

(4) Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medio Ambiente, Universidad de La Frontera, Temuco 4811230.

(5) Laboratorio de Química Ecológica, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco 4811230, Chile

The hazelnut (*Corylus avellana*) constitutes an important line of exportation for Chilean Agro fruticola Industry. 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 are agrochemical based on copper compounds, which causes negative environmental impact and bacterial resistance. For this, 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 and it is mediated by DSF signal molecule. 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 prove native Lactic Acid Bacteria strains with quencher traits against Quorum Sensing of Xac.

To achieve this objective, we analyzed the antagonist activity against Xac using the QQ mechanism of the LAB strains obtained. For this, the best strains were selected to obtain protein extract (PE) and tested against Xac culture and against DSF solutions. The EP of the selected strains (volumes of 5, 25 and 50 µL) was incubated against DSF (50 µM) overnight 30°C to a final volume (100 µL) and subsequently analyzed by HPLC-DAD.

The inhibitory effects of some EPs against Xac were evident. The strains E6, E11, FD9, FDB and FDE (from the genera *Leuconostoc* and *Lactococcus*) were the strains with the most marked antagonistic effect. These results were consistent with the kinetic assays. The solutions with DSF showed a significant reduction in the final concentration ( $P \leq 0.05$ ) becoming undetectable for the sample with the largest volume of EP (50 µL). This study verified that the action of the extracellular LAB protein interferes with the Xac signaling mechanism. We conclude that i) native LAB have antagonistic activity against Xac, with strains E6, E11, FD9, FDB and FDE having the best extinction potential. ii) The extracellular protein plays an important role in inhibiting Xac quorum sensing.

Keywords: Biological control, Quorum quenching, Lactic Acid Bacteria, *Xanthomonas arboricola*, European hazelnut

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

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Atacama Desert (AD) Natural Lab. Why the different stakeholders of the AD are interested in the territory's microbiology?**

**Cecilia Demergasso**<sup>1,4</sup>, Fernando Álvarez<sup>2,4</sup>, Fabián Araya<sup>4</sup>, Jenny Blamey<sup>3,4</sup>, Ricardo Cabrera<sup>4,5</sup>, Chong Guillermo<sup>4,7</sup>, Gabriel González<sup>4,7</sup>, Nicolás Guilianí<sup>4,5</sup>, José Luque<sup>4</sup>, Sabrina Marín<sup>1,4</sup>, Marcia Montedónico<sup>4,8</sup>, Méndez Marco A.<sup>4,6</sup>, Rodrigo Palma<sup>4,8</sup>, Ximena Retamal<sup>4</sup>, Emilio Ricci<sup>4,9</sup>, Susana Soto<sup>4,10</sup>, Cinthya Tebes-Cayo<sup>1,4</sup>

(1) Universidad Católica del Norte, Centro de Biotecnología, Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo Tecnológico, Avda Angamos 0610, Antofagasta, Chile

(2) Universidad Católica del Norte, Facultad de Economía y Administración, Avda Angamos 0610, Antofagasta, Chile

(3) Fundación Biociencia, Domingo Cañas 3322, Santiago, Chile

(4) Universidad Católica del Norte, Proyecto LANDATA, Antofagasta, Chile

(5) Universidad de Chile, Departamento de Biología, de Ciencias, Santiago, Chile

(6) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, de Biología, Santiago, Chile

(7) Universidad Católica del Norte, de Geología, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Antofagasta, Chile

(8) Universidad de Chile, Energy Center, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Santiago, Chile

(9) Universidad Católica del Norte, de Humanidades, Antofagasta, Chile

(10) Universidad Católica del Norte, Departamento de Matemáticas, Facultad de Ciencias, Antofagasta, Chile

The Atacama Desert (AD) is considered a natural laboratory because it hosts unique environments for research on different disciplines. Indeed, it possesses fundamental exceptional features: exposed geological consequences of subduction tectonics; hyperaridity; life inhabiting extreme conditions; geochemical anomalies of valuable resources (Cu, Li, Au, Ag, B, Mo); v) resilient peoples; a manifested Anthropocene. Coupled with the clearest skies in the world, those features have shaped and still currently shaping several exceptional conditions such as i) water stress and saline domain hazards and risks like earthquakes, ii) volcanism and high levels of arsenic and borate, iii) presence of paleoclimatic and archaeological records, fossils and biosignatures; iv) concentrations of Mars analogues, v) unusual impact on "One Health"; and vi) the occurrence of unique flora, fauna and microbiota. In addition, human activities of exceptional production and impact (transhumant agriculture and livestock, mining exploration and production, tourism, sustainable biotechnological applications, exploitation of non-conventional energy resources, astronomical observation, and research on Mars analogues) also take advantage of those unique features. Our work with the different stakeholders has allowed us to decipher their interest in the territory's microbiology. It points out that mining and energy enterprises, as well as the public sector and the community, are interested in the mining impact of saline/metal deposit exploitation as well as the "green" energy operations on microbial diversity. Mining enterprises are also interested in the microbiology of their bioleaching operations, the biggest in the world. Farmers, ranchers, and the community are interested in microorganisms that play a role in the contamination events of the river crossing the AD. The community is interested in the potential of that unique microbial diversity in the development of biotechnological processes/industries for economic diversification. The scientific community is interested in research on the limits of microbial occurrence and metabolisms and on Mars analogues. Moreover, based on their cosmovision which fundaments their identity, the aboriginal communities consider salt flat ecosystems, with their colours and structures, as the hot spot where life started. We'll present research results highlighting the current knowledge of the microbiota in the ecosystems that take the attention of the stakeholders.

Keywords: Atacama Desert, Transdisciplinary, Desert stakeholders

Financing: ANID project NODOSLN0014 "El Desierto de Atacama: Laboratorio Natural de la adaptabilidad, la resiliencia, y una ventana para mirar el espacio, el origen y el futuro"

Acknowledgments: We thanks ANID project NODOSLN0014 for funding the field work to meet the stakeholders and the conceptual work to describe the exceptional features of the AD.



Tipo de presentación: Comunicación oral

**Effects of soil conditions on microbial communities associated with native plants in the hyper-arid core of the Atacama Desert**

**Efectos de las condiciones del suelo en comunidades microbianas asociadas a plantas nativas en el núcleo hiperárido del Desierto de Atacama**

**Jonathan Fortt**<sup>1,2</sup>, Juan Castro-Severyn<sup>1</sup>, Alessandra Choque<sup>1,2</sup>, Alexandra Stoll<sup>3</sup>, Davey Jones<sup>4</sup>, Claudia Saavedra<sup>5</sup>, Francisco Remonsellez Fuentes<sup>1</sup>

(1) Universidad Católica del Norte, Ingeniería Química y Medio Ambiente, Antofagasta, Chile

(2) Universidad Católica del Norte, Programa de Doctorado en Ciencias mención Geología, Antofagasta, Chile

(3) Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas, La Serena, Chile

(4) Bangor University, School of Natural Sciences, Bangor, UK

(5) Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

The hyper arid core of the Atacama Desert in northern Chile has been described as the driest region in the world. Despite the extreme environmental conditions this area is colonized by a large microbial diversity and few species of major organisms such as plants. Furthermore, the effects of environmental stress over the microorganisms have pressured them to develop tolerance mechanisms. Native plants that grow at low precipitation and high salt concentration environments, can benefit by establishing symbiotic relationships with bacterial properties or products to tolerate abiotic stress. Therefore, we proposed that soil conditions such as lack of water, conductivity, pH and nutrient available modulated the diversity of these rhizospheric microbial communities of native plants in Yungay Oasis, contributing to aid plants tolerate abiotic stress conditions. Additionally, we described and compared the taxonomic composition of rhizospheric microbial communities with physicochemical parameters of two native plants rhizosphere from the Yungay Oasis, *Suaeda foliosa* and *Distichlis spicata*. Indeed, parameters such as pH and electrical conductivity (EC) were significant differences between both rhizospheric soil of Yungay native plants. We analyzed the both plant rhizosphere microbiomes through Illumina high-throughput sequencing of 16s rRNA gene fragments. In the rhizosphere of *S. foliosa* and *D. spicata* the microbiota differs in composition and structure. Finally, our study contributes new insights into the microbial ecology of the hyper-arid core of the Atacama Desert, particularly to understand the bacterial mechanisms to resist extreme environmental conditions in a region affected by climate change scenario which expected to negatively impact the physiology of desert microbial communities.

Keywords: Atacama Desert, Microbial communities, Rhizosphere, Physicochemical parameters

Financing: Proyecto Fondecyt Regular 1220902 Proyecto ANID Sequía FSEQ210029

Acknowledgments: Beca Doctoral 21230757 Bangor University, UK

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Metataxonomy at the service of environmental analysis in aquaculture**

### **Metataxonomía al servicio del análisis ambiental en acuicultura**

**Derie Fuentes**<sup>1</sup>, Angela Millar<sup>1</sup>, Carlos Carroza<sup>2</sup>, Barbara Ojeda<sup>1</sup>, Juan Ugalde<sup>3</sup>, Italo Lazcano<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Centro de Biotecnología de Sistemas, Facultad de Ciencias de la Vida, Fernandez Concha 700, Las Condes, Santiago, Chile

(2) University of Miami, Abess Center for Ecosystem Science and Policy, Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Science, 4600 Rickenbacker Causeway Miami, Florida, United States

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

Chile es uno de los países que presenta más riesgos asociados al cambio climático, cumpliendo con 7 de los 9 criterios de vulnerabilidad descritos por la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC, 1992) y siendo uno de los países más afectados a nivel económico por desastres naturales y pérdida de biodiversidad (PANCC, 2017).

En este contexto, una de las principales actividades económicas del país en riesgo es la producción salmonicultura que genera alrededor del 30% de los empleos en la macrozona sur ([www.sernapesca.cl](http://www.sernapesca.cl)), con volúmenes de cultivo de 300 mil toneladas para el primer trimestre 2023 ([www.sernapesca.cl](http://www.sernapesca.cl)). La actividad presenta brechas importantes en la evaluación y/o monitoreo periódico de la vulnerabilidad del sistema y su capacidad de adaptación al cambio climático, siendo urgente avanzar hacia la articulación de planes de mitigación y adaptación sectoriales frente al riesgo.

Frente a estos desafíos existen alternativas científico-tecnológicas que permiten abordar parte de las brechas mencionadas, a través de la recolección de datos oceanográficos, físico-químicos y genómicos, los que luego pueden ser analizados en la búsqueda de relaciones codependientes entre las condiciones ambientales de cada sector estudiado y la respuesta adaptativa de la biodiversidad asociada a ese sector.

Actualmente, la evaluación de impacto ambiental -y por tanto la entrega de permisos de operación- considera la medición de parámetros físico-químicos que reflejan alteraciones de nutrientes u oxígeno disuelto en la columna de agua, sin considerar los cambios en la biodiversidad circundante. En este sentido, las comunidades microbiológicas bentónicas son fuertemente influenciadas por las propiedades biogeográficas, antropogénicas y ecológicas, además de ser altamente sensibles a los cambios en el sistema, **siendo excelentes indicadores de la alteración medioambiental. En esta ponencia se presentan los resultados de caracterización y monitoreo de estas comunidades en el contexto del Programa Tecnológico para la Acuicultura Oceánica que relaciona aspectos fisicoquímicos y de biodiversidad microbiológica en sectores expuestos a corrientes de alta energía.**

Keywords: Metataxonomía, Acuicultura, Impacto ambiental

Financing: Programa Tecnológico para el Desarrollo de la Acuicultura Oceánica en Chile 2023 CORFO 17 PTECAO-84019

Acknowledgments: Facultad de Ciencias de la Vida Universidad Andrés Bello Centro de Biotecnología de Sistemas UNAB Center For Systems Biotechnology - Fraunhofer Chile Research

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Viral ecogenomics in the rhizosphere of native Antarctic vascular plants**

#### **Ecogenómica viral en la rizosfera de plantas vasculares nativas antárticas**

**Sergio Guajardo-Leiva**<sup>1,2</sup>, Valentín Berríos-Farías<sup>1,2</sup>, Eduardo Castro-Nallar<sup>1,2</sup>

(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 play a crucial role in shaping microbial communities across various Earth environments, with most of our knowledge coming from oceanic and model ecosystems. However, the ecological functions of viruses in soil and plant rhizospheres have remained mostly unexplored. In this study, we aimed to assess whether bulk soil and plant rhizosphere environments influence viral community taxonomic structure and functional traits and to determine whether these viruses encode functions related to plant fitness and carbon cycling.

To achieve these objectives, we conducted viral and cellular metagenomic analysis in the rhizosphere of *Deschampsia antarctica* and *Colobanthus quitensis*, as well as in bulk soil, across two locations in the Byers Peninsula, Livingston Island, Antarctica. This effort yielded 32,425 viral Operational Taxonomic Units, representing viral genera lacking isolated representatives and even absent from environmental virus databases like IMG/VR. Furthermore, we annotated viral auxiliary metabolic genes (AMGs) using DRAMv, revealing the presence of numerous Carbohydrate-Active enZYmes sequences, primarily glycoside hydrolases and polysaccharide lyases responsible for cellulose, hemicellulose, and pectin degradation.

Our findings indicate that plant species, compartments (rhizosphere and bulk soil), and edaphic soil properties significantly influence viral community diversity, richness, and species turnover. These results underscore the remarkable diversity and novelty within viral communities in the rhizosphere and Antarctic vascular plants' surrounding bulk soil. Additionally, the presence of AMGs involved in the breakdown of plant cell walls within viruses that infect bacteria, which modulate carbohydrate turnover in soils, emphasizes viruses' pivotal role in the carbon cycle within the rhizosphere and bulk soils.

Keywords: Viral ecology, Soil viruses, Carbon cycle, Ecogenomics

Financing: ANID-FONDECYT Postdoctoral 3210547 CONICYT PIA- Anillo de investigación en Ciencia Antártica ACT192057

Acknowledgments: We would like to thank to Instituto Antártico Chileno (INACH) and the Chilean Navy for logistics and field support.

Tipo de presentación: Comunicación oral

**From the glacier to the Pacific Ocean: Aquatic microbial communities in the Aconcagua watershed, Valparaiso region**

**Celine Lavergne**<sup>1,2</sup>, Polette Aguilar<sup>1</sup>, Maria Soledad Pavlov<sup>1</sup>, Yoanna Eissler<sup>3</sup>, Verónica Molina<sup>1,2,4</sup>, Macarena Pérez<sup>1,5</sup>, Gabriel Rambaldi<sup>6</sup>, Aurélie Dufour<sup>7</sup>, Ivan Sola<sup>1,8</sup>, Nataly Flores<sup>1</sup>, Philippe Cuny<sup>7</sup>, Lars-Eric Heimbürger-Boavida<sup>7</sup>

(1) HUB AMBIENTAL UPLA, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile

(2) Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile

(3) Instituto de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile

(4) Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Universidad de Concepción, Chile

(5) Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile

(6) Universidad Andrés Bello, Viña del Mar, Chile

(7) Mediterranean Institute of Oceanography (MIO, UM 110), Aix-Marseille University-Univ Toulon-CNRS-IRD, Marseille, France

(8) Department of Marine Sciences and Applied Biology, University of Alicante, San Vicente del Raspeig, Alicante, Spain

Aquatic microbial communities including bacteria, archaea, viruses, and micro-eukaryotes are key compartment in natural ecosystems. The study of their distribution and diversity can provide information on ecosystem functioning/dysfunction that are useful for biodiversity conservation. In a watershed such as the Aconcagua basin (Central Chile), the different uses and origin of the water, the anthropic activities, among others can alter the natural state of the river and modify both the distribution and the diversity of the aquatic microbial communities. That is why we propose an approach combining spatiotemporal, physicochemical, and molecular tools to disclose the microbial community structure and their potential key role from the glacier to the sea. Sampling has been planned along the Aconcagua watershed (Central Andes, Chile) during the glacier-melting period (March 2022) from 15 sites. A suite of physicochemical parameters has been measured in water including total mercury (tHg) and nutrient concentrations. Active and present aquatic microbial structure has been evaluated by metabarcoding of the 16S rRNA gene and virus/prokaryotic abundance has been measured by fluorescence microscopy. From the glacial lagoon influenced by inorganic input to the coastal zone receiving organic matter and anthropogenic contamination, a decreasing gradient of the virus-prokaryotes ratio (VPR) was observed. Upstream, the river was characterized by highest tHg concentrations, low organic matter and low prokaryotic abundance. Downstream, higher biomass was measured, associated with high sulfate concentration (i.e., 13 mM) and the dominance of cyanobacteria and sulfate reducing Deltaproteobacteria. This study constitutes the first description of aquatic microbial communities in the whole Chilean Aconcagua watershed. It points out the needs to explore microbial community diversity in natural ecosystems to better understand the effect of an alteration (e.g., global change or contamination).

Keywords: bacteria, archaea, aquatic system, freshwater, mercury

Financing: ANID FONDECYT 11201072, PCI ECOS-ANID 210007 (ECOS-Sud C21B01), InES I+D INID210013, FIC-R BIP: 40046077, Plan de Fortalecimiento de Universidades del Estado (CUECH) – RED21992

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Nitrogen transformations mediated by thermophiles: case study of Lirima a high-altitude hydrothermal system in the Chilean Altiplano**

**Coral Pardo Esté<sup>1</sup>**, Lenka Kurte<sup>1</sup>, Jacqueline Aldridge<sup>2</sup>, Diego Alvarez-Saravia<sup>3</sup>, Pablo Paquis<sup>1</sup>, Vilma Perez<sup>4</sup>, July Florez<sup>1</sup>, Juan Castro-Severyn<sup>5</sup>, David Medina<sup>2</sup>, Veronica Molina<sup>6,7</sup>, Martha Hengst<sup>1</sup>

(1) Universidad Católica del Norte, Laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Antofagasta, Chile

(2) Universidad de Magallanes, Departamento de Ingeniería en Computación, Punta Arenas, Chile

(3) Universidad de Magallanes, Escuela de Medicina, Punta Arenas, Chile

(4) University of Adelaide, Australian Centre for Ancient DNA, School of Biological Sciences, Adelaide, Australia

(5) Universidad Católica del Norte, Laboratorio de Microbiología Aplicada y Extremófilos, Departamento de Ingeniería Química, Antofagasta, Chile

(6) Universidad de Playa Ancha, Departamento de Ciencias y Geografía, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas y HUB Ambiental UPLA, Valparaíso, Chile

(7) Universidad de Concepcion, Centro COPAS Coastal, Concepción, Chile

Nitrogen is critical nutrient for all life forms, is a limiting resource that is necessary to construct DNA, protein, and other essential molecules. It is also important to manage in the agricultural industry where current practices have pushed the nitrogen cycle beyond sustainability. Most of the nitrogen in our atmosphere is tightly bound in pairs as  $N_2$ ; however, some microorganisms are capable of fixing and transforming it to various forms in assimilatory or dissimilatory pathways. Studying the dynamics of the Nitrogen cycle in extreme environments could aid in the understanding of the basal requirements. Lirima hydrothermal system comprises various pond with temperatures ranging from 42-60 °C under poly-extreme conditions, where microbial life is the main driver of biochemical cycles, as other life forms are scarce. Therefore, we aimed to investigate the metabolic potential harbored in the microbial communities that inhabit microbial mats and sediments in this ecosystem. We found that the communities have low diversity and always dominated by bacteria from the *Chloroflexus* and *Roseiflexus* genera. In terms of nitrogen recycling the pathways associated to fixation and loss of nitrogen are incomplete suggesting an efficient modular recycling. Also, these microorganisms harbor a great diversity of novel bioactive compounds with antimicrobial, antifungal, antioxidant, among many other functions, including lanthipeptides. Thus, this ancient and relative pristine environment must be preserved as a natural laboratory to elucidate cryptic metabolic pathways in nitrogen cycle.

Keywords: Nitrogen, Thermophiles, High-altitude lakes, metagenomics

Financing: ANID 2023 FONDECYT post-doctoral 3230189 FONDECYT REGULAR 1211515FONDECYT REGULAR 1201692FONDECYT REGULAR 1171324ANID doctoral scholarship 21221380

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Functional characterization of a (*sinsI/sinsR*) Quorum Sensing regulatory system in *Stappia indica* isolated from reef-building corals of the Colombian Caribbean**

**Caracterización funcional de un sistema regulador de Quorum Sensing (*sinsI/sinsR*) en *Stappia indica* aislada de corales formadores de arrecifes del Caribe colombiano**

**Laura Ripe-Jaime**<sup>1</sup>, Luis Fernando Cadavid<sup>2</sup>, Catalina Arévalo-Ferro<sup>1</sup>

(1) Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Carrera 30 # 45-03, Bogotá, Colombia

(2) Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Genética, Facultad de Ciencias, Carrera 30 # 45-03, Bogotá, Colombia

Multicellular organisms maintain close relationships with a great diversity of bacterial communities. These relationships generate mutual benefits contributing to adaptation in changing environments. Conformation and integration of bacterial communities into the tissues of host organisms is largely based on bacterial communication mechanisms, such as Quorum Sensing (QS). In QS, bacteria use signalling molecules that induce the expression of a wide variety of target genes in response to fluctuations in population density. Phenotypes controlled by these genes include bioluminescence, pigment production, motility, nitrogen fixation, among others. The bacterium *Stappia indica* was isolated from the bacterial communities of two species of reef-building corals from the Colombian Caribbean, healthy and affected by the Black Band Disease; *S. indica* was the only species present in the two coral species and in both healthy and diseased status; showed the use of several sources of carbon and energy, and the use of different nitrogenated compounds which could mean that the bacteria affiliated with this species have a high capacity to adapt to drastic changes in the conditions of the environment they are colonizing. The metabolic versatility of this bacterium is also represented in the diachronic production of AHLs, a set of QS signalling molecules, when compared healthy/diseased coral's isolated bacterial communities. Our genome sequencing and bioinformatic analysis resulted in the identification of candidate genes *sinsI* and *sinsR* to encode LuxI and LuxR-like proteins, respectively, and the functional characterization of these genes involved in the QS circuits in *S. indica*. The expression of candidate genes for these circuits was evaluated by heterologous expression. This work leads us to propose a functional QS circuit in *S. indica* in order to identify the target genes controlled by QS and predict the possible social roles of this bacteria in the communities, that give *S. indica* its high plasticity and adaptability.

Keywords: Comunidades Bacterianas, Quorum Sensing, *Stappia indica*, Acil-Homoserín-Lactonas, luxI/luxR

Financing: CONVOCATORIA PARA EL APOYO A PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN Y CREACIÓN ARTÍSTICA DE LA SEDE BOGOTÁ DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA - 2019. Proyecto 48529. Beca auxiliar docente. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia

Acknowledgments: Al Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. A los profesores Catalina Arévalo y Luis Fernando Cadavid

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Can the urinary microbiome help us better understand and treat urinary tract infections?**

#### **Puede el microbioma urinario ayudarnos a comprender y tratar mejor las infecciones del tracto urinario?**

**PAOLA SCAVONE<sup>1</sup>**, Nicolás M. Navarro<sup>1</sup>, Rafael Sauto<sup>1</sup>, Cecilia Morales<sup>2</sup>, María José González<sup>1</sup>, Erlen Cruz<sup>1</sup>, Luciana Robino<sup>2</sup>  
(1) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Laboratorio de Biofilms Microbianos, Departamento de Microbiología, Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay  
(2) Instituto de Higiene, Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, UdelaR, Av. Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay

Históricamente se creía que la orina era estéril, pero estudios recientes han demostrado que existe una microbiota asociada al tracto urinario (urobioma).

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son muy comunes, afectando a cerca del 50% de las mujeres y al 12% de los hombres en todo el mundo. El tratamiento tradicional de las ITU es la antibiòticoterapia, pero esto genera disbiosis. Se ha reportado la presencia de los géneros *Lactobacillus* y *Streptococcus* en la composición de la microbiota urinaria, los que serían importantes en el mantenimiento de la homeostasis y la salud del tracto urinario. Sin embargo, aún no se conoce con precisión la composición del urobioma. Los agentes etiológicos más frecuentes de ITU son *Escherichia coli* (80%), *Klebsiella pneumoniae* (6%), *Staphylococcus saprophyticus* (6%), *Proteus mirabilis* (4%), entre otros. Algunos de estos microorganismos pueden ser intracelulares y evadir la respuesta del sistema inmune, lo que contribuye a la recurrencia de las infecciones del tracto urinario.

Análisis del microbioma urinario mediante secuenciación del ARNr 16 S (Oxford-Nanopore) en 141 individuos, 69 con síntomas y 72 asintomáticos, mujeres y varones mostraron que la abundancia relativa del microbioma difiere considerablemente. En asintomáticos, *Lactobacillus* predomina mientras que en sintomáticos se observan diversos uropatógenos. En cuanto a la presencia de bacterias intracelulares recuperadas de las células uroepiteliares, identificadas por MALDI-TOF y visualizadas por microscopía confocal, se observó su presencia tanto en sintomáticos (43) como asintomáticos (29) siendo significativa en sintomáticos (N=43, p=0.03). Los microorganismos encontrados como intracelulares fueron *E. coli* (32%), *S. malthophilia* (14%), *E. faecalis* (10%), *S. haemolyticus* (10%), *P. mirabilis* (8%) y *E. cloacae* (4%). Si agrupamos la microbiota de acuerdo a la existencia de bacterias intracelulares y síntomas observamos diferencias, siendo más abundante los uropatógenos cuando hay síntomas y bacterias intracelulares, mientras que en los otros dos grupos predominan los *Lactobacillus*.

Estos resultados plantean nuevas interrogantes dado que se evidenció la presencia de bacterias intracelulares en personas sanas. ¿Es esto un indicativo de potenciales futuras patologías asociadas al TU? Las personas sanas, como controlan las potenciales bacterias uropatógenas intracelulares? ¿Es la microbiota nativa un mecanismo de control de las mismas?

Keywords: Urobioma, infecciones del tracto urinario, comunidades bacterianas intracelulares  
Financing: Proyecto FCE\_2019\_1\_155481

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Virus-host relationship in mesothermophilic and circumneutral pH hot springs on a global scale**

#### **Relación virus-hospedero en fuentes termales mesotermofílicas y de pH circumneutral a escala global**

**Oscar Alexis Salgado Salgado**<sup>1,2</sup>, Felipe Loyola<sup>1</sup>, Beatriz Díez<sup>1,3,4</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Alameda 340, Santiago, Chile

(2) Universidad Adventista de Chile, Núcleo de Ciencias Naturales y Exáctas, Camino a Tanilvoro sn K13, Chillán, Chile

(3) Center for Climate and Resilience Research (CR)2, Santiago, Chile

(4) Millennium Institute Center for Genome Regulation (CGR), Santiago, Chile

Las comunidades microbianas de termas han sido ampliamente exploradas en cuanto a su diversidad ecológica, sin embargo, las relaciones que se dan entre virus y sus hospederos (bacterias y arqueas) en estos ambientes han sido poco estudiadas, de hecho no existen estudios globales en rango mesotermofílico (45-80°C) y pH circumneutral (6-8). En este estudio se realizó una descripción de la relación virus-hospedero en 37 metagenomas de fuentes termales de todo el mundo (14 fuentes termales distribuidas en 7 países), enfatizando diferencias entre habitats (i.e. sedimento, tapete microbiano o agua) debido a que existen datos sobre diferencias de las comunidades virales. Los análisis de diversidad se realizaron con PhyloSeq usando 1760 secuencias 16S rDNA (OTUs) y 2954 contigs virales (vOTUs), mientras que para obtener la relación virus-hospedero se analizaron estos vOTUs y 1697 genomas ensamblados desde metagenomas (MAGs) utilizando iPhoP. La diversidad beta muestra que las comunidades de hospederos y virus tienden a agruparse según el hábitat y terma de origen. Los índices de diversidad alfa revelan valores similares para los hospederos independientemente del hábitat del que provienen (sedimento, tapete o agua), sugiriendo similar presión de selección ejercida por T° y pH a nivel global. Sin embargo, para los virus, se observa una mayor diversidad alfa en las comunidades de sedimento y tapete versus las de agua (p-value <0.005). Por otro lado, el análisis de abundancia diferencial y redes, revela que existen OTUs de hospederos que son significativamente abundantes en los distintos habitats de termas (ej. *Thermoproteota* en sedimento, *Chloroflexota* en tapete y *Proteobacteria* en agua). Estos microorganismos más relevantes son parte de una relación virus-hospedero específica de cada habitat (sedimento, tapete o agua), con la mayoría de los vOTUs infectando a un único hospedero propio de su terma. Este resultado estaría en línea con el modelo *piggyback-the-winner* que predice exclusión de superinfección. Este estudio muestra una relación virus-hospedero altamente específica para cada fuente termal, donde también existen algunos pocos virus con la capacidad de infectar hospederos similares en otras termas, *sugiriendo* una potencial coevolución virus-hospedero que promueve la ecoevolución en estos ambientes.

Keywords: Hot spring, virus, host

Financing: ANID-Fondecyt n°1230217; ANID- Instituto Milenio (ICN2021\_044)



Tipo de presentación: Comunicación Oral

**Influence of the Antarctic Polar Front and the Southern Boundary of the Antarctic Circumpolar Current Front on the diversity of Southern Ocean microbial communities: from the Drake Passage to the Weddell Sea.**

**Influencia del Frente Polar Antártico y el Frente límite sur de la Corriente Circumpolar Antártica en la diversidad de las comunidades microbianas del Océano Austral: del paso de Drake al Mar de Weddell.**

**Nayla Serey Suil**<sup>1,2</sup>, Léa Cabro<sup>2,3</sup>, Julieta Orlando<sup>1,2</sup>

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

(2) Instituto Milenio Biodiversidad de Ecosistemas Antárticos y Subantárticos (BASE), Chile

(3) Aix Marseille University, CNRS, IRD, Mediterranean Institute of Oceanography (MIO), Marseille, France

En el Océano Austral (OA), las comunidades procariotas desempeñan un papel fundamental en la captura de nutrientes, de carbono inorgánico y el reciclaje de compuestos orgánicos. Este océano alberga una corriente conocida como la Corriente Circumpolar Antártica (CCA), compuesta por frentes oceánicos que generan cambios pronunciados en las características fisicoquímicas del agua y, además, se han descrito como barreras biológicas. El OA presenta un fuerte gradiente ambiental a medida que cruzamos los frentes oceánicos en dirección sur, como la disminución de temperatura y el aumento de salinidad. Ese gradiente ambiental puede impactar la composición de las comunidades microbianas marinas. En este estudio se evaluó el efecto de dos frentes oceánicos sobre las comunidades procariotas, el Frente Polar Antártico (FPA), y el Frente Sur de la CCA que delimita aguas con temperaturas permanentemente negativas. Durante el trayecto Ushuaia - Mar de Weddell a bordo del rompehielos Commandant Charcot (12/2022), pasando por el paso de Drake, se recolectó agua superficial (10 m) en triplicado en 22 estaciones y se filtraron 4 L por muestra en filtros de 0.22 µm, obteniendo un total de 66 muestras. Los parámetros fisicoquímicos claves (e.g. temperatura, salinidad, conductividad, oxígeno, CO<sub>2</sub> y pH) se midieron en continuo mediante sondas. Se extrajo el ADN de los filtros, y se amplificó la región V4-V5 del 16S para su secuenciación masiva mediante la plataforma Illumina Miseq. Las secuencias fueron procesadas mediante el algoritmo DADA2. El análisis multivariado evidenció un patrón claro de agrupamiento según tres zonas (Norte-PFA/Sur-FPA/Aguas sub-cero), la variable "zona" explica un 48% de la separación entre las comunidades. La zona de Norte-FPA tiene la mayor diversidad alfa, mientras que las aguas permanentemente sub-cero exhiben las comunidades más distintas en términos de diversidad beta. Se observaron cambios de composición taxonómica entre las zonas, destacando el aumento de *Pelagibacteraceae* (Alphaproteobacteria) al Norte-FPA y el aumento de *Flavobacteriaceae* (Bacteroidota) al Sur-FPA. Los resultados indican que las comunidades estarían siendo influenciadas por los parámetros fisicoquímicos característicos de las zonas marítimas que son delimitadas por los frentes oceánicos estudiados, contribuyendo a la estructuración de las comunidades procariotas.

Keywords: Microbiota, Procariotas, Océano Austral, Frente Polar Antártico

Financing: Financiado por ICN2021\_002 y FONDECYT 1211672

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Effects of dilution rate and type of substrate on fermentation and composition of the bacterial and archaeal communities in mixed serial rumen cultures**

**Efectos de la tasa de dilución y el tipo de sustrato sobre la fermentación y composición de las comunidades de bacterias y arqueas en cultivos ruminales mixtos seriados**

**Emilio Ungerfeld**<sup>1</sup>, Nathaly Cancino-Padilla<sup>1</sup>, Nelson Vera-Aguilera<sup>1</sup>, Crisitián Cerda<sup>2</sup>, Marcelo Saldivia<sup>3</sup>, Lorena Lagos-Pailla<sup>4</sup>, Milena Vera<sup>5</sup>, Camila Muñoz<sup>6</sup>, Natalie Urrutia<sup>6</sup>, Emilio Martínez<sup>3</sup>

(1) Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA, Centro Regional de Investigación Carillanca, Camino Cajón a Vilcún km 10, Columna de Vilcún, Chile

(2) Universidad Católica de Temuco, Departamento de Procesos Industriales, Facultad de Ingeniería, Rudecindo Ortega 2950, Temuco, Chile

(3) Universidad Austral de Chile, Instituto de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Campus Isla Teja s/n, Valdivia, Chile

(4) Universidad Austral de Chile, Instituto de Ingeniería Agraria y Suelos, Facultad de Ciencias Agrarias y Alimentarias, Campus Isla Teja s/n, Valdivia, Chile

(5) Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Microbiologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Avenida PH Rolfs, s/n, Viçosa, Brasil

(6) Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Remehue, Ruta 5 km 8 Osorno, Osorno, Chile

En el rumen, los concentrados producen menos metano y acetato y más propionato que los forrajes, lo cual ha sido atribuido a la mayor tasa de dilución de los concentrados. Hipotetizamos que un sustrato de forraje resultaría en un perfil de fermentación y composición de la comunidad bacteriana y de arqueas similares a otro de concentrado si se igualaran las tasas de dilución. Llevamos a cabo dos incubaciones de inoculaciones seriadas de cultivos ruminales de ocho generaciones con forraje o concentrado, a tasas de dilución de 0.14, 0.28, o 0.56 h<sup>-1</sup>, obtenidas transfiriendo 4, 2, o 1 mL de inóculo de la generación precedente a medio fresco. En general, el tipo de sustrato tuvo mayores efectos que la tasa de dilución. La producción de metano con forraje aumentó o se mantuvo alta a lo largo de las incubaciones, en tanto que con concentrado disminuyó o se mantuvo baja. La acumulación de dihidrógeno con forraje fue inicialmente baja y disminuyó aún más a lo largo de las incubaciones, mientras que con concentrado se mantuvo alta. El porcentaje molar de acetato fue mayor con forraje. Con concentrado, el porcentaje molar de propionato disminuyó debido a un aumento en el porcentaje molar de butirato. El número de amplicones bacterianos únicos, y los índices de diversidad bacteriana Shannon y Faith, fueron todos mayores con forraje, sin mayores efectos de la tasa de dilución o la interacción entre tipo de sustrato y tasa de dilución. En general, los filo Firmicutes, Bacteroidota, Actinobacteriota, Desulfobacterota, y Verrucomicrobiota, fueron más abundantes con forraje, en tanto que Proteobacteria, Synergistota, y Spirochaetota fueron más abundantes con concentrado. En concordancia con el efecto del sustrato sobre la producción de metano, las copias de gen 16S rRNA de arquea fueron entre tres y cuatro órdenes de magnitud menores con concentrado. El género *Methanobrevibacter* y el orden Methanomassiliicoccales predominaron dentro de Archaea, y su abundancia relativa varió entre incubaciones, generaciones, y sustratos. Los resultados indican que las diferencias entre forrajes y concentrados en perfil de fermentación y composición de las comunidades microbianas en el rumen no se deberían a tasas de dilución diferentes.

Keywords: rumen, metano, hidrógeno, comunidad bacteriana, comunidad arqueas

Financing: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo, Proyecto Fondecyt 1190574

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Effect of single nucleotide polymorphisms (SNPs) on genes associated with virulence factors of field isolates of *Piscirickettsia salmonis***

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

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

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Valdivia, Chile

(2) Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias de la Vida, Ciencias, Viña del Mar, Chile

(3) Centro FONDAP-INCAR, O'Higgins 1695, Concepción, Chile

(4) Universidad Santo Tomás, Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile

La Piscirickettsiosis es ocasionada por la bacteria *Piscirickettsia salmonis*. Esta, es la principal causa de muerte del salmón cultivado en Chile, por esto, es necesario estudiar los mecanismos que aumentan la supervivencia de la bacteria como lo son los polimorfismos de nucleótido simple. Lo anterior, permite plantearnos el objetivo de establecer el efecto de SNPs en genes asociados a factores de virulencia de *P. salmonis*, mediante la búsqueda, comparación y análisis de genes en los genomas disponibles en NCBI de 11 aislados de campo de *P. salmonis* y la cepa tipo LF-89<sup>T</sup>. Para ello, se estableció el número de SNPs con el software DNAdynamo (BlueTractorSoftware) y se realizó un análisis *in silico* (usando Expasy, ClustalW, Jalview, Alphafold, Chiron, Conserveddomain, PyMOL y MEGA11) de los cambios en las secuencias de los genes de las proteínas Bfr, PvsA, PvsB, PvsC, Hsp60, ClpB, AcrA, AcrB, HlyD, Lpxc, MsbA, Peptidasa-M4, Pat y Lap, todas involucradas en los distintos procesos de infección de *P. salmonis*. Estos resultados fueron complementados con la determinación de la viabilidad celular en condiciones *in vitro* usando el ensayo de determinación de LDH en la cual se evidenció que la cepa Psa1-001 (EM-like) presentó el porcentaje más alto de lisis a los 8dpi (81.01%), comparado con las demás bacterias (LF-89 57.89%, Psa1-006 14.74%, Psa1-005 43.95%). Respecto a la evaluación de niveles de transcrito de los genes *pvsB*, *peptidasa-M4* y *clpB*, es posible decir que, hay un aumento de nivel de transcrito en los genes seleccionados en uno de los aislados EM-like por encima de las demás bacterias estudiadas. Los resultados, demuestran la existencia de SNPs sinónimos y no sinónimos (nsSNPs) y el efecto que tienen nsSNPs en el cambio de aminoácidos y conformacionales en las estructuras 3D de las secuencias de las proteínas analizadas; así mismo, se identificó una tendencia de la presencia de mayor cantidad de SNPs y una disminución de viabilidad celular acompañada de un aumento de nivel de transcrito de los genes seleccionados en los aislados EM-like. Estas modificaciones podrían explicar algunas ventajas en la virulencia de los aislados de *P. salmonis* en las condiciones de infección estudiadas.

Keywords: Piscirickettsiosis, *Piscirickettsia salmonis*, Factores de virulencia, Polimorfismos de nucleótido simple

Financing: Financiamiento: FONDAP-ANID 1522A0004

Acknowledgments: Al INCAR por brindarme apoyo para la ejecución del trabajo. Al profesor Jaime Figueroa y Ruben Avendaño por brindarme su conocimiento, paciencia y apoyo constante. A la UACH, por brindarme el espacio y las herramientas para mi crecimiento profesional.

Tipo de presentación: Comunicación Oral

**Effect of the elimination of the mycotoxins roquefortin C and mycophenolic acid on growth and sporulation in the fungus *Penicillium roqueforti***

**Efecto de la eliminación de las micotoxinas roquefortina C y ácido micofenólico en el crecimiento y esporulación del hongo *Penicillium roqueforti***

**Delimary Rodríguez-Estévez<sup>1</sup>**, Carlos Gil-Durán<sup>1</sup>, Inmaculada Vaca<sup>2</sup>, Renato Chávez<sup>1</sup>

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

(2) Universidad de Chile, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile

Los hongos filamentosos son excelentes productores de metabolitos secundarios. Estas son moléculas heterogéneas, no requeridas para la viabilidad del hongo, pero que le brindan ventajas competitivas en la naturaleza. Muchos de estos metabolitos son micotoxinas que afectan a humanos y animales. En nuestro laboratorio usamos como modelo el hongo *Penicillium roqueforti*, el cual produce varias micotoxinas, entre ellas roquefortina C (ROQ C) y ácido micofenólico (MPA). En general, la eliminación de una micotoxina no debería interferir con el crecimiento y desarrollo de un hongo, aunque hay casos donde se ha observado este fenómeno. En *P. roqueforti*, no existen antecedentes en la literatura sobre este punto, por lo que el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la eliminación de micotoxinas en el crecimiento y esporulación de *P. roqueforti*. Para ello se inactivaron las vías de producción de ROQ C y MPA mediante CRISPR/Cas9, y se obtuvieron varios transformantes incapaces de producir estas micotoxinas. Para analizar si los mutantes presentaron algún cambio en el fenotipo se determinó la tasa de extensión apical y la capacidad de esporulación en medios de cultivo convencionales. Nuestros resultados indican que, en medios de laboratorio, la eliminación de ambas micotoxinas incrementa el crecimiento y la capacidad de esporulación en *P. roqueforti*, sugiriendo que la producción de micotoxinas afecta los procesos de desarrollo del propio hongo productor.

Keywords: *Penicillium roqueforti*, micotoxinas, CRISPR/Cas9, crecimiento, esporulación

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

Tipo de presentación: Comunicación oral

### Genetic characterization of *Tenacibaculum maritimum* strains isolated from salmonids in Chile

#### Caracterización genética de cepas de *Tenacibaculum maritimum* aisladas de salmónidos en Chile

Sara Valdés Huerta<sup>1,2</sup>, José Miguel Saavedra Noriega<sup>1</sup>, Eugenia Jerez Carrasco<sup>1</sup>, Pedro Ilardi Lazcano<sup>1</sup>, Harold Oliva Mayegas<sup>1</sup>, Roberto Toledo Alonso<sup>2</sup>

(1) Farmacología en Acuicultura Veterinaria FAVS.A., Investigación y Desarrollo, Avenida Pedro de Valdivia 295, Providencia, Santiago, Chile  
(2) Universidad de Concepción, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Barrio Universitario s/n, Concepción, Chile

Las bacterias del género *Tenacibaculum* son patógenos asociados con la tenacibaculosis en peces de importancia económica. En Chile, esta enfermedad emergente, es considerada la segunda causa de mortalidad (infecciosa) en el salmón del Atlántico (34%), generando un importante problema sanitario. Generalmente, esta enfermedad ocurre después de la transferencia de *smolts* a jaulas marinas, en concomitancia con otras enfermedades durante la etapa de engorda o al final del ciclo (acopio). En estas situaciones aparecen los signos típicos de tenacibaculosis, caracterizados por lesiones en piel, erosión de la boca, aletas deshilachadas, lesiones en zona peduncular y aleta caudal raída. En este estudio utilizamos dos técnicas de PCR (Clúster del Antígeno O y REP-PCR) para investigar la variabilidad genética entre 33 aislados chilenos de *Tenacibaculum maritimum* obtenidos a partir de brotes ocurridos en jaulas de 21 centros de mar entre los años 2020 y 2023.

Los resultados relacionados a la clusterización del Antígeno O mostraron que un 73% de los aislados pertenecen al grupo 4.0; 9% pertenece al grupo 1.0; 9% pertenece al grupo 3.1 y el 6% restante pertenece al grupo 3.2. No fue posible categorizar a un 3% de los aislados en ningún clúster de los mencionados anteriormente, a pesar de su identificación como *T. maritimum* por PCR especie-específico.

El análisis molecular, mediante REP-PCR, permite clasificarlos en 6 grupos diferentes a la cepa de referencia (NCIMB-2154<sup>T</sup>) correspondiente a la clasificación REP-1. Se encontró que un 3% conformaba el grupo REP-2; 6% REP-3; 9% REP-4; 3% REP-5; 26% REP-6 y un 50% de los aislados pertenece al grupo REP-7. Además, se observó que existen diferencias entre los aislados pertenecientes a un mismo clúster.

Los resultados obtenidos demuestran que existe variabilidad genética entre los aislados de *T. maritimum* obtenidos a partir de salmónidos en Chile. Estas diferencias se observan en función del antígeno O, identificando 3 serotipos más 1 grupo no-tipificable (NT) y 6 grupos genéticos en base a los perfiles de REP-PCR. Este estudio nos permite sugerir que las vacunas (medida preventiva), deben desarrollarse en base a aislados dominantes y ser específicas para un área geográfica específica.

Keywords: Tenacibaculosis, *Tenacibaculum maritimum*, Variabilidad genética, Clusterización

Financing: Este estudio se enmarca dentro del proyecto de tesis doctoral del Programa de Doctorado en Biotecnología Molecular de la Universidad de Concepción financiado por Farmacología en Acuicultura Veterinaria FAV S.A., apoyado por el proyecto PI-4467 de CORFO y ANID.

Acknowledgments: Nuestros agradecimientos a todo el equipo del Laboratorio I&D de FAV que permitió desarrollar este estudio, al programa de Doctorado en Biotecnología Molecular, a CORFO por apoyarnos en los nuevos desarrollos para la industria acuícola y ANID.

Tipo de presentación: Comunicación oral

**A genomic balance of adaptations to high temperatures and to hot spring microbial communities in the evolution of the cyanobacterial genus *Fischerella***

**Jaime Andrés Alcorta Loyola**<sup>1,2</sup>, Mónica Vásquez Pérez<sup>1</sup>, Beatriz Diez Moreno<sup>1,2,3</sup>

(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, Santiago, Chile

(3) Centro de Ciencia del Clima y la Resiliencia (CR)2, Santiago, Chile

Thermophiles are widely distributed across the tree of life and inhabit extreme environments such as terrestrial hot springs. However, their polyphyly raises questions about the genomic properties that allow them to adapt to these niches. The cyanobacterial genus *Fischerella*, specifically the hot spring members, plays a crucial role in microbial mat communities up to 60 °C. In this study, we aimed to understand the distinctive features of hot spring *Fischerella* species compared to their non-thermal species counterparts, uncovering their genomic adaptations and evolutionary mechanisms responsible for their divergence to high-temperature environments. To achieve this, we sequenced 4 *Fischerella* cultured strains with Illumina technology and recovered 19 metagenome-assembled genomes from hot spring metagenomes. Along with 48 other genomes available in the NCBI database, this dataset allowed us to compare a total of 64 hot spring and 7 non-thermal genomes of this genus. The pangenome was determined with the Orthofinder software, the horizontal gene transfer was inferred with HGTector and the defense mechanisms with DefenseFinder software. Our findings revealed common genomic and protein features in thermal *Fischerella* that possibly enable them to adapt to the high temperatures. Reconstruction of the ancestral state showed that hot spring *Fischerella* followed a genome streamlining pathway, as occurs in many other extremophiles, resulting in more stable genomes. In contrast, non-thermal *Fischerella* seemed to follow a genome expansion pathway, being prone to plasmid acquisition, horizontal gene transfer, and higher transposase activity. Additionally, we identified 21 orthogroups present in almost all hot spring genomes and absent in non-thermal ones (mostly hypothetical proteins), showing the HGT mechanism probably key in the temperature adaptation implicated in the origin of the thermal clades. The transition from a non-thermal environment to hot springs is reflected in a balance of genomic properties that could be advantageous for survival, such as small genomes and heat-adapted proteins, and changes in abundances of specific protein functional categories, like inorganic ion metabolism, and established microbial communities in these extreme environments. Understanding these adaptations can contribute to our knowledge of extremophiles and how niche transitions can be reflected in genomes in the current global change scenario.

Keywords: comparative genomics, thermophiles, metagenome-assembled genomes, cyanobacteria

Financing: This work is financially supported by FONDECYT N° 1190998 y N°1210912; ANID-FONDAP N°15200002; ANID-MILENIO ICN2021\_044; and ANID Doctoral fellowship N° 21191763.

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Genomic characterization of the reemergence of atypical Furunculosis (*Aeromonas salmonicida atypical*) in cases 2022-2023**

**Caracterización genómica de la Reemergencia de la Furunculosis atípica (*Aeromonas salmonicida atípica*) en casos 2022-2023**

**Marco Andre Montes de Oca Salto**<sup>1</sup>, Marcos Godoy<sup>1,2</sup>, Rudy Suarez<sup>3</sup>, Juan Pablo Pontigo Vasquez<sup>2</sup>, Diego Caro<sup>1</sup>, Molly Kibenge<sup>4</sup>, Frederick Kibenge<sup>4</sup>, Sion Bayliss<sup>5</sup>

(1) Centro de Investigaciones Biológicas Aplicadas (CIBA), Bioinformática, Lago Panguipulli #1390, Puerto Montt, Chile

(2) Universidad San Sebastián, Laboratorio Institucional, Facultad Ciencias de la Naturaleza, Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Chile

(3) Universidad Católica del Norte, Programa de Magíster en Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar, Coquimbo, Chile

(4) University of Prince Edward Island, Department of Pathology and Microbiology, Atlantic Veterinary College, 550 University Ave, Charlottetown, Canada

(5) University of Bristol, Bristol Veterinary School, United Kingdom

**Introducción**

La furunculosis atípica es una infección bacteriana sistémica causada por *Aeromonas salmonicida* atípica. Esta infección ha sido registrada en diversas especies de cultivo y presenta una distribución geográfica global. En Chile, se reportó por primera vez en 1995, afectando principalmente al salmón del Atlántico (*Salmo salar*). Entre los años 2021 y 2023, se ha observado un incremento significativo en la incidencia de casos durante la etapa de agua dulce. El objetivo principal de este estudio es caracterizar la diversidad genómica de las cepas que están experimentando una reemergencia.

**Métodos**

Se obtuvieron peces pre-smolt y smolt de hatcheries en Los Lagos y Magallanes, vacunados contra *Aeromonas salmonicida* y correspondientes a casos clínicos de furunculosis. Se secuenció el genoma de colonias bacterianas aisladas exitosamente. Los genomas fueron anotados con Prokka. Se predijeron factores de virulencia, genes de resistencia a antibióticos y secuencias de inserción con BLAST, comparando con las bases de datos VFDB, CARD, e ISFinder, respectivamente. La identidad de nucleótidos promedio de genoma completo se analizó con FastANI. Los tres genomas descritos en este estudio fueron analizados en conjunto a 25 genomas cerrados de *Aeromonas salmonicida* disponibles en la base de datos NCBI.

**Resultados**

Se cerraron tres genomas de *Aeromonas salmonicida* asociadas a la reemergencia de furunculosis. Estos genomas poseen una longitud promedio de 4,6 Mb con 58.5% GC, valores esperados para esta especie, e incluyen entre uno y dos plásmidos. El análisis filogenético revela que los genomas descritos en este estudio se ubican en el grupo de cepas psicrófilas atípicas. El análisis comparativo de la estructura genómica de los factores de virulencia, así como de secuencias de inserción, muestran patrones similares a cepas psicrófilas atípicas.

**Conclusiones**

El análisis filogenético y comparativo de estructura genómica sugiere que los genomas estudiados pertenecen al grupo de cepas psicrófilas atípicas, con patrones similares en factores de virulencia y secuencias de inserción. En este contexto, las perspectivas futuras de investigación podrían enfocarse en una caracterización más detallada de los patrones genómicos descritos en el presente análisis, lo que podría contribuir a un mayor entendimiento de la epidemiología y control de la furunculosis atípica.

Keywords: Furunculosis atípica, *Aeromonas salmonicida* atípica, Genómica clínica, Filogenómica, Factores de virulencia y resistencia  
Financing: Centro de Investigaciones Biológicas Aplicadas (CIBA)

Tipo de presentación: Comunicación oral

**New insights into the impact of Major Fimbriae (FimA) genotypes associated with virulent strains of *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis**

**Josefa Nuñez-Belmar**<sup>1,2</sup>, Mauricio Morales-Olavarría<sup>1</sup>, Damariz Gonzalez<sup>1</sup>, Cristian Cortez<sup>4</sup>, Juan P. Cardenas<sup>1,3</sup>, J. Andrés Rivas-Pardo<sup>1,3</sup>

(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, Ingeniería y Tecnología, Cam. La Pirámide 5750, Santiago, Chile

(4) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Medical Technology School, Faculty of Science, Av. Brasil N° 2950, Valparaíso, Chile

**Background**

Periodontitis is a chronic, immuno-inflammatory disease characterized by the loss of teeth-supporting tissues leading to tooth loss. *Porphyromonas gingivalis* is crucial in causing dysbiosis, disrupting host immunity, and perpetuating inflammation in periodontitis. The first step of host infection is the initial fimbriae (FimA) adhesion to gingival epithelial cells. FimA are filamentous structures anchored to the external bacterial membrane. Previous studies have shown a correlation between the phenotypes of FimA and the adhesion capacity to the host epithelium. Type I has been related to health and type IV to periodontitis. Currently, there are few diversity and structural studies of FimA genotypes that link it to the disease phenotype. This study aims to determine the diversity and evolutionary properties of FimA of *P. gingivalis* to better understand their role in infection and their host specificity.

**Methods**

To perform phylogenetic and evolutionary analyses of FimA. The nucleotide and aminoacid sequences were obtained from a set of 84 high-quality *P. gingivalis* genomes. Phylogenetic analyses for aligned sequences were performed by using IQTREE. The genetic variability was determined with Datamonkey web server (applying FEL model). We did a structural alignment of FimA genotypes. The 3D structure of FimA genotypes were obtained from the Protein Data Bank (PDB) and FimA genotypes were structurally compared by using ChimeraX.

**Results**

The distribution of the phylogenetic tree from aminoacid sequences alignment showed a distribution clustered by fimbrial genotype. We assessed the genomic variability between the genotypes and related it to metadata information. The genomic variability analyzed showed two positively selected sites ( $p \leq 0.05$ ) (according to FEL) among a total of 101 sites. The few positively selected sites suggest strong conservation among FimA sequences.

**Conclusion**

This study provides a novel approach to investigating the initial adhesion processes of the key pathogen *P. gingivalis* in periodontitis. This comparative genomics study allowed us to describe the differences between the sequences and structure of FimA and related it to the virulence of *P. gingivalis* strains. Furthermore, understanding the initial adhesion during early infection provides an opportunity for identifying new therapeutic targets.

Keywords: *Porphyromonas gingivalis*, phylogenomics, virulence factor, FimA

Financing: This work was supported financially by ANID through FONDECYT projects 11200209 (JPC) and 1221064 (JARP). JNB is supported by the Genomics Integrative PhD Program at Universidad Mayor

Acknowledgments: This work was supported by ANID through FONDECYT projects 11200209 (JPC) and 1221064 (JARP). JNB is supported by the Genomics Integrative PhD Program at Universidad Mayor



Tipo de presentación: Comunicación oral

**Effect of genomic islands on pathogenic processes and biofilm formation in *Piscirickettsia salmonis* strains**

**Efecto de islas genómicas en proceso patogénico y formación de biofilm en cepas de *Piscirickettsia salmonis***

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

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile  
(2) Centro FONDAP, Centro Interdisciplinario de investigación en Acuicultura (INCAR), O'Higgins 1695, Concepción, Chile

Una de las causas de grandes pérdidas en la acuicultura chilena, corresponde a la Piscirickettsiosis, una infección prevalente en los últimos años. Su agente causal, *Piscirickettsia salmonis*, ha logrado adaptarse con distintos mecanismos de virulencia y sobrevivencia, además de la disminución de susceptibilidad a fármacos, probablemente gracias a su plasticidad genómica. Uno de los posibles mecanismos puede deberse a rearrreglos genómicos mediante islas genómicas, siendo estas definidas como segmentos de nucleótidos que se desplazan intra y extra cromosómicamente, con menor %GC y elementos móviles.

Este trabajo, se enfocó en indagar, a través de un acercamiento *in silico* e *in vitro*, el posible impacto que puede generar las islas genómicas en la patogenicidad y sobrevivencia de *P. salmonis*. Esto se realizó mediante determinación de expresión relativa entre cepas LF-89 y Psal-005 (grupo EM) de posibles genes involucrados en proceso infeccioso, además de la distribución y ordenamiento de los barrios génicos en distintas genomas de *P. salmonis* y análisis de transcriptoma de cepas originales.

Los hallazgos *in silico* revelaron una conservación de barrios génicos para genes como reguladores transcripcionales y proteasas con mayor presencia de islas genómicas circundantes. En su contraparte, para proteínas de membrana, estas se encontraban en barrios más variados con menor cantidad de islas genómicas, permitiendo proponer que las islas confieren cierta estabilidad al barrio génico y a su vez, las islas genómicas en *P. salmonis* podrían ser inducidas al encontrarse genomas con la misma región de genes, pero sin clasificarse como isla. Además, en análisis de expresión génica diferencial, existe relación inversa entre expresión y distancia respecto a isla más cercana, al comparar cepas originales. Al complementarlo con información de estudio *in vitro*, esta relación aumentó estadísticamente de forma considerable además de pendientes más pronunciadas sobre todo para el primer día de infección, revelando posibles patrones patogénicos distintos, reafirmando el rol de isla como puerta de entrada para genes adyacentes relevantes en patogénesis. Se proyecta complementar estudios agrupando genes por función, además de determinar islas genómicas por subtipos y patrones específicos, que permitan diseñar intervenciones centradas en el ordenamiento genómico además de dilucidar posibles mecanismos adaptativos a futuro.

Keywords: Isla genómica, Barrio génico, Patogenicidad, Genogrupo, *Piscirickettsia salmonis*

Financing: FONDAP-ANID 1522A0004

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Structure and functions in the genome of the oleaginous bacteria *Rhodococcus opacus* DSM 43205**

### **Estructura y funciones en el genoma de la bacteria oleaginosa *Rhodococcus opacus* DSM 43205**

**Carmen Paz Torres**<sup>1</sup>, Blanca Araya<sup>1</sup>, Alberto Vergara-Fernández<sup>1</sup>, Felipe Scott<sup>1</sup>

(1) Universidad de los Andes, Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, San Carlos de Apoquindo 2200, Santiago, Chile

#### **Introducción**

La bacteria Gram positiva, *Rhodococcus opacus* DSM 43205, exhibe una gran versatilidad metabólica, al ser capaz de asimilar una amplia variedad de sustratos, entre los cuales se destacan el metanol, el ácido acético y la mezcla de gases compuesta por H<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, compuestos cuya producción en Chile presenta ventajas competitivas gracias al potencial desarrollo de energías renovables en el país. Esta bacteria además tiene la capacidad inherente de acumular triglicéridos, sintetizar ectoína y polisacáridos, compuestos de alto valor industrial. Por lo que, comprender las estructuras y funciones de su genoma es crucial para futuras modificaciones genéticas y posibles aplicaciones en la biotecnología y a escala industrial.

#### **Metodología**

El genoma fue secuenciado en SeqCenter LLC (Pittsburg, PA) utilizando la tecnología PacBio HiFi. Las herramientas bioinformáticas como, Canu HiFi, HiFiASM, IPA y Flye se usaron como ensambladores de novo. El genoma obtenido fue anotado en la plataforma kbase (<https://www.kbase.us/>) con la herramienta RASTtk -v1.073 y Prokka -v1.14.5.

#### **Resultados**

A partir de esto, se logró identificar la estructura genómica de la bacteria. Esta consta de un cromosoma de 7,8 kb y cuatro plásmidos. Los dos primeros plásmidos son megaplásmidos identificados como pHG202, con una longitud de 424,280 pb, y pHG203, con una longitud de 423,004 pb. Los otros dos plásmidos se llaman pHG201, con una longitud de 294,402 pb, y pHG31, con una longitud de 468 pb. Los primeros tres plásmidos presentan una estructura lineal, mientras que el último plásmido se caracteriza por ser de ADN circular cerrado de doble cadena. Además, en la reanotación del genoma se identificaron los genes necesarios para la fijación del dióxido de carbono mediante el ciclo Calvin-Benson-Bassham, la asimilación del metanol y el ácido acético, así como para la acumulación de triglicéridos, la formación de ácidos grasos y la ruta de biosíntesis de ectoína. Además, la bacteria posee los genes necesarios para el crecimiento anóxico utilizando el nitrato como donador de electrones.

#### **Conclusiones**

La estructura y funciones genómicas de la bacteria *Rhodococcus opacus* DSM 43205 explican su versatilidad metabólica y dan cuenta de la producción de compuestos de valor agregado como triglicéridos, ectoína y polisacáridos.

Keywords: Lipid Accumulation, *Rhodococcus opacus*, Chemolithoautotrophs, Assembly, Genome Sequencing

Financing: Se agradece el financiamiento a los siguientes proyectos: -PROYECTO ANILLO ATE220045-FONDECYT REGULAR 1211434 -FONDECYT POSTDOCTORADO 3220633.

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Comparative genomics sheds light on transcription factor-mediated regulation in the extreme acidophilic *Acidithiobacillia* representatives**

Pedro Sepulveda<sup>1</sup>, Carolina González-Rosales<sup>2</sup>, Mark Dopson<sup>3</sup>, Ernesto Pérez-Rueda<sup>5</sup>, David S. Holmes<sup>2,4</sup>, **Jorge H. Valdes<sup>1</sup>**

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

(2) Fundación Ciencia & Vida, Center for Bioinformatics and Genome Biology, Santiago, Chile

(3) Linnaeus University, Centre for Ecology and Evolution in Microbial Model Systems, Suecia

(4) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Santiago, Chile

(5) Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones en Matemáticas Aplicadas y en Sistemas, Unidad Académica del Estado de Yucatán, Yucatán, Mexico

Extreme acidophiles thrive in acidic environments, confront a multitude of challenges and demonstrate remarkable adaptability in their metabolism to cope with the ever-changing environmental fluctuations, which encompass variations in temperature, pH levels, and the availability of electron acceptors and donors. The survival and proliferation of members within the *Acidithiobacillia* class rely on the deployment of transcriptional regulatory systems linked to essential physiological traits. The study of these transcriptional regulatory systems provides valuable insights into critical processes, such as energy metabolism and nutrient assimilation, and how they integrate into major genetic-metabolic circuits. In this study, we examined the transcriptional regulatory repertoires and potential interactions of forty-three *Acidithiobacillia* complete and draft genomes, encompassing nine species. To investigate the function and diversity of Transcription Factors (TFs) and their DNA Binding Sites (DBSs), we conducted a genome-wide comparative analysis, which allowed us to identify these regulatory elements in representatives of *Acidithiobacillia*. We classified TFs into gene families and compared their occurrence among all representatives, revealing conservation patterns across the class. Our results identify conserved regulators for several pathways, including iron and sulfur oxidation, the main pathways for energy acquisition, providing new evidence for viable regulatory interactions and branch-specific conservation in *Acidithiobacillia*. Our identification of TFs and DBSs not only corroborates existing experimental information for selected species but also introduces novel candidates for experimental validation. Moreover, these promising candidates have the potential for further extension to new representatives within the class.

Keywords: Transcription factors, Regulatory interactions, *Acidithiobacillia*, Extreme acidophile, Comparative genomics

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Role of N6-methyladenosine (m6A) in HIV-1 replication and immune activation in human microglia**

**Rol de la N6-metiladenosina (m6A) en la replicación del VIH-1 y la activación inmunitaria en microglía humanas**

**Catarina Ananias Sáez<sup>1,2,3</sup>**, Aracelly Gaete Argel<sup>1,2,3</sup>, Cecilia Rojas Fuentes<sup>1,2,3</sup>, Fernando Valiente Echeverría<sup>1,2,3</sup>, Ricardo Soto Rifo<sup>1,2,3</sup>

(1) Universidad de Chile, virología, Medicina, Avenida Independencia 1027, Santiago, Chile

(2) Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Santiago, Chile

(3) Instituto de Ciencias Biomédicas, Virología, Medicina, Avenida independencia 10027, Santiago, Chile

La inflamación crónica es un sello distintivo de la infección persistente de las personas que viven con el VIH-1, a pesar de la eficaz supresión viral mediante terapia antirretroviral, siendo la principal causa de mortalidad y desarrollo de comorbilidades no relacionadas con el SIDA. La creciente evidencia sugiere que la transcripción activa del provirus integrado del VIH-1 y la presencia del RNA viral en el citoplasma de microglías, macrófagos y células dendríticas infectadas contribuye significativamente al establecimiento de este estado proinflamatorio. Además, algunos informes han demostrado que la modificación post-transcripcional de RNA, m<sup>6</sup>A, desempeña un papel fundamental durante la replicación viral en las células T y podría ser crucial en la regulación de la detección del RNA viral y la activación de los mecanismos de respuesta inmunitaria en las células mieloides infectadas.

El presente trabajo tiene como objetivo determinar si la presencia de m<sup>6</sup>A en el RNA del VIH-1 está involucrada en la replicación viral y activación inmunitaria innata en un modelo celular de microglías humanas. Nuestros análisis de Nanopore revelaron que el RNA del VIH-1 adquiere abundantes modificaciones m<sup>6</sup>A durante la infección en microglías humanas. Además, la infección por VIH-1 induce un estado proinflamatorio tras la integración, pero no un estado antiviral inducido por IFN-I. Actualmente estamos investigando el papel de la modificación m<sup>6</sup>A y su maquinaria asociada en el control postranscripcional del metabolismo del ARN del VIH-1 y en este estado proinflamatorio inducido por el VIH-1 en este tipo de células.

Keywords: VIH-1, inflamación, microglías, RNA, m<sup>6</sup>A

Financing: FONDECYT N° 1190156 PROGRAMA ICM-ANIDgrant ICN2021\_045

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Adaptation of a human-origin H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> Influenza A virus to pigs increases affinity for the lower respiratory tract and selects for mutations increasing NA activity and stability under calcium-depleted conditions**

**Matías Cárdenas**<sup>1</sup>, Brittany Seibert<sup>1</sup>, Brianna Cowan<sup>1</sup>, Ana Luiza Soares Fraiha<sup>1,3</sup>, L. Claire Gay<sup>1</sup>, Flavio Cargnin Faccin<sup>1</sup>, C. Joaquin Caceres<sup>1</sup>, Amy L. Vincent Baker<sup>2</sup>, Tavis K. Anderson<sup>2</sup>, Daniel R. Perez<sup>1</sup>, Daniela S. Rajao<sup>1</sup>

(1) University of Georgia, Department of Population Health, College of Veterinary Medicine, Athens, GA, United States

(2) ARS-USDA, National Animal Disease Center, Ames, IA, United States

(3) Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária, Minas Gerais, Brazil

Influenza A virus (FLUAV) infects a wide range of hosts and interspecies transmission is possible. Transmission of human-origin FLUAVs to pigs is frequently reported; however, only a fraction of them become established in pigs and little is known about the molecular mechanisms driving adaptation. To understand the adaptation process of human-origin HA and NA to pigs, we constructed a reassortant virus (pVIC11) containing the hemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA) gene segments from the human strain A/Victoria/361/2011 (H3N2) and internal gene segments of an endemic swine strain (pOH/04). Infection of pigs with pVIC11 resulted in a fixed mutation in the HA (A138S). This mutation increased affinity for  $\alpha$ 2,6 receptors *in vitro*. It also enhanced affinity for swine lower respiratory tract epithelium and alveolar macrophages *in vivo* to similar levels as pOH/04, contrasting with the original pVIC11 that failed to replicate in the lungs. After two serial passages in swine, the virus gained a second mutation in the NA segment (D113A). This mutation, located in the low-affinity calcium-binding site, improved viral particle release, and increased replication and aerosol infection in MDCK and PK15 cells when low calcium concentrations were added to the media, but only when the A138S mutation was also present. Substitution D113A also increased NA enzymatic activity and thermostability when no calcium was present in the reaction buffer, showing a similar behavior as pOH/04 NA. Infection kinetics in A549 and differentiated human airway epithelial cells (HAE) showed no differences in growth between the human-origin mutant viruses and the precursor pVIC11, suggesting that these early adaptive changes might not affect viral fitness in humans. Overall, our study indicates that adaptation of human viruses to the swine host involves an increased affinity for the lower respiratory tract and  $\alpha$ 2,6 receptors, and selection for NA proteins less sensitive to calcium concentrations, suggesting a novel role of calcium in the host range of FLUAV.

Keywords: Adaptation, Neuraminidase, Influenza, Swine, Human

Financing: This work was supported by Agriculture and Food Research Initiative #2020-67015-31563, accession no. 1022827 from the USDA National Institute of Food and Agriculture. Funding for this work, wholly or in part, was provided by the National Pork Board Project #21-085.

Tipo de presentación: Comunicación Oral

### **Surface immunogenic protein from Group B Streptococcus: A Bacterial Protein with Adjuvant Properties**

#### **Proteína inmunogénica de superficie de Streptococcus del grupo B: una proteína bacteriana con propiedades adyuvantes**

**Diego Díaz Dinamarca**<sup>1,3</sup>, María Ines Becker<sup>3,4</sup>, Abel E. Vasquez<sup>1,2</sup>

(1) Instituto de Salud Pública, ANDID, Sección Biotecnología, Av. Marathon 1000, Santiago, Chile

(2) Universidad del Alba, Departamento de Investigación Posgrado y Educación Continua (DIPEC), Facultad de Ciencias de la Salud, Santiago, Chile

(3) Laboratorio de Inmunología, Fundación Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (FUCITED), Santiago, Chile

(4) Investigación y Desarrollo, Biosonda S.A, Santiago, Chile

Developing vaccine adjuvants is crucial for addressing infectious diseases, cancer, and future pandemics. Toll Like Receptor 4 (TLR4) ligand-based adjuvants are the most commonly used adjuvants for human vaccines. Among the TLR family members, TLR4 has a unique dual function in the recruitment of two adapter proteins: myeloid differentiation marker 88 (MyD88) and interferon- $\beta$  adapter inducer containing the toll-interleukin-1 receptor (TIR) domain (TRIF). MyD88-mediated signaling triggers a pro-inflammatory innate immune response, while TRIF-mediated signaling leads to an adaptive immune response. Due to the role of TLR4 agonists, most studies have utilized ligands based on lipopolysaccharides, which have multiple side effects, primarily fever. In this study, we investigated the recombinant surface immunogenic protein (SIP) from *Streptococcus agalactiae* (rSIP), which at the preclinical level demonstrated the induction of protection against Group B *Streptococcus* GBS without using adjuvants. We determined that rSIP is a partial TLR4 agonist and requires the recruitment of MyD88 and TRIF to activate nuclear factor kappa beta (NF- $\kappa$ B) and interferon regulatory factor (IRF). Moreover, rSIP promotes the immunomodulation of mRNA associated with the activation of TLR4. Additionally, rSIP promotes cross-presentation to CD8+ T lymphocytes that depend on the TLR4, MyD88, and TRIF signaling pathways. Furthermore, immunization with rSIP plus ovalbumin (OVA) demonstrated the evocation of a humoral immune response and increased serum innate cytokines. Finally, docking analysis revealed a possible interaction of rSIP with the leucine-rich domain.

Our results indicate that rSIP could be a clinically valuable vaccine adjuvant for innate immunity and Th1 adaptive immune response. Therefore, rSIP may be considered an alternative to TLR4 agonist-based adjuvants.

Keywords: Group B streptococcus, vaccine adjuvant, TLR4, protein based adjuvant, Defeating meningitis by 2030

Financing: Funding: FONDEF ID21I10370 and ID23I10207 (AEV), Instituto de Salud Pública de Chile Funding (AEV, DD-D), DDD (ANID N° 21200880), CONICYT-CHILE FONDECYT Regular Grant 1201600 to MIB.

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Implications of the bacteria-host cell interaction in the toxigenic effect of colibactin-producing *Escherichia coli* (CoPEC)**

**Implicancias de la interacción bacteria – célula hospedera en el efecto toxigénico de *Escherichia coli* productor de colibactina (CoPEC)**

**Valentina Fernández- Yáñez**<sup>1,2</sup>, Luciana Darisi<sup>1</sup>, Claudia Hormazábal<sup>1,2</sup>, Valentina Ibaceta<sup>1</sup>, Carolina Arellano<sup>1</sup>, Gabriel Joo Mulsow<sup>1,3</sup>, Roberto Vidal<sup>1,4</sup>, Francisco Silva<sup>5</sup>, Jorge Toledo<sup>6</sup>, Andrea Olivos<sup>7</sup>, Claudia González<sup>7</sup>, Mauricio Arenas-Salinas<sup>7</sup>, Felipe Del Canto<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Avenida Independencia 1027, Independencia, Santiago, Chile

(2) Universidad de Santiago de Chile, Biología, Facultad de Química y Biología, Avenida Libertador Bernardo O´Higgins, Estación Central, Santiago, Chile

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

(4) Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Chile

(5) Hospital Clínico Universidad de Chile, Dr. Carlos Lorca Tobar 999, Independencia, Santiago, Chile

(6) Red de Equipamiento Científico Avanzado (REDECA), Facultad de Medicina, Avenida Independencia 1027, Independencia, Santiago, Chile

(7) Universidad de Talca, Centro de Bioinformática, Simulación y Modelado, Facultad de Ingeniería, 1 Poniente 1141, Talca, Chile

*Escherichia coli* productora de colibactina (CoPEC), sintetiza la genotoxina colibactina, causante de daño en DNA, alteraciones en el ciclo celular y cambios en la morfología celular. Aunque los procesos para la liberación y actividad genotóxica de colibactina siguen siendo desconocidos, se ha evidenciado que el contacto bacteria-célula es crucial para la genotoxicidad de CoPEC IHE3034, una cepa prototipo. Es importante comprender y caracterizar las interacciones mediadas por adhesinas en aislados clínicos CoPEC y sus implicancias en el efecto toxigénico. En este trabajo, analizamos los genomas de 20 cepas CoPEC, y genomas depositados en bases de datos, enfocándonos en genes fimbriales chaperona-ujier (CU), utilizando herramientas bioinformáticas. Se caracterizó el efecto citopático de CoPEC 175-Uch y una mutante del gen *clbA* (necesario para la síntesis de colibactina), sobre células HeLa, mediante microscopía y cuantificación por "High Content Analysis". Se evaluó el impacto de bloquear el contacto bacteria-célula con un filtro de poro de 0,4µm. Se examinó la adherencia de CoPEC 175-Uch sobre una superficie inerte y sobre células HeLa y Caco-2, incluyendo cepas mutantes por delección de genes relacionados con sistemas de adherencia, *papC* y *fimD*, que codifican proteínas ujier de las fimbrias P y tipo 1. Finalmente, se llevaron a cabo pruebas de bloqueo de adherencia utilizando anticuerpos contra proteínas fimbriales, anti-PapC, anti-PapA, anti-FimD, anti-FimA y anti-FocA. Las cepas CoPEC presentan varios sistemas fimbriales CU, incluyendo Auf, tipo 1, F1C, P, Sfa, Yeh y Yag. CoPEC 175-Uch induce megalocitosis en células HeLa, incrementando el tamaño celular y nuclear, y reduciendo la cantidad de células post-infección. Este efecto se vio disminuido significativamente con la mutante de *clbA*. Además, el limitar el contacto bacteria-célula redujo significativamente la megalocitosis. La cepa 175-Uch demostró menor adherencia al eliminar el gen *papC* (fimbria P) sobre superficies inertes y sobre células Caco-2, pero no sobre células HeLa. La disminución de adherencia se observó también en presencia del anticuerpo anti-PapC, disminuyendo en más de un 80% sobre células Caco-2. Estos resultados revelan propiedades genómicas y de adherencia en cepas CoPEC, esenciales para comprender como los cambios en adherencia podrían reducir daños en tejidos donde CoPEC está presente.

Keywords: Colibactina, Genotoxina, Fimbrias Chaperona Ujier, *Escherichia coli* productor de colibactina (CoPEC), Adherencia  
Financing: FONDECYT 1200979BECA DOCTORADO NACIONAL ANID 21201275GASTOS OPERACIONALES ANID 242220229

Tipo de presentación: Comunicación Oral

**Protective effect of indigenous probiotic bacteria from scallop larvae *Argopecten purpuratus* resistant to the pathogen *Vibrio bivalvicidae***

**Efecto protector de bacterias probióticas autóctonas de larvas de ostión *Argopecten purpuratus* resistente al patógeno *Vibrio bivalvicida***

**Katherine Muñoz Cerro**<sup>1</sup>, Roxana Gonzalez<sup>2</sup>, Rodrigo Rojas<sup>3</sup>, Carolina Yañez<sup>4</sup>, Fabian Cuadros<sup>4</sup>, Daniel Oyanedel<sup>1</sup>, Katherina Brokordt<sup>2</sup>, Paulina Schmitt<sup>1</sup>

(1) Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, Facultad de ciencias, Av. universidad 330, 4° piso, Curauma, Valparaíso, Valparaiso, Chile

(2) Laboratorio de Fisiología y Genética Marina (FIGEMA), Departamento de Acuicultura, Facultad de ciencias del mar, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

(3) Laboratorio de Patobiología Acuática, Departamento de Acuicultura, Facultad de ciencias del mar, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

(4) Grupo Ecología Microbiana de la Rizósfera, Instituto de Biología, Facultad de ciencias, Av. universidad 330, 4° piso, Curauma, Valparaíso, Valparaiso, Chile

El cultivo del ostión *Argopecten purpuratus* es uno de los moluscos bivalvos cultivados más importantes económicamente en Chile. No obstante, esta actividad se ve amenazada por eventos de mortalidad masiva, principalmente causados por patógenos bacterianos del género *Vibrio*. Se ha demostrado previamente una fuerte base genética asociada a la resistencia de las larvas de *A. purpuratus* a la vibriosis. Sin embargo, otros factores, como es la composición de la microbiota, tienen un impacto significativo en el resultado de una infección. En este contexto, se exploró la contribución de bacterias asociadas a larvas de ostión a la resistencia a una infección por *V. bivalvicida* (VPAP30). Para esto, se aislaron bacterias cultivables de cuatro familias de larvas que mostraron resistencia contrastada a la infección de VPAP30. Se asignaron taxonómicamente 75 aislados mediante secuenciación del ADNr 16s, y se identificaron 34 aislados exclusivamente asociados con las larvas resistentes. Se preseleccionaron 8 aislados candidatos a probiótico en base a su actividad antagónica contra el patógeno. Los resultados destacaron 3 aislados con potencial pertenecientes a los géneros *Psychrobacter*, *Hydrogenophaga* y *Shewanella*. Estos mostraron actividad antagonista *in vitro* contra VPAP30 y un efecto protector de larvas infectadas. Las larvas pretratadas con cada uno de los aislados mostraron (i) alta sobrevivencia después de 24 horas de infección, (ii) una inducción más temprana de los receptores inmunes, y (iii) mantención del recuento de *Vibrios* totales después de la infección con VPAP30. En conclusión, las larvas de ostión resistentes al patógeno VPAP30 portan bacterias que poseen propiedades con potencial probiótico para la cría de larvas en hatcheries.

Keywords: Scallop , bivalve-pathogen interaction, probiotic marine bacteria, beneficial microbiota

Financing: This doctoral thesis project is carried out within the framework of the FONDECYT 1200129 project.

Acknowledgments: We gratefully acknowledge Daniel Aguilera from Laboratorio Central de Cultivos Marinos from UCN for scallop procurement and maintenance



Tipo de presentación: Comunicación oral

**Epstein-Barr virus BamHI-A Rightward Frame 1 is expressed in lung carcinomas and promotes lung cancer progression**

**Julio César Osorio Patiño**<sup>1</sup>, Alvaro Armijo<sup>1,2</sup>, Andrés Castillo<sup>3</sup>, Carmen Romero<sup>2</sup>, Francisco Aguayo<sup>1,4</sup>

(1) University of Chile, Oncovirology Laboratory, Faculty of Medicine, Independencia 1027, Santiago, Chile

(2) University of Chile, Endocrinology and Reproductive Biology Laboratory, Faculty of Medicine, Independencia 2017, Santiago, Chile

(3) Universidad del Valle, Department of Biology, Faculty of Natural and Exact Sciences, Cali, Colombia

(4) University of Tarapacá, Oncovirology Laboratory, Faculty of Medicine, 18 de septiembre 2222, Arica, Chile

Epstein-Barr virus (EBV) is involved in the development of some lymphomas, nasopharyngeal carcinomas, and a subset of gastric carcinomas. In addition, EBV has been detected in lung carcinomas, though the role of this virus has not been established. BamHI-A Rightward Frame 1 (BARF1) is an early lytic protein currently detected in EBV-associated epithelial malignancies. It has been suggested that this protein is involved in cancer progression. In this study, we analyzed EBV's presence in Chilean patients' lung carcinomas and the expression of BARF1 transcripts. In addition, changes in cell proliferation, migration, and invasion were assessed in lung cells ectopically expressing BARF1.

One-hundred fifty-eight lung carcinomas from Chilean patients were collected between 2012 and 2016. The samples were formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) blocks obtained from the National Thorax Institute, Santiago, Chile. DNA extraction from FFPE tissue was performed, and the  $\beta$ -globin gene was used to determine the quality of the DNA. To identify the presence of EBV genomes, we used the BNRF1 consensus primers. To identify the presence of EBV transcripts we used BARF1 primers by qPCR. In addition, we evaluated cell viability, cell migration, and cell invasion in A549 (lung adenocarcinoma) and BEAS-2B (normal bronchial) cells that were transfected with a construct for BARF1 expression. This study was approved by the Ethics Committee Board of the University of Chile (No. 027; 25 May 2022).

EBV was detected in 23% (37/158) of lung carcinomas, of which 24% (19/78) were SQC samples, and 23% (18/80) were AdC samples ( $p = 0,8519$ ). We found that BARF1 was detected in 19% (7/37) of EBV-positive lung carcinomas by RT-PCR. Considering the lung cancer histological type, BARF1 was detected in 21% of SQCs and 17% of AdCs ( $p = 0,999$ ). Interestingly, BARF1 transcripts were detected in one smoker patient with SQC. Furthermore, BARF1 expression correlated with increased cell proliferation and migration in A549 and BEAS-2B cell lines. These findings show that EBV is present in a subset of lung carcinomas with cases expressing BARF1 transcripts, which correlated with increased tumor properties of lung epithelial cells

Keywords: Lung cancer, EBV, BARF1

Financing: This research was funded by Fondecyt Postdoctoral Grant # 3220486 (J.C.O.); Fondecyt Grants 1221033 (F.A.) and 1220479 (C.R.).

Tipo de presentación: Comunicación oral

**The transcriptional regulation of Atlantic salmon macrophage-like cells SHK-1 infected by *P. salmonis* is dominated by KLF17 and MAFBA**

**La regulación transcripcional de la línea celular derivada de macrófagos de salmón del Atlántico (SHK-1) infectadas por *Piscirickettsia salmonis* es dominada por KLF-17 y MAFBA**

**Sebastian Andres Reyes-Cerpa**<sup>1,2</sup>, Diego Pérez-Stuardo<sup>1</sup>, Mateus Frazao<sup>1,2</sup>, Valentina Ibaceta<sup>1,2</sup>, Bernardo Brianson<sup>1,2</sup>, Evelyn Sanchez<sup>1,6</sup>, Jaime Rivas-Pardo<sup>1,2</sup>, Eva Vallejos-Vidal<sup>3</sup>, Felipe Reyes-López<sup>4</sup>, Daniela Toro-Ascuy<sup>5</sup>, Elena A. Vidal<sup>1,2,6</sup>

(1) Universidad Mayor, Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Camino La Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile

(2) Universidad Mayor, Escuela de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Camino La Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile

(3) Universidad de Las Américas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Santiago, Chile

(4) Universidad de Santiago de Chile, Centro de Biotecnología Acuícola, Facultad de Química y Biología, Santiago, Chile

(5) Universidad de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Santiago, Chile

(6) ANID-Millennium Science Initiative Program-Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), Santiago, Chile

Salmonid Rickettsial Septicaemia, caused by *Piscirickettsia salmonis*, is Chilean aquaculture's most important health problem. Previous reports suggest that *P. salmonis* survives in salmonid macrophages, inducing an anti-inflammatory response associated with host-immune evasion mechanisms. However, the relevant aspects of the molecular pathogenesis of *P. salmonis* are poorly characterized. In this work, we evaluated the transcriptomic changes in the macrophage-like cell line SHK-1 infected with *P. salmonis* at 24- and 48- hours post-infection (hpi) by RNA-seq. To obtain new information on host transcriptome gene regulatory networks (GRNs), we generated a manually curated database (SalSaDB), which allows us to understand the transcriptional regulation pathway that orchestrates the macrophage response. As result, we observed a regulatory cascade that favors an M2-macrophage phenotype with anti-inflammatory properties, where relevant processes to antimicrobial and inflammatory response were modulated, highlighting an impaired lysosomal response, which only seems to be induced at 48-hpi. Moreover, an increased expression in genes associated with carbon metabolism was observed at 24-hpi, which is a characteristic of M1-macrophages, where the catabolism of macromolecules is essential due to its high energy demand; however, at 48-hpi, carbon metabolism decreased, which is a characteristic of M2-macrophages where anabolic processes, such as the biosynthesis of amino acids and nucleic acids, are essential. Similarly, an increased expression of genes related to the re-organization of the cytoskeleton, remodeling of cellular matrix, and cell migration were observed at both times analyzed, biological processes characteristic of M2-macrophages related to cellular migration and tissue repair. We found that the transcriptional master regulators were KLF17 and MAFBA, transcription factors (TFs) highly related to M2-macrophages. In contrast, a decreased expression of NOTCH3 and NFATC1, TFs related to M1-macrophages was observed, suggesting that the transcriptional response presents an imbalance towards a tolerogenic and anti-inflammatory response associated with the expression of TFs related to M2-polarization of infected macrophages.

In conclusion, the SHK-1 cells infected by *P. salmonis* presented a delayed M1-macrophage transcriptional response, not favoring an efficient response against the bacterium. Conversely, a transcriptional response profile towards an M2-macrophage was observed, which could explain the bacterial survival when Atlantic salmon macrophages are infected by *P. salmonis*.

Keywords: *Piscirickettsia salmonis*, Atlantic salmon macrophages, Host-pathogen interaction, M2 polarization

Financing: ANID Subdirección de Investigación Aplicada FONDEF ID22I10211

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Effects of Polyphosphate Kinase Mutation on Pathogenicity, Biofilm, and Capsule Formation in Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: A Global Proteomic Study**

**Efectos de la mutación de la polifosfato quinasa sobre la patogenicidad, la biopelícula y la formación de cápsulas en *Klebsiella pneumoniae* hipervirulenta: un estudio proteómico global**

**Diego Rojas Muñoz<sup>1</sup>**, Andrés Marcoleta<sup>1</sup>, Matias Gálvez<sup>1</sup>, Macarena Váras<sup>1</sup>, Mauricio Díaz<sup>1</sup>, Pablo Saldivia<sup>2,3</sup>, Jorge Vielma<sup>1</sup>, Mauricio Hernández<sup>2</sup>, Yunn Hwen Gan<sup>4</sup>, Yahua Chen<sup>4</sup>, Nicolas Guiliani<sup>1</sup>, Francisco Chavez<sup>1</sup>

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

(2) Instituto MELISA, División Biotecnología, Dalcahue 1120, suite 103, San Pedro de la Paz, Chile

(3) Universidad de Concepción, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas,, Edmundo Larenas, 234, Concepción, Chile

(4) National University of Singapore, Department of Biochemistry, Yong Loo Lin, School of Medicine, 21 Lower Kent Ridge Road, Singapore, Singapore

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. 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. In this context, 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. To get into more detail about molecular processes involved in mutants in polyP metabolism, global proteomic profiling of  $\Delta ppk1$ ,  $\Delta ppx$  and double mutants was performed using non-isotopic LC-MS/MS spectrometry. The results revealed that the  $\Delta ppk1$  mutant had a differential expression of proteins (DEP) involved in capsule synthesis (Wzi - Ugd), biofilm formation (MrkC-D-H), synthesis of the colibactin genotoxin precursor (CibB), as well as proteins associated with related the synthesis and modification of lipid A (LpxC - PagP). These proteomic findings corroborate the phenotypic observations and indicate that the Ppk1 mutation is associated with impaired biofilm and capsule formation and attenuated virulence in hypervirulent *K. pneumoniae* using the social amoeba *D. discoideum* as a host-pathogen interaction model. Our results confirm that inorganic polyphosphate (polyP) metabolism, particularly the enzyme responsible for its synthesis, Ppk1, is a promising target for designing novel antivirulence drugs.

Keywords: Polyphosphate, Hypervirulent *Klebsiella*, Proteomics, *D. discoideum*, Antivirulence

Financing: Fundación Maria Ghilardi FONDECYT F. Chávez 1211852 FONDECYT A. Marcoleta 1221193 FONDEQUIP Lionheart EQM180216

Acknowledgments: To the Maria Ghilardi Foundation for financing my doctoral studies. To Professor Francisco Chavez and Nicolas Guiliani for receiving me in their laboratories

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Helicobacter pylori infection induces the stabilization and association of HIF-1 $\alpha$  and  $\beta$ -Catenin in a protein complex that promotes the expression of genes related to gastric carcinogenesis**

**Hector Tapia G.**<sup>1,2,3,4</sup>, Daniela Herrera R.<sup>2,3,4</sup>, Safka Hernández G.<sup>1,3</sup>, Patricio Silva A.<sup>2,3,4</sup>, Vicente A. Torres<sup>2,3,4</sup>, Denisse Bravo<sup>1,3</sup>

(1) Laboratory of Microbial Interactions, Faculty of Dentistry, National University Andrés Bello, Echaurren 277, Santiago, Chile

(2) Laboratory of Cellular and Molecular Biology, Institute of Odontological Sciences, Faculty of Dentistry, University of Chile, Olivos 943, Santiago, Chile

(3) Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDIS), Faculty of Chemical and Pharmaceutical Sciences, University of Chile, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Santiago, Chile

(4) Millennium Institute for Immunology and Immunotherapy (IMI)

*Helicobacter pylori* is a Gram-negative helical-shaped coccobacillus that colonizes human gastric niche, promoting the activation of different signaling pathways related to gastric carcinogenesis.

Studies of our group demonstrated that *H. pylori* infection promotes the stabilization of HIF-1 $\alpha$  through its virulence factor Urease. HIF-1 $\alpha$  is known to play a key role in cancer progression by controlling the expression of a wide set of genes, inducing tumor cell migration, invasion, and metastasis. HIF-1 $\alpha$  is also known to interact with  $\beta$ -Catenin in a protein complex as a response to tumor hypoxia in different cancer models, thereby promoting HIF-1 $\alpha$ -dependent expression of genes such as carbonic anhydrase 9 (CA9), a classic marker of tumoral progression. However, there are no reports describing a possible relationship between *H. pylori* and the formation of this protein complex.

In the present investigation, we aimed to explore the possible role of *H. pylori* infection as an inductor of HIF-1 $\alpha$ / $\beta$ -Catenin interaction and whether this event could play a transcriptional role in gastric cancer.

Our findings demonstrated for the first time that *H. pylori* infection induces the stabilization, accumulation and colocalization at the cell nucleus of HIF-1 $\alpha$  and  $\beta$ -Catenin in a time-dependent manner as shown by Western Blot and Immunofluorescence analyses. Moreover, Co-immunoprecipitation assays shown the formation of HIF-1 $\alpha$ / $\beta$ -Catenin complex induced by *H. pylori* infection. Interestingly, we found that *H. pylori* interferes in  $\beta$ -Catenin association with another transcription factor, TCF-4 without modifying its nuclear localization as seen by Immunofluorescence. Finally, qPCR analyses of infected cells show that at the time in which HIF-1 $\alpha$ / $\beta$ -Catenin complex is formed, CA9 mRNA levels rise ten-folds when compared with non-infected control.

In summary, our findings shown that *H. pylori* infection is responsible for HIF-1 $\alpha$ / $\beta$ -Catenin nuclear complex formation and, in turn, this protein complex is responsible for HIF-1 $\alpha$ -dependent gene expression in gastric cancer cells.

Keywords: Gastric cancer, *Helicobacter pylori*, HIF-1 $\alpha$ ,  $\beta$ -Catenin, Protein-protein interaction

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" (V.A. Torres), and CONICYT-FONDAP 15130011 (D. Bravo; V. A. Torres).

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Effect of chronic hypoxic stress on the antibacterial activity of corvina drum (*Cilus gilberti*) epidermal mucus**

**Efecto del estrés por hipoxia crónica en la actividad antibacteriana del mucus epidérmico de la corvina (*Cilus gilberti*)**

**Belinda Vega**<sup>1</sup>, Claudio Álvarez<sup>1</sup>, Teresa Toro<sup>2</sup>, María J. Tapia<sup>2</sup>, Héctor Flores<sup>2</sup>, Fanny Guzmán<sup>3</sup>, Marcia Oliva<sup>2</sup>, Katherine Alveal<sup>2</sup>  
(1) Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas (CEAZA)- Laboratorio de Fisiología y Genética Marina (UCN)  
(2) Universidad Católica del Norte, Facultad de Ciencias del Mar  
(3) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

En un escenario de cambio climático, el descenso de la concentración de O<sub>2</sub> disuelto (DO) en el mar y las frecuentes fluctuaciones en dichos niveles puede ocasionar estrés crónico en los cultivos de peces expuestos a estas condiciones ambientales. Este estrés puede alterar el normal funcionamiento del sistema inmunológico de los peces, haciéndolos más vulnerables a padecer infecciones e incrementando en consecuencia las tasas de morbilidad y mortalidad en el cultivo, lo que resulta en pérdidas económicas. Los órganos mucosos (piel -y mucus-, branquias, intestino y mucosa nasal) constituyen la primera barrera de defensa del pez frente a patógenos. Por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la hipoxia crónica sobre la actividad antibacteriana del mucus de la corvina chilena (*Cilus gilberti*), una de las especies nativas de interés para la diversificación de la acuicultura en Chile. Para ello, el mucus epidérmico de juveniles (~220g) mantenidos en condiciones de normoxia (7mg/L DO) e hipoxia (2mg/L DO) fue recogido después de 6 semanas de hipoxia y después de 6 días de ser inoculados intraperitonealmente con lipopolisacárido (LPS) de *Vibrio anguillarum* para inducir una respuesta inmunológica en los peces. Posteriormente, se realizó la extracción de proteínas del mucus para proceder con los ensayos de actividad antibacteriana frente a dos bacterias patógenas del género *Vibrio*, *V. anguillarum* y *V. ordalii*. Dicha actividad fue evaluada mediante recuento de colonias bacterianas y análisis de viabilidad celular -con MTT-. El mucus de los peces de ambos grupos experimentales (normoxia e hipoxia) presentó efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano. Si bien el de los animales en normoxia mostró mayor actividad tras ser estimulados con LPS, esto no se observó en los peces inmuoestimulados que fueron expuestos previamente a hipoxia. Estos resultados contribuyen a mejorar la comprensión del impacto del medio ambiente en los mecanismos de defensa de la corvina chilena frente a patógenos potenciales. Estudios proteómicos adicionales, asociados a las condiciones ambientales estudiadas, permitirá el aislamiento e identificación de péptidos con actividad antimicrobiana (AMP) presentes en el mucus, y favorecerá el desarrollo de estrategias encaminadas a minimizar los impactos de la hipoxia.

Keywords: *Cilus gilberti*, mucus epidérmico, hipoxia, actividad antibacteriana  
Financing: FONDECYT 3200440 y FONDECYT 1210056

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Case studies and change in prevalence of *Bordetella* species which caused coqueluche in La Araucanía state from 2018 to 2022 and from January to July, 2023**

**Análisis de casos y cambio en la prevalencia de especies de *Bordetella* causantes de coqueluche en la región de La Araucanía entre los años 2018 al 2022 y enero a julio de 2023**

**Fernando Báez Maraboli**<sup>1,2</sup>, Judith Muñoz Sandoval<sup>3,4</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina, Temuco, Chile

(2) Secretaría Regional Ministerial de Salud de la región de La Araucanía, Chile

(3) Universidad Mayor, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Chile

(4) Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena, Subdepartamento Laboratorio Clínico, Temuco, Chile

**Introducción**

El coqueluche o tos ferina, es una infección bacteriana de las vías respiratorias causada por *Bordetella pertussis*, coccobacilo gramnegativo, aerobio estricto, inmóvil, cuyo reservorio es exclusivamente el humano; la enfermedad es inmunoprevenible. La infección también puede ser causada por otras especies de *Bordetella* como *parapertussis* o *holmesii*. El objetivo del estudio fue describir las características clínicas/epidemiológicas y microbiológicas de los casos notificados de coqueluche en la región de La Araucanía entre el 2018-2022 y enero-julio de 2023.

**Métodos**

Estudio descriptivo transversal de serie de casos de coqueluche, entre los años 2018-2022 y enero-julio 2023 de pacientes residentes en La Araucanía. Se utilizaron los registros oficiales, se entrevistó a cada paciente o tutor. Se analizaron variables clínicas/epidemiológicas y microbiológicas. Se calcularon frecuencias absolutas y relativas, medidas de tendencia central y tasas de incidencias, utilizando proyecciones del Instituto Nacional de Estadísticas 2002-2035.

**Resultados**

Durante el periodo 2018-2022, se confirmaron 87 casos de coqueluche, 52,9% fueron mujeres, el mayor grupo en menores de 1 año (33,3%). Las mayores proporciones se registraron el 2018 (48,3%; 42/87) y 2019 (29,9%; 26/87). Las mayores incidencias por 100.000hab. se presentaron en las comunas de Toltén (139,2) y Vilcún (35,8). Temuco presentó la mayor frecuencia (n=33). El 98% tuvo tos, 31% coinfección con adenovirus, virus respiratorio sincicial u otros. El 29,9% requirió hospitalización, destacando que en 2019 y 2020, el 76,9% y 66,6% fueron hospitalizados respectivamente. El diagnóstico según CIE-10, mostró que el 60,9% correspondió a *Bordetella pertussis*, 33,3% tos ferina no especificada y 3,4% a *Bordetella parapertussis*. El 52,9% se confirmó mediante técnicas de reacción de polimerasa en cadena (RPC). Entre enero-julio 2023, se presentaron 54 casos, los grupos más afectados fueron de 1-4 años (42,6%) y 5-9 años (19,6%), 72,2% presentó coinfección y 20,3% requirió hospitalización. El 88,9% ha sido por *Bordetella parapertussis*, 96,3% se confirmó mediante RPC. En toda la casuística hubo un fallecido.

**Conclusiones**

A diferencia del quinquenio 2018-2022, en el año 2023 en La Araucanía se presenta un cambio en el perfil de casos, afectando a grupos de mayor edad de la población pediátrica, disminuyendo las hospitalizaciones y predominando ampliamente *Bordetella parapertussis*.

Keywords: Coqueluche, *Bordetella*, epidemiología, microbiología clínica

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Molecular response of rheumatological patients against SARS-CoV-2 vaccine in Atacama region**

**Respuesta molecular de pacientes reumatológicos frente a la vacuna SARS-CoV-2 en la región de Atacama**

**María José Gallardo Nelson**<sup>1</sup>, Fernando Valiente-Echeverría<sup>2,3</sup>, Yolanda Gomez<sup>4</sup>, Marcos Cruces<sup>5</sup>

(1) Universidad de Atacama, Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Copiapó, Chile

(2) Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Santiago, Chile

(3) Universidad de Chile, Laboratory of Molecular and Cellular Virology, Virology Program, Institute of Biomedical Sciences, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(4) Universidad del Bío-Bío, Departamento de Estadística, Facultad de Ciencias, Concepción 4081112, Chile

(5) Hospital Regional de Copiapó, Policlínico Reumatología e Inmunología, Copiapó, Chile

La vacunación ha sido parte fundamental en el manejo de la pandemia, no obstante, los datos sobre el nivel de anticuerpos en pacientes con enfermedades reumatológicas son limitados. El propósito de este estudio fue evaluar la respuesta inmune en pacientes adultos con Enfermedades Reumatológicas (ER) en la región de Atacama. Los niveles de anticuerpos neutralizantes (ID50) contra el SARS-CoV-2 se midieron en pacientes con artritis y lupus, principalmente, que se atienden en el Servicio de Inmunología del Hospital Regional de Copiapó y se compararon con controles sanos. El estudio se realizó entre marzo y julio de 2022. Participaron un total de 341 personas (218 pacientes ER y 123 controles sanos) que recibieron la cuarta dosis de la vacuna contra SARS-CoV-2 en un rango de 2-12 semanas. Se determinaron los anticuerpos neutralizantes presentes en el suero de los pacientes. Además se registraron otros datos como co-morbilidades y COVID-19 + (PCR o antígeno). El título de anticuerpos neutralizantes en pacientes y en controles sanos presentó un título más alto para la variante Wuhan que para la variante Omicron. Realizando una comparación entre las variantes, Wuhan v/s Omicrón, notamos que existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el nivel del ID50, tanto para los controles sanos, como para los pacientes con ER. La respuesta humoral de los pacientes con ER es significativamente menor en comparación con los controles sanos para la variante omicron del SARS-CoV-2 ( $p = 0,0015$ ). No obstante, no hay evidencia estadística en la respuesta humoral de los pacientes con ER en comparación con los controles sanos para la variante Wuhan. La respuesta humoral de los pacientes con ER disminuye significativamente cuando el intervalo de tiempo entre la vacunación y la toma de muestra es superior a 35 días. Esta diferencia se observa en la respuesta, tanto para la variante Wuhan como para la variante Omicron. En cambio, en controles sanos, la respuesta humoral se mantiene en el tiempo, tanto para intervalos menores o iguales a 35 días como para intervalos de más de 35 días, en respuesta a ambas variantes.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, Autoimmune rheumatic diseases, Drug-related side effects, vaccines

Financing: Proyecto FONIS SA21I0078

Acknowledgments: Universidad de Chile, Universidad de Atacama y Sociedad de Microbiología de Chile.

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Cariogenic challenge of excess sugar modifies single and dual-species biofilms of *Candida albicans* and *Streptococcus sanguinis***

**Carla P. Lozano**<sup>1</sup>, Natalia García-Manríquez<sup>2</sup>, Elías Martínez-Casanova<sup>1</sup>, Rodrigo A. Giacaman<sup>2</sup>, Claudia Lefimil<sup>1</sup>, Ximena Lee<sup>1</sup>  
(1) University of Talca, Cariology Unit, Faculty of Dentistry, Av. Lircay s/n, Talca, Chile  
(2) University of Talca, Cariology Unit, Faculty of Dentistry, Av. Lircay s/n, Talca, Chile

**Background:** *S. sanguinis* is a commensal bacterium of the dental biofilm associated with caries-free teeth and secretes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to maintain this condition. The pathobiont yeast *C. albicans* is present in both oral health and caries. So far, it has not been described how both microorganisms coexist in biofilms under limiting and excess sugar conditions. Our aim was to determine the effect of excess sugar as a cariogenic challenge on the biological and physico-chemical parameters of single-species (*C. albicans*) and dual-species biofilms of an oral clinical isolate of *C. albicans* and *S. sanguinis*.

**Methods:** An *in vitro* caries model was used with slabs of bovine enamel as substrate for the development of biofilms. The slabs/biofilms were under an exposure regimen to 10% sucrose or 0.9% NaCl for 5 min 3x/day/5 days (excess and limitation of sugar, respectively). Viable cells of each microorganism, hyphal quantification in *C. albicans* (biological parameters), biofilm pH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> quantification and surface microhardness of enamel slabs (physico-chemical parameters) were determined; the biofilms were observed in SEM. T-test was used for variables except viability (Wilcoxon test) (p<0.05).

**Results:** Yeast viability was higher in sucrose than in NaCl only in dual-species biofilm (median: 2.95x10<sup>6</sup> and 1.67x10<sup>6</sup> CFU/mL respectively; p<0.0001). On the contrary, bacteria viability was higher in NaCl than in sucrose (median: 4.1x10<sup>8</sup> and 2.9x10<sup>8</sup> CFU/mL, respectively; p<0.0001). The number of hyphae developed by the yeast was higher in sucrose (p<0.05) only in dual-species biofilm. The pH values in the course of time (approx. 142h) in NaCl condition remained around neutral values versus acidic values in sucrose (p<0.05) in both biofilms. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production was around 3 mM in dual-species biofilm in both conditions, but was less than 0.5 mM in *C. albicans* biofilm. Only in dual-species biofilm was a difference in the percentage of loss of superficial microhardness (% demineralization) between the two conditions under study (p<0.05).

**Conclusion:** Excess sugar modifies the biological and physico-chemical parameters of single- and dual-species biofilms of *C. albicans* and *S. sanguinis*. It seems that the bacterium prevents pronounced drops in pH in the sucrose condition and stimulates the development of hyphae in the yeast.

Keywords: *Streptococcus sanguinis*, *Candida albicans*, dual-species biofilm, single-species biofilm, excess sugar  
Financing: Project FIOUCH 0322, Faculty of Dentistry, University of Chile.



Tipo de presentación: Comunicación oral

## **Evolution and current status of Infectious Salmon Anemia (ISAV) in Chile**

### **Evolución y estado actual de la Anemia infecciosa del Salmon (ISAV) en Chile**

**Marcos Godoy**<sup>1,2</sup>, Marco Montes de Oca<sup>1</sup>, Juan Pablo Pontigo<sup>2</sup>, Diego Caro<sup>1</sup>, Rudy Suárez<sup>4</sup>, Molly Kibenge<sup>3</sup>, Fred Kibenge<sup>3</sup>

(1) Centro de Investigaciones Biológicas Aplicadas (CIBA), Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt 5480000, Chile

(2) Universidad San Sebastián, Laboratorio Institucional, Facultad Ciencias de la Naturaleza, Medicina Veterinaria, Las Malvillas 341, Puerto Montt, Chile

(3) University of Prince Edward Island, Department of Pathology and Microbiology, Atlantic Veterinary College, 550 University Ave, Charlottetown, Canadá

(4) Universidad Católica del Norte, Programa de Magíster en Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

### **Introducción**

La Anemia Infecciosa del Salmón (ISA) es una enfermedad viral que afecta al Salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y es causada por el virus de la ISA. El primer reporte clínico de ISA en Chile se registró en el año 2007 y estuvo asociado al genotipo europeo, EUG-3. En este estudio, se analizaron las características epidemiológicas, patológicas y la evolución de la enfermedad hasta el año 2023.

### **Métodos**

Para llevar a cabo el estudio, se sistematizaron los registros oficiales de casos relacionados con la epidemiología, patología y epidemiología molecular de la ISA en Chile. Además, se incluyeron los registros patológicos y el estudio genético del último brote registrado en Chile en 2023. Posteriormente, se realizaron análisis filogenéticos de secuencias nucleotídicas, alineamientos de secuencias aminoacídicas para la región de clivaje de la proteína de fusión, y la región altamente polimórfica (HPR) de la proteína hemaglutinina-esterasa.

### **Resultados**

El análisis de casos revela que la prevalencia máxima de casos clínicos se registró durante 2008 y 2009, disminuyendo considerablemente desde 2012 hasta la fecha. Por otro lado, los casos clínicos no evidencian una variación en la presentación patológica macroscópica e histopatológica. El análisis de las secuencias del ISAV revela que el virus presente en Chile corresponde al genotipo Europeo (EUG3). En el caso de 2023, el análisis de las secuencias para la proteína de fusión no presenta el inserto de 11 aminoácidos (IN4) descrito en el primer brote de 2007. Las secuencias aminoacídicas de la región altamente polimórfica (HPR) de la proteína hemaglutinina-esterasa (HE) determinan que pertenecen a la variante HPR7b. El análisis filogenético de las secuencias nucleotídicas pertenecientes a este brote (HPR7b) se ubica en un clúster que corresponde a la variante HPR0.

### **Conclusión**

Posterior al brote que se inició en el año 2007 y se extendió hasta el año 2010, se han registrado casos clínicos de forma esporádica. El análisis de las secuencias del ISAV evidencia que el virus presente en Chile corresponde al genotipo Europeo, específicamente el EUG3. El análisis filogenético del virus reportado en el año 2023 muestra una estrecha relación con variantes de baja virulencia (HPR0).

Keywords: salmon, diseases, ISA, ISAV, virus

Financing: Centro de Investigaciones Biológicas Aplicadas (CIBA)

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Piscine orthoreovirus-3a induces apoptosis and antiviral immune responses in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) erythrocytes ex vivo**

**Carlos Loncoman**<sup>1</sup>, Laura Solarte-Murillo<sup>1</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Edificio Ciencias 2, torre norte, cuarto piso, Capus Isla Teja, Valdivia, Chile

Fish erythrocytes are nucleated and transcriptionally active, playing a significant role in both gas transport and the immune response. Erythrocytes are the primary target of the Piscine orthoreovirus (PRV), which is known to cause heart and skeletal muscle inflammation (HSMI) in Atlantic salmon, and are also associated with circulatory disorders in salmonid species. PRV affects the salmon aquaculture industry and poses a risk to wild fish species. In Chile, the coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) industry is most affected by the PRV-3 genotype. This genotype is correlated with both HSMI-like disease and jaundice syndrome, although the causality of the latter has not been proven and the mechanism underlying the infection of PRV-3 in coho salmon erythrocytes is poorly understood. In this study, we investigated the effect of the PRV-3 genotype isolated from coho salmon with clinical signs of jaundice syndrome on naïve erythrocytes using ex vivo culture. We found that coho salmon erythrocytes support PRV-3 replication, with a maximum peak at 14- and 21-days post-infection. Infected erythrocytes ex vivo exhibit a decrease in cell metabolism and display morphological changes related to apoptosis. The infection promoted apoptosis of coho salmon erythrocytes ex vivo, as confirmed by annexin V/PI assay using flow cytometry. Additionally, during PRV-3 infection of coho salmon erythrocytes, the antiviral immune response in terms of mRNA of IFN $\alpha$ , RIG-I, Mx, PKR, Viperin, ISG-15, MHC-I, and MHC-II genes was upregulated. Our study provides the first evidence that PRV-3 infection induces apoptosis and an antiviral response in coho salmon erythrocytes using ex vivo culture, which may play a role in virus transmission.

Keywords: Apoptosis, Piscine orthoreovirus 3, Jaundice Syndrome

Financing: Fondecyt 11230556

Acknowledgments: fondecyt 11230556, Doctorado en Biología Celular y Molecular

Tipo de presentación: Comunicación oral

**AMR surveillance program in national salmon farming: Milestones and achievements in 10 years**

**Programa de vigilancia de la RAM en la salmonicultura nacional: Hitos y logros a 10 años de su inicio**

**Cristian Valenzuela**<sup>1</sup>, María Eugenia Loy<sup>1</sup>, Claudia Spinetto<sup>1</sup>, Felipe Pontigo<sup>1</sup>

(1) Instituto de Fomento Pesquero, Departamento de Salud Hidrobiológica, Balmaceda 252, Puerto Montt, Chile

En el siglo XXI, el reconocimiento de la acuicultura por su contribución esencial a la seguridad alimentaria y la nutrición mundial ha ido en aumento, sin embargo, a fin de lograr una actividad acuicultora sostenible, inclusiva y equitativa es necesario acelerar los cambios transformadores en las políticas, la ordenación, la innovación y la investigación científica.

Las enfermedades son la mayor amenaza para la producción de animales acuáticos, y los antimicrobianos seguirán siendo en el mediano plazo, las herramientas terapéuticas de elección para su control, siendo su uso responsable, no solo una obligación para disminuir los impactos de las actividades productivas en los ecosistemas marinos, sino un resguardo de la eficacia de dichas sustancias.

El programa de investigación asociado a la vigilancia de la resistencia bacteriana a antimicrobianos en la salmonicultura chilena, desarrollado por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) ha representado un apoyo en la compleja resolución de la problemática del control de enfermedades en acuicultura, desarrollando una vigilancia y análisis de las tendencias de la susceptibilidad bacteriana en la salmonicultura, frente a los agentes antimicrobianos utilizados en esta industria.

En casi una década de ejecución, el programa ha desarrollado técnicas microbiológicas para la evaluación de la susceptibilidad de las principales bacterias patógenas en la salmonicultura, como *Renibacterium salmoninarum*, *Flavobacterium psychrophilum* y *Piscirickettsia salmonis*. Asimismo, se han generados valores de corte epidemiológico (COWt) que han permitido la clasificación de los aislados bacterianos y la vigilancia del fenómeno RAM a lo largo del tiempo y en diferentes zonas geográficas.

Por otro lado, en los últimos años, la vigilancia con técnicas microbiológicas se ha complementado con la detección de genes de resistencia y de elementos genéticos móviles, y se ha ampliado a la evaluación de susceptibilidad a antimicrobianos de las bacterias de la microbiota intestinal de los peces de cultivo, en la búsqueda de tener una representación más amplia del fenómeno de resistencia bacteriana a nivel ecológico.

Además de los principales, resultados e hitos del programa, se presenta un análisis de las tendencias observadas a lo largo de la ejecución de las diferentes etapas del programa de investigación.

Keywords: salmonicultura, vigilancia RAM, IFOP

Financing: Ministerio de Economía, Fomento y Turismo y Subsecretaría de Pesca y Acuicultura

Tipo de presentación: Comunicación oral

### Improving the health in Chilean cattle through the *Mycobacterium bovis* BCG Vaccine

**Patricio Retamal Merino**<sup>1</sup>, Catalina Contreras Cortés<sup>1</sup>, Renata López<sup>2</sup>, Valentina Villarroel<sup>1</sup>, Oscar Crespo<sup>1</sup>, Nicolás Valdivieso<sup>3</sup>, Pedro Ábalos<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Medicina Preventiva Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Av Sta Rosa 11735 La Pintana, Santiago, Chile

(2) Magister en Ciencias Animales y Veterinarias, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Av Sta Rosa 11735 La Pintana, Santiago, Chile

(3) Servicio Agrícola y Ganadero, Coyhaique, Chile

Bovine tuberculosis (bTB) is an endemic infectious disease mainly caused by *Mycobacterium bovis*, which has negative impacts on the economy due to the loss of animals and products, as well as on public health due to its zoonotic risk. The Agricultural and Livestock Service (SAG) has implemented a national program for the control and eradication of the disease. However, in central Chile the test and slaughter strategy is not supported by all dairy producers, due to the lack of compensations. For the study of a complementary strategy, since 2017 the *M. bovis* BCG vaccine, officially authorized for human use, has been experimentally applied in dairy herds with high bTB prevalence, in the Chilean Metropolitan Region. Around 700 new born calves have been vaccinated subcutaneously in the neck with  $2-8 \times 10^5$  colony forming units (CFU) (0,1 mL) of BCG Russia strain. Another equivalent group of animals have been enrolled as a non-vaccinated control group. Animals were followed up through blood sampling for developing the Interferon gamma release assay with ESAT-6/CFP-10 and Rv3615c peptide cocktails, to determine *M. bovis* infection. In addition, feces from a group of animals were analyzed for the presence of viral and bacterial pathogens, and sanitary post-partum records were analyzed to identify non-specific BCG effects in animals. As results, the vaccination of calves conferred significant protection against bovine tuberculosis, and sanitary records during the first lactation period (Somatic cell counts, clinical mastitis, retained placenta) suggests non-specific protection from BCG. In conclusion, BCG can induce specific protection, but non-specific sanitary effects can also be observed, at least during the first lactation period of animals. These results support the implementation of BCG vaccine as a complementary strategy for bovine tuberculosis control, especially in dairy herds with a high prevalence of the disease.

Keywords: BCG, *Mycobacterium bovis*, Cattle, Chile

Financing: Fondecyt 1221818

Acknowledgments: We thank Natalie Hultazo, Angela Ortíz, María Isabel Stevenson for their support in laboratory and fieldwork procedures

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Novel PLGA-based nanocomplex for Salmonid rickettsial septicemia treatment**

**Felipe Velásquez<sup>1</sup>**, Mateus Frazao<sup>1</sup>, Arturo Diez<sup>1</sup>, Marcelo Alvarez<sup>2</sup>, Jaime Rivas-Pardo<sup>1</sup>, Manuel Ahumada<sup>2</sup>, Sebastian Reyes-Cerpa<sup>1</sup>

(1) Universidad Mayor, Laboratorio de genómica microbiana e inmunogenómica, Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Cam. La Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile

(2) Universidad Mayor, Centro de Nanotecnología Aplicada, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Cam. La Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile

*Piscirickettsia salmonis* is the causative agent of piscirickettsiosis or salmonid rickettsial septicemia (SRS), a disease primarily affecting farmed salmonid species. SRS has emerged as a severe health concern for the Chilean salmon industry, given its aggressive nature, recurrent outbreaks, and widespread transmission among cultivated salmonid species. In 2018, *P. salmonis*-associated mortalities accounted for 54.7% and 83.3% of infectious causes in Atlantic salmon and rainbow trout, respectively. Efforts to control and prevent *P. salmonis* infections have centered on antibiotics and vaccines. However, as an intracellular pathogen, infected salmonids exhibit poor responses to treatment, largely due to the limited penetration of antibiotics into the intracellular niche, impeding effective bacterial elimination and exacerbating the use of antibiotics in aquaculture.

In our laboratory, we have demonstrated that Latex-based IgM-beads elicits a decrease in bacterial-induced cytotoxicity in infected Atlantic salmon macrophages (SHK-1 cells) and reduce the bacterial loads. To develop more efficient treatments for SRS, we are now developing a biocompatible system based in poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as a novel efficient treatment for SRS. In biomedicine, PLGA is broadly used as a delivery system and in our study, we are developing a PLGA nanosystem to deliver florfenicol into SHK-1 cells. We synthesized florfenicol-loaded PLGA nanoparticles, studied the antibiotic release dynamics, and evaluate their impact on bacterial culture. Additionally, using fluorescent microscopy we assess the internalization ability of the IgM-PLGA nanosystem in SHK-1 cells. In parallel, we evaluate nanosystem cytotoxicity by measuring lactate dehydrogenase (LDH) release in the SHK-1 culture supernatant, and analyze immune response activation by quantifying the expression of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, as well as transcript expression related to the lysosomal response. Finally, we determine the impact of the treatment with our nanosystem on the bacterial load in SHK-1 cells infected with *P. salmonis* by quantifying 16S rDNA copies through qPCR.

This work opens new possibilities for the treatment of intracellular pathogens, not just for fish infections but also for other models and proposes efficient uses of antibiotics.

**Keywords:** *Piscirickettsia salmonis*, Nanosystem, Macrophages, Atlantic salmon

**Financing:** This work is supported by ANID Subdirección de Investigación Aplicada FONDEF ID22I10211

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Poly(ethylene imine)-Chitosan Carbon Dots: Synthesis, characterization, and potential use in antibacterial treatments**

Nicolás Santos<sup>2</sup>, Igor Osorio-Roman<sup>4</sup>, Paula Santana<sup>3</sup>, Macarena Arrázola<sup>5</sup>, **Manuel Ahumanda Escandon**<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Mayor, Centro de Nanotecnología Aplicada, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Camino La Pirámide 5750, Santiago, Chile

(2) Universidad Mayor, Escuela de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Camino La Pirámide 5750, Santiago, Chile

(3) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Químicas Aplicadas, el Llano Subercaseaux 2801, Santiago, Chile

(4) Universidad Austral de Chile, Instituto de Ciencias Químicas, Facultad de Ciencias, Isla Teja s/n, Valdivia, Chile

(5) Universidad Mayor, Centro de Biología Integrativa, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Camino La Pirámide 5750, Santiago, Chile

There is an urgent worldwide call for the search for new antibacterial agents that can respond to the advancement of multidrug-resistant bacteria strains. In this line, nanotechnology has emerged as one of the most relevant fields to answer this problem. However, the expansive development of different types of nano-formulations as possible solutions to this problem has put aside other pertinent parameters that could allow further technological advancement (such as antibacterial activity vs biocompatibility). Among the nanomaterials intended for nanomedicine, carbon dots (CDs) have been quickly extended because of their multiple applications, such as bioimaging, sensors, and drug delivery. However, the interest in increasing some properties is only sometimes accompanied by cytocompatibility or biological activity, such as antibacterial properties. In this work, we have developed carbon dots (CDs) based on poly (ethylene imine) (PEI) and chitosan (CS) by using microwave irradiation, hydrothermal synthesis, and a combination of both, and further characterized them by physicochemical and biological means. Our results indicate that CDs have sizes between 1 to 5 nm, a high presence of amine groups on the surface, and increased positive  $\zeta$  potential values. Further, it is established that the choice and use of different synthesis procedures can contribute to a different answer to the CDs regarding their optical and biological properties. In this regard, PEI-only CDs showed the most extended photoluminescent emission lifetime, non-hemolytic activity, and high toxicity against fibroblast. On the other hand, CS-only CDs have higher photoluminescence emission, non-cytotoxicity associated with fibroblast, and high hemolytic activity. Interestingly, their combination using the proposed methodologies allow a synergic effect in their CDs properties. Furthermore, most of the CD's formulations showed antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus*, with a higher registered activity in the presence of daylight, which is attributed to their photosensitizing capacity. In addition, some of the lower MIC values reported for CDs formulations are presented. Therefore, this work contributes to developing and characterizing CD formulations based on PEI and CS and better understanding the CD's properties and biological interaction.

Keywords: Nanotechnology, Carbon dots, phototherapy, antibacterial

Financing: FONDEF IDeA ID22I10211

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Genetic engineering for bioprocess applications to improve recombinant protein expression in *Komagataella phaffii***

**Ingeniería genética aplicada a bioprocesos para mejorar la expresión de proteínas recombinantes en *Komagataella phaffii***

**Stephanie Braun Galleani<sup>1</sup>**, Benjamin Offei<sup>2</sup>, Kevin Byrne<sup>2</sup>, Kenneth Wolfe<sup>2</sup>

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

(2) University College Dublin, UCD Conway Institute and School of Medicine, Dublin, Irlanda

*Komagataella phaffii* (previamente conocida como *Pichia pastoris*) es una levadura ampliamente utilizada en aplicaciones biotecnológicas para la expresión de proteínas heterólogas. *K. phaffii* ha sido estudiada principalmente utilizando cepas derivadas de un único aislado natural (CBS7435); por lo tanto, existe un conocimiento limitado sobre la diversidad genética de la especie. El análisis de la variabilidad genética ofrece una oportunidad no explorada en esta especie de identificar alelos beneficiosos en aislados naturales que podrían ser incorporados en cepas de laboratorio, de modo de generar plataformas productivas mejoradas, tanto para la generación de proteínas recombinantes como para su desempeño en bioprocesos de mayor escala.

Se realizó un análisis exhaustivo mediante la secuenciación de los genomas de todos los aislados naturales conocidos y la realización de cruce genético entre derivados de diferentes aislados. Se utilizó análisis de tétradas para explorar la recombinación meiótica, aprovechando las características de apareamiento únicas de sus células haploides. Posteriormente, se realizaron cruces entre CBS7435 y dos aislados para estudiar el fenotipo de secreción de la proteína heteróloga  $\beta$ -glucosidasa mediante análisis de locus de caracteres cuantitativos (QTL).

Se determinó una variación genética sustancial (44.000 SNPs) entre los aislados estudiados, identificando efectivamente la existencia de solo cuatro aislados naturales en las colecciones públicas. Además, se determinó una tasa de recombinación meiótica 3.5X menor que en *S. cerevisiae*, con una supresión significativa de la recombinación y una baja diversidad genética cerca de las regiones centroméricas. Respecto al estudio de secreción de  $\beta$ -glucosidasa, el análisis de QTL permitió identificar un QTL importante relacionado con una mutación en *HOC1*, reflejado en una pared celular más débil y una mayor secreción de proteínas en CBS7435, en comparación con otros aislados. Además, se encontró un segundo QTL asociado con una sustitución aminoacídica en *IRA1*, resultando en un aumento de 3X en la secreción de  $\beta$ -glucosidasa.

La diversidad genética y la dinámica de recombinación identificadas para *K. phaffii*, sumado a la utilidad del análisis de QTL permiten esclarecer la base genética de ciertas características de relevancia biotecnológica en esta especie, ofreciendo una alternativa prometedora para mejorar su rendimiento y proyección industrial.

Keywords: *Komagataella phaffii*, recombinant protein, QTL

Financing: Science Foundation Ireland (13/IA/1910), European Research Council (789341) y ANID-Fondecyt (11200933).

Tipo de presentación: Comunicación oral

### Evaluation of volatile organic compounds (VOCs) emission by biocontrol yeast consortium against fungal plant pathogens

### Evaluación de la emisión de compuestos orgánicos volátiles (VOCs) de un consorcio de levaduras con acción biocontroladora sobre hongos patógenos de interés agrícola

**Mariajose Carvajal Contardo**<sup>1</sup>, Daniela Catrileo<sup>1</sup>, Olga Marín<sup>2</sup>, Felipe Aceituno<sup>2</sup>, Liliana Godoy<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Laboratorio de Genética y Microbiología de Levaduras. Departamento de Fruticultura y Enología, Avenida Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

(2) Zera. Innovating pesticides, Santiago, Chile

Los microorganismos con acción biocontroladora frente a hongos fitopatógenos pueden ser una alternativa al uso de fungicidas sintéticos. Se ha descrito que las levaduras, mediante diferentes mecanismos, como emisión de compuestos orgánicos volátiles (VOCs), producción de enzimas, competencia por espacio y/o nutrientes, disminuyen el crecimiento de hongos de importancia agrícola. El objetivo de este trabajo fue evaluar la emisión de VOCs de un consorcio de levaduras con acción biocontroladora sobre hongos fitopatógenos y analizar su capacidad de biocontrolar en condiciones *in vivo*. Inicialmente, se evaluó el efecto biocontrolador del consorcio sobre 7 diferentes hongos, mediante el cálculo del porcentaje de inhibición de crecimiento (PDI) y el porcentaje de esporas viables (PEV). Posteriormente, se identificaron y cuantificaron los VOCs, producidos por el consorcio, mediante GC-MS. Finalmente, se realizó un ensayo *in vivo* en plantas de tomate donde se aplicaron 5 tratamientos preventivos: control (C), fungicida químico (FQ), fungicida biológico (FB), sumergir las raíces en el consorcio (LS) y aplicación del consorcio en riego (LR). Luego de 7 días se inoculó *Fusarium* como patógeno. Se calculó la incidencia de la enfermedad y se registró la altura, contenido de clorofila y peso total. Relativo al efecto biocontrolador *in vitro*, el consorcio disminuyó el PDI un 25,62% en *Alternaria*, 25,20% en *Botrytis* y 22,12% en *Fusarium*. El PEV disminuyó en *Penicillium* y *Alternaria* un 89,24% y 72,71% respectivamente, mientras que para *Fusarium* y *Botrytis* un 20,04% y 26,33%. Con respecto a los VOCs, las levaduras emitieron volátiles de la familia de las cetonas, ácidos y alcoholes con mayor abundancia, además de furanos, hidrocarburos, que han sido reportados por su acción biocontroladora. En el ensayo *in vivo*, la incidencia de la enfermedad del tratamiento LS fue un 30% menor respecto del control. Por otro lado, el peso total fue mayor en los tratamientos LS y FQ con 85 y 76 g respectivamente y la mayor altura la obtuvo LS, promediando 48,2 cm. Los resultados sugieren que el consorcio de levaduras emite VOCs con acción antagónica frente a hongos fitopatógenos, y en condiciones *in vivo* disminuye la incidencia de la enfermedad y promueve el crecimiento vegetal.

Keywords: Biocontrol yeasts, Yeast consortium, Fungal plant pathogens, Volatile organic compound

Financing: Proyecto CORFO 22CVC-206567



Tipo de presentación: Comunicación oral

**Exploring the membrane fusion mechanism of the haloarchaeal virus HRPV-6 infecting its cellular host *Halorubrum* sp. SS7-4**

**Kevin Chou**<sup>1</sup>, Nicole Tichler<sup>1,2</sup>, Eduardo Bignon<sup>1,2</sup>, Paulo Lizana<sup>1,2</sup>

(1) Fundación Ciencia y Vida, Virología Molecular, Av del valle 725, Huechuraba, Santiago, Chile

(2) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Santiago, Chile

Viruses use different strategies to enter the host cell. Enveloped viruses use a membrane fusion mechanism for cell entry, that has been widely described in eukaryotes, but is still unknown how this entry mechanism has surged and evolved. The *Pleolipoviridae* family includes enveloped viruses that infect halophilic archaea. Recently we have demonstrated that the infection of cells by *Halorubrum pleomorphic* virus-6 (HRPV-6), a member of this viral family, involves a virus-cell membrane fusion process induced by the viral spike protein (VP5) to infect its host cell (*Halorubrum* sp. SS7-4).

To study the fusion mechanism of VP5, we established a heterologous expression system of the VP5 fusion protein in native conditions. Using a R18 fluorophore dequenching assay, the fusion activity of the recombinant VP5 protein was tested *in vivo* by cell-cell fusion assays. A higher level of lipid mixing was obtained when expressed in *H. volcanii* compared to *Halorubrum* sp. SS7-4, particularly at 55°C. Furthermore, we established a cell-free membrane fusion assay under native conditions (3.91 M NaCl, pH7.5, 37°C) for HRPV-6 by reconstituting the cellular S-layer from *Hrr. sp. SS7-4* onto a proteoliposome system. This phenomenon did not occur in the presence of proteoliposomes highly enriched in S-layer glycoprotein from *H. volcanii*, highlighting the specificity of a host S-layer component as viral fusion trigger.

Together, we have developed a heterologous virus-receptor system *in vitro* for diverse haloarchaea that allows for the identification of minimal components of membrane fusion, and which clearly suggests that a component of the S-layer extract of *Halorubrum* sp. SS7-4 corresponds to the physiological fusion trigger of HRPV-6. The heterologous expression system will further allow us to obtain mechanistic insights into the fusion mechanism of the HRPV-6 VP5 protein.

Keywords: Virology, Microbiology, Cell-Cell Fusion, Heterologous Expression, Extremophiles

Financing: Volkswagen Foundation REF 98 190 (Germany) and ANID (Chile) grants FONDECYT 1221811 and Centro Ciencia & Vida BASAL FB210008 (Excellence Center)

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Characterization of the acid-sensitivity of hantavirus Gn/Gc glycoproteins in the Golgi apparatus and endoplasmic reticulum**

**Fabian Figueroa**<sup>1,2</sup>, Nicole Tischler<sup>1,3</sup>

(1) Fundación Ciencia & Vida, Centro Ciencia & Vida, Laboratorio Virología Molecular, Av. del Valle Norte 725, Santiago, Chile

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

(3) Universidad San Sebastián, Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina y Ciencia, Lota 2465, Santiago, Chile

#### **Background**

The hantavirus Gc glycoprotein forms part of a hetero-octameric Gn/Gc spike complex and is responsible for inducing the virus-cell membrane fusion during viral entry into host cells. A key factor for this process is the exposure of Gc to mildly acidic pH, which triggers an irreversible conformational change of the Gn/Gc spike into a Gc homotrimer characterized by its high stability, SDS resistance and digestion by trypsin. Yet it remains to be determined, if a mechanism of resistance exists that avoids triggering of Gc while trafficking through the mildly acidic secretory pathway which however is lost once the virus is outside the cell.

#### **Methods:**

We enriched fractions of rough endoplasmic reticulum (RER) or Golgi apparatus (GA) of Andes virus Gn/Gc expressing cells using calcium chloride precipitation and sucrose gradients, respectively. Each of these fractions is exposed to pH 5.5 to evaluate the induction of stable Gc<sub>3</sub> homotrimers by either semi-NATIVE page or by digestion with trypsin.

#### **Results:**

We were able to generate enriched fractions of RER and GA that also contained Gn and Gc. We identified some species of Gc that migrate with the same size of Gc<sub>3</sub> in both, RER, and GA. These migration species are however not resistant to the digestion with trypsin.

#### **Conclusion**

Our data supports the notion that Gc is present in fractions enriched with RER or Golgi which however upon acid-activation is not capable to undergo a conformational change into a stable Gc post-fusion homotrimer. This suggests the presence of a mechanism that prevents the premature activation of the Gc protein through the secretory pathway.

Keywords: Hantavirus, Fusion-Protein, Viral-like-Particle, Organelle-Enrichment, Glycoproteins

Financing: Funding: Funding: ANID (Chile) grants FONDECYT 1221811 and Centro Ciencia & Vida BASAL FB210008 (Excellence Center). PhD fellowship from UNAB to FF.

Acknowledgments: To Ph.D. Nicole Tischler and her laboratory in the daily work. To Ph.D. Alfonso González and Ph.D. Claudio Retamal for guidance in subcellular fractionation protocols. To UNAB for my fellowship.

Tipo de presentación: Comunicación oral

***Arthrobacter vasquezii*: a new bacterial species isolated from Antarctica named in honor of the Chilean microbiologist Dr. Claudio Vásquez**

***Arthrobacter vasquezii*; una nueva especie aislada de la Antártica nombrada en honor al microbiólogo chileno Dr. Claudio Vásquez.**

Felipe Valenzuela-Ibaceta<sup>1</sup>, Valentina Carrasco<sup>1</sup>, Lagos-Moraga Sebastián<sup>1</sup>, Claudio Dietz-Vargas<sup>1</sup>, Claudio Navarro<sup>1</sup>, **Jota Pérez-Donoso<sup>1</sup>**

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

La Antártica es un continente poco explorado a la fecha y constituye un tesoro biológico por la presencia de organismos únicos. En este sentido, resultan de especial interés zonas de la Antártica que presentan condiciones hiper extremas para la vida, como el Glaciar Unión en los montes Ellsworth.

Durante la expedición Antártica al Glaciar del año 2016 (ECA53) tomamos muestras de suelo de zonas caracterizadas por sus bajas temperaturas (< -15 °C), alta radiación UV, ausencia de agua líquida y materia orgánica. A partir de estas muestras aislamos una bacteria (EH-1B-1<sup>T</sup>) que llamo la atención por su capacidad de crecer en medios de cultivo mínimos, y su resistencia a metales, entre ellos la sal tóxica Telurito de Potasio. Esta bacteria es no motil, Gram (+) y catalasa positiva, con un ciclo de bacilo-coco. La cepa tiene una temperatura de crecimiento óptima de 28 °C y crece a pH entre 7 y 10. Los principales ácidos grasos celulares son anteiso-C15:0, iso-C15:0, C16:0, y anteiso-C17:0. El contenido de G+C basado en la secuencia completa del genoma fue del 63,1%. La cepa EH-1B-1<sup>T</sup> está más estrechamente relacionada con miembros del género *Arthrobacter* como *Arthrobacter subterraneus* y *Arthrobacter tumbae*. EH-1B-1<sup>T</sup> crece en medio TSA, R2A, LB y NA. Los valores promedio de ANI y dDDH entre la cepa EH-1B-1<sup>T</sup> y sus cepas tipo de referencia más cercanas oscilaron entre 78 y 88%, y entre 20,9 y 36,3%, respectivamente. De este modo, en base a la evidencia fenotípica, quimiotípica y genotípica, se determinó que la cepa EH-1B-1<sup>T</sup> representa una nueva especie de *Arthrobacter*. Esta nueva cepa fue nombrada como *Arthrobacter vasquezii* sp. nov. en honor al microbiólogo chileno Dr. Claudio Vásquez, científico que destacó por su gran calidad humana y además por ser un referente de investigación en el área de la resistencia bacteriana a metales, principalmente telurito, la que permitió la formación de 89 investigadores (6 posdocs, 30 tesis de doctorado, 9 tesis de magister, y 44 tesis de pregrado). La cepa EH-1B-1<sup>T</sup> se depositó en CChRGM y BCCM/LMG con los códigos RGM 3386 y LMG 32961, respectivamente.

Keywords: *Arthrobacter vasquezii*, Claudio Vásquez,,Antártica resistencia a metales, nueva especie bacteriana

Financing: Fondecyt 1200870

Tipo de presentación: Comunicación oral

### **Genomic Epidemiology of SARS-CoV-2 in Chile (2020-2023)**

**Ignacio Ramos-Tapia**<sup>1,3</sup>, Lissette Ulloa<sup>2,3</sup>, Francisco Fuentes<sup>1,3</sup>, Carolina Ramirez<sup>2,3</sup>, Catalina Pavez<sup>2,3</sup>, Cecilia Vial<sup>2,3</sup>, Juan Ugalde<sup>1,3</sup>

(1) Universidad Andres Bello, Centro de Bioinformatica y Biología Integrativa, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile  
(2) Universidad Del desarrollo, Programa Hantavirus y Zoonosis, Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Clínica Alemana, Avenida Plaza 680, Las Condes, Santiago, Chile  
(3) Universidad del Desarrollo, GENomic Epidemiology in Emergent Diseases (GENE2DIS), Proyecto Anillo ATE220061, Santiago, Chile

Until recently, genomic surveillance of SARS-CoV-2 was a priority among several countries worldwide, including Chile. Particularly in Chile, surveillance efforts were focused on PCR tests, reaching 40,812,485 to date, and on massive sequencing.

Up to this date, 45,465 genomes from Chile are available in the GISAID database (out of 15 million available worldwide). To study the evolution and distribution of SARS-CoV-2 variants, we performed a phylogenomic analysis of all available Chilean genomes (up to August 2023). First, genome sequences were aligned against the reference genome (WIV04) using MAFFT (v7.505) with *parttree* parameter. The resulting alignment was used to generate a Maximum Likelihood phylogeny with FastTree 2.1.11, with a GTR substitution model and double precision. The *ggtree* package in R (v3.2.1) is used for visualization and manipulation of phylogenetic distances with metadata.

These results are the first analysis of all genomic data from Chile to date. The analysis shows the temporal distribution of lineages in Chile, with no separation between region or macro-region. In addition, supports the observations that the omicron variant is the predominant variant of interest (VOI) in Chile. Furthermore, these results show that the FL.2 variant has increased in prevalence since April 2023 and we have not observed the new EG.5 variant, with the data available to date.

We believe that it is of vital importance to continue with the epidemiological and in this case genomic surveillance of SARS-CoV-2, in order to anticipate the evolution, generation of new variants and waves of infections.

Keywords: Genomics, Surveillance, Diseases, SARS-CoV-2

Financing: GENomic Epidemiology in Emergent Diseases (GENE2DIS), Proyecto Anillo ATE220061, Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile.

Acknowledgments: GENomic Epidemiology in Emergent Diseases (GENE2DIS), Proyecto Anillo ATE220061, Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile.

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Neutralization of different variants of SARS-CoV-2 by an equine sera immunized with the viral receptor binding domain**

**Neutralización de diferentes variantes del SARS-CoV-2 mediante un suero equino inmunizado con el dominio de unión al receptor viral**

**Mariajose Rodriguez Nuñez<sup>1</sup>**, Mariana del Valle Cepeda Briceño<sup>2</sup>, Miguel Lopez<sup>2</sup>, Carlos Bello<sup>2</sup>, Yoneira Faviola Sulbaran<sup>1</sup>, Carmen Luisa Loureiro<sup>1</sup>, Ferdinando Liprandi<sup>3</sup>, Rossana Celeste Jaspe<sup>1</sup>, Flor Pujol<sup>1</sup>, Hector Rangel<sup>1</sup>

(1) Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Centro de Microbiología y Biología Celular, Laboratorio de Virología Molecular, Km 11, Carretera Panamericana, San Antonio de los Altos, Miranda, Venezuela

(2) Biotecfar C.A, Universidad Central de Venezuela, Facultad de Farmacia, Los Chaguaramos., Caracas, Venezuela

(3) Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Centro de Microbiología y Biología Celular, Laboratorio de Biología de Virus, Km 11, Carretera Panamericana, San Antonio de los Altos, Miranda, Venezuela

El dominio de unión al receptor (RBD) del SARS-CoV-2, el virus responsable de la pandemia de COVID-19, es la región funcional de la proteína de la espiga (S), la cual se encuentra involucrada en la unión celular a las células diana. Durante la pandemia, el virus ha acumulado progresivamente mutaciones en su genoma, particularmente en la región RBD, muchas de ellas asociadas con la evasión inmune a los anticuerpos neutralizantes del huésped. Por lo tanto, la OMS clasificó los linajes virales derivados de esta evolución, como Variante de Interés (VOI) o Preocupación (VOC), las cuales, poseen características epidemiológicas, inmunológicas o patogénicas preocupantes. La producción de sueros equinos contra venenos de serpientes y escorpiones sentó las bases para producir un suero equino anti-SARS-CoV-2, mediante la inmunización de caballos con el antígeno RBD recombinante del virus, ya que se ha reportado una alta capacidad neutralizante en caballos después de un esquema repetido de inmunización. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar la actividad neutralizante de un suero equino hiperinmune producido en Venezuela, contra distintas variantes de Sars-CoV-2: ancestral (B.1.1.33), Gamma (P1), Delta (B.1.617.2), Omicron (BA.1.1) (VOCs) y una VOI Mu (B.1.621). Se evaluó la actividad neutralizante de fragmentos F(ab')<sub>2</sub> purificados a partir del suero de equino hiperinmune, con 5, 7 y 15 inmunizaciones, respectivamente. Para cuantificar la actividad neutralizante se realizaron ensayos de reducción de placas líticas, utilizando células Vero-E6 en un laboratorio de Bioseguridad nivel 3. Obtuvimos que la variante ancestral es la que presenta mayores títulos de neutralización entre los sueros (1/200 y 1/16000, respectivamente). También obtuvimos que la ampolla 3, que corresponde al preparado con 15 inmunizaciones, es la que presenta los títulos de neutralización mayores, sin embargo, se observó una reducción significativa, de dos y cuatro veces en el título frente a las diferentes variantes; aunque, el suero aún exhibió un título neutralizante significativo, contra Omicron (1/4000). Los títulos de neutralización obtenidos en cada suero, corresponden a niveles de anticuerpos neutralizantes cada vez mayores. Este estudio es el primero que reporta el potencial de un suero equino frente a variantes de Sars-CoV-2 aisladas en Venezuela.

Keywords: COVID-19, Variantes, Sueros equinos, Anticuerpos neutralizantes, Escape inmunológico

Financing: Este estudio fue apoyado por el Ministerio del Poder Popular de Ciencia, Tecnología e Innovación de Venezuela. También agradecemos a la Organización Panamericana de la Salud (OPS) por la donación de reactivos para la secuenciación NGS.

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Generation and evaluation of biocontrol yeast variants with a resistant phenotype at low temperatures for their application in postharvest conditions**

**Generación y evaluación de variantes de levaduras biocontroladoras con fenotipo resistente a bajas temperaturas para su aplicación en condiciones de poscosecha**

**Camilo Sepúlveda**<sup>1</sup>, Daniela Catrileo<sup>1</sup>, Liliana Godoy<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Laboratorio de Genética y Microbiología de Levaduras. Departamento de Fruticultura y Enología, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Avenida Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

Las frutas y hortalizas son productos altamente perecederos, especialmente durante la fase de poscosecha, siendo esta etapa de alto riesgo debido a contaminaciones fungosas. Para controlar esta contaminación se utilizan fungicidas y compuestos sintéticos, sin embargo, actualmente se busca disminuir su uso. En este sentido, una tecnología complementaria es el uso de controladores microbianos, entre los que destacan las levaduras. Estos microorganismos antagonistas han sido estudiados como método de control, mostrando eficacia en el control biológico de patógenos. El objetivo de este trabajo fue obtener variantes, mediante la estrategia de evolución adaptativa (ALE), de levaduras biocontroladoras con fenotipos resistentes a bajas temperaturas, y analizar su efecto antagonista contra *Botrytis cinerea*. Inicialmente, mediante la técnica ALE, se obtuvieron dos variantes capaces de crecer a 12 °C y 4 °C, respectivamente. Para analizar la capacidad antagonista de las variantes obtenidas contra *B. cinerea* se realizó el ensayo doble placa a 15 °C y 5 °C. Los resultados obtenidos demostraron un mayor control sobre el hongo *B. cinerea* con las variantes YCPUC116-A e YCPUC14-A a 15°C, con un porcentaje de inhibición de crecimiento de 48,68% y 31,48%, respectivamente. Asimismo, la variante YCPUC116-A incrementó 1,62 veces su efecto inhibitorio comparado con su cepa original. A 5 °C, la variante YCPUC51-A aumentó su efecto inhibitorio 1,02 veces contra *B. cinerea* comparado con su cepa original. Los resultados sugieren que las variantes obtenidas mediante ALE muestran un fenotipo resistente a bajas temperaturas permitiendo reducir el crecimiento *in vitro* del hongo *B. cinerea*, en contraste con el uso de las cepas originales.

Keywords: Biocontrol yeast, Adaptative Laboratory Evolution, Low temperature, Postharvest, *Botrytis cinerea*  
Financing: Proyecto Corfo 22CVC-206537

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Biosorption capacity of Rare Earth Elements by *Exiguobacterium* sp. SH31 isolated from poly-extreme Salar de Huasco in Chilean Altiplano**

**Génesis Serrano**<sup>1,5</sup>, Jonathan Fortt<sup>2</sup>, Juan Castro-Severyn<sup>2</sup>, Rodrigo Castillo<sup>3</sup>, Claudia Saavedra<sup>4</sup>, Gabriel Krüger<sup>4</sup>, Claudia Núñez<sup>3</sup>, Francisco Remonsellez<sup>2,5</sup>, Karem Gallardo<sup>3</sup>

(1) Universidad Católica del Norte, Programa de Doctorado en Ingeniería Sustentable, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Angamos 0610, Antofagasta, Chile

(2) Universidad Católica del Norte, Departamento de ingeniería química, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Angamos 0610, Antofagasta, Chile

(3) Universidad Católica del Norte, Departamento de química, Facultad de Ciencias, Angamos 0610, Antofagasta, Chile

(4) Universidad Andrés Bello, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

(5) Universidad Católica del Norte, Centro de investigación tecnológica de agua en el desierto (CEITSAZA), Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Angamos 0610, Antofagasta, Chile

Rare-Earth Elements (REEs) are globally scarce metals considered critical and cannot be replaced with other metals because of some useful features. REEs are essential for high-tech industries, electronics, among others, therefore the REE demand is growing. It is essential to explore new and sustainable technologies to recover these metals from secondary sources. We aimed to determine the effects of REEs over the physiological performance and biosorption capacity of *Exiguobacterium* sp. SH31 isolated from Salar de Huasco. REE tolerance of the microorganism was analyzed between pH 7 and 8, and up to 1 mM of REE<sup>+3</sup>. EPS production was visualized by Congo red assays and quantitative analysis were done by UV-Vis technique. Functional groups involved in metal interaction were characterized by ATR-FTIR, and metal sorption analysis was analyzed by calculating %removal, Qmax and isotherm models. SH31 strain was able to tolerate up to 1 mM of REE<sup>+3</sup> at every pH analyzed. Congo red assay revealed EPS production at every condition, and quantitative analysis indicated that EPS increased in presence of Sm. ATR-FTIR characterization of EPS evidenced changes in wavelengths of OH and R-COO-, presumably due REE interaction. Metal adsorption reached values >75% at pH7 and >95% at pH7.5 and 8, Qmax value was about 23 mg/g for REE<sup>+3</sup> biosorption, and Langmuir isotherm fitted well for every metal sorption equilibrium. Genomic exploration of SH31 exhibited genes associated to EPS formation and maintenance. Finally, we demonstrated for the first time that SH31 strain can efficiently adsorb REEs.

**Keywords:** *Exiguobacterium* strain, Rare-earth elements, biosorption, Extracellular Polymeric Substances.

**Financing:** Proyecto de Fortalecimiento Programas Doctorado ANID 86220043. Beca de manutención para Postgrados, Universidad Católica del Norte 2023. Fondecyt de Iniciación N° 11230831.

**Acknowledgments:** Laboratorio de Análisis Fisicoquímico, Centro de Investigación Tecnológica del Agua y Sustentabilidad en el Desierto (CEITSAZA), Universidad Católica del Norte.



Todo lo que necesitas para el laboratorio de molecular encuéntralo en nuestra **TIENDA VIRTUAL**.

¿Quieres probar última tecnología? No te pierdas de visitar el **DEMO LAB**, escribiendo a **info@bikochile.com**

Próximamente: **BIKO NEWS**, el único newsletter que no querrás borrar.

Por último, prepárate para mayo... Se viene el primer **DIGITAL DAY**.

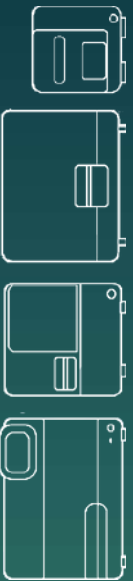
Gracias a todos por acompañarnos, nos vemos en la próxima edición.



[www.bikochile.com](http://www.bikochile.com)

Válido por una visita a nuestro

**DEMO LAB**





Tipo de presentación:

**Panel**

Tipo de presentación: Panel

**GMI-PAN: a bioinformatics tool for the detailed annotation of plasmids from *Klebsiella pneumoniae* and other bacterial pathogens**

**Joaquín Acosta**<sup>1</sup>, Camilo Berríos-Pastén<sup>1</sup>, Rosalba Lagos<sup>1</sup>, Andrés Esteban Marcoleta Caldera<sup>1</sup>

(1) Grupo de Microbiología Integrativa, Laboratorio de Biología Estructural y Molecular BEM, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile

The detection of bacterial pathogens resistant to multiple antibiotics and with increased virulence is currently one of the most critical threats to global health. The development of these strains depends, to a large extent, on the acquisition of virulence and resistance genes mediated by mobile genetic elements, where plasmids play a preponderant role. The increasing incorporation of massive DNA sequencing techniques and genomic tools for the surveillance of pathogenic strains has brought an explosive increase in the number of genomes to be analyzed in a short time. Therefore, tools are required to allow integrated annotation of plasmids, to identify genes and sequence elements of clinical relevance, or to predict their potential for dissemination. In this context, we developed GMI-PAN, an automated bioinformatics tool for the evaluation and annotation of antibiotic and metal resistance profiles, virulence factors and mobile genetic elements in prokaryotic assembled nucleotide sequences, optimized for the *Enterobacteriaceae* family. GMI-PAN was written in Python and integrates several previously developed bacterial annotation tools. In addition, it successfully analyzed the genomes of ten carbapenem-resistant *K. pneumoniae* strains isolated in Chile, collected by the Chilean Institute of Public Health (ISP). Over 40 plasmids were identified in these strains and annotated with this program. Of them, 24 included beta-lactamase genes, nine corresponding to carbapenemases (NDM-7 and KPC-2), being consistent with the phenotypic tests performed by the ISP. Other features annotated with our tool included genes involved in resistance to several other antibiotics, metals, and biocides, type-VI secretion systems, conjugation determinants, insertion sequences, and integrons. A subsequent clustering analysis by mmseqs2 based on the resistome, allowed the identification of relevant plasmid clusters. In conclusion, GMI-PAN offers an integrated annotation pipeline that reduces the time required to annotate plasmids and potentially complete bacterial genomic sequences, generating a detailed output and a unique Genbank file integrating all the annotation layers.

Keywords: bioinformatics, microbiology, sequencing, annotation, resistance

Financing: FONDECYT 1221193

Acknowledgments: Carlos Serrano, Pablo Lorca, Roberto Rojas.

Tipo de presentación: Panel

**Antibiotic resistance in bacteria isolated in the Strait of Magellan: Exploring resistance in the bays of Seno Otway and Charles Islands.**

**Resistencia a antibióticos en bacterias aisladas en el Estrecho de Magallanes: Explorando la resistencia en bahía del Seno Otway y las Islas Charles.**

**Vicente Arriagada-Moreno<sup>1</sup>**, Claudio Gómez<sup>2</sup>, Andrés Opazo-Capurro<sup>1</sup>, Gerardo González-Rocha<sup>1</sup>

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile

(2) Universidad de Magallanes, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Punta Arenas, Chile

La dispersión de la resistencia a antibióticos representa una amenaza para la salud pública y el ecosistema. Este estudio reporta la presencia de bacterias resistentes a antibióticos en bahías del Seno Otway (53°15'38.20"S, 72°10'49.60"O) y las Islas Charles (53°45'15.50"S, 72°5'32.20"O). Estos lugares se encuentran influenciados por las corrientes predominantes del Estrecho de Magallanes acumulando desechos en las bahías expuestas. El objetivo de este estudio es evaluar la resistencia a antibióticos de bacterias aisladas desde bahías influenciadas por las corrientes marinas predominantes y la actividad antropogénica.

La selección de las bahías estudiadas se basó en la presencia de desechos y la exposición a las corrientes predominantes. El aislamiento de bacterias se realizó por siembra de muestras de sedimento y agua de ambas bahías en agar Chromocult (Merck) e incubación a ~30°C por 24-36 h. Se seleccionaron 34 aislados de las Islas Charles y 39 aislados del Seno Otway y se les realizó tinción de Gram. Se evaluó los perfiles de resistencia por pruebas de difusión en agar con 9 antibióticos. Los aislados que mostraron un halo de inhibición de 14mm se consideraron resistentes. Con estos resultados se determinó el índice de resistencia a antibióticos (IRA) y el índice de multiresistencia a antibióticos (MAR).

Todas las bacterias aisladas fueron Gram negativas y se encontró que el 47,1% de ellas, aisladas de las Islas Charles presentan resistencia a cefuroxima y el 50% a cloranfenicol. En el caso de los aislados del Seno Otway se determinó que el 73,7% es resistente a cefuroxima y cloranfenicol. La bahía de las Islas Charles tiene un IRA de 0,29 y un 59% de los aislados presentan un índice de resistencia múltiple MAR=0,2; mientras que para la bahía del Seno Otway el IRA es 0,33 y un 71% de los aislados presentan MAR >0,2.

Se concluye que los aislados bacterianos obtenidos presentan altos porcentajes de resistencia a los antibióticos y se observaron índices elevados de IRA y MAR, en ambos lugares, dando cuenta así de la presencia de bacterias resistentes y multirresistentes en bahías del Estrecho de Magallanes, influenciadas por corrientes marinas que acarrearán desechos hacia ellas.

**Keywords:** Resistencia a antibióticos, Estrecho de Magallanes, Actividad Antropogénica, Contaminación de bahías

**Financing:** Proyecto PAI-ANID 77180002 de la Dra. Claudia Mansilla y el Fondecyt Iniciación 11200969 de la Dra. Jimena Torres. Al centro de Investigación y Monitoreo Ambiental Antártico y al Instituto Antártico Chileno.

Tipo de presentación: Panel

**Rapid detection of the hypervirulent pathotype of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from Chilean hospitals.**

**Detección rápida del patotipo hipervirulento de cepas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenémicos aisladas desde hospitales chilenos.**

**Cristóbal Benavente-Zárate**<sup>1</sup>, Claudia Torres-Bustos<sup>1</sup>, Felipe Morales-León<sup>2</sup>, Mario Quezada-Aguiluz<sup>3</sup>, Helia Bello-Toledo<sup>1</sup>, Maximiliano Matus-Köhler<sup>1</sup>, Gerardo González-Rocha<sup>1</sup>, Alejandro Aguayo-Reyes<sup>3</sup>, Andrés Opazo-Capurro<sup>1</sup>

(1) Universidad de Concepción, Microbiología, Ciencias Biológicas, Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile

(2) Universidad de Concepción, Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile

(3) Universidad de Concepción, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile

En el marco de la vigilancia de bacterias resistentes a los antibióticos, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha clasificado dentro del grupo de "prioridad crítica" a distintas especies resistentes a carbapenémicos (RC), incluyendo a *Klebsiella pneumoniae*. En los últimos años, han emergido cepas resistentes de *K. pneumoniae* hipervirulentas (hvKp), siendo fundamental la pesquisa de éstas para orientar las medidas de control de este patógeno, debido principalmente a la aparición de cepas convergentes, es decir, hipervirulentas y RC. Se ha evidenciado que en cepas de *K. pneumoniae* la presencia del gen *peg-344* en plásmidos de virulencia se asocia directamente al patotipo hvKp. El objetivo de este trabajo fue pesquisar *peg-344* en cepas de *K. pneumoniae* RC aisladas en hospitales chilenos como una herramienta de pesquisa rápida del patotipo hvKp.

Se incluyeron 100 cepas de *K. pneumoniae* recolectadas en Chile desde 15 hospitales, entre 2018 y 2022, siendo un 75% resistentes a imipenem y/o meropenem. Las cepas fueron aisladas desde muestras de orina, abscesos, pus, tejido pancreático necrótico, aspirados bronquiales, secreciones de heridas e hisopados nasofaríngeos y rectales. Del total de cepas, 60 fueron sometidas a *whole-genome sequencing* (WGS) mediante la plataforma Illumina, y los genomas ensamblados fueron analizados mediante diversas herramientas bioinformáticas orientadas para su tipificación, pesquisa de genes de resistencia y de *peg-344*. En las 40 cepas no secuenciadas se pesquió *peg-344* mediante PCR convencional.

En las 60 cepas sometidas a WGS, los principales secuenciotipos (STs) correspondieron al ST25 y ST11, asociados a los serotipos capsulares KI2 y KI39. La principal carbapenemasa detectada fue KPC-2, siendo un 40% del total de cepas sometidas a WGS. A partir tanto del grupo de cepas secuenciadas como del grupo de cepas analizadas por PCR convencional, fue posible pesquisar 2 cepas positivas para el gen *peg-344*, lo que representa un 2% de positividad de cepas convergentes. Nuestros resultados demuestran que la pesquisa de *peg-344* representa una herramienta rápida para la detección de cepas de *K. pneumoniae* hvKp, cuya prevalencia en nuestro medio sigue siendo baja, por lo que su vigilancia es fundamental para su control.

Keywords: *peg-344*, ST11 Y ST25, KPC-2, HvKp, *Klebsiella pneumoniae*

Financing: Fondo de tesis, Bioingeniería, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Acknowledgments: Agradecimientos a la Facultad de Ciencias Biológicas(FCB) y al Laboratorio de Investigación en Agentes Antimicrobianos(LIAA) de la Universidad de Concepción.

Tipo de presentación: Panel

**Chemical characterization and antimicrobial activity of *Schinus molle* essential oils on Gram positive and Gram negative bacteria**

**Caracterización química y actividad antimicrobiana de aceites esenciales de *Schinus molle* sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas**

Rómulo Danilo Óses Pedraza<sup>1</sup>, **Jéssica Andrea Bravo Garrido**<sup>2</sup>, Patricio Edgardo Retamales Molina<sup>2</sup>, Katia Yanina Fernandez Moreno<sup>2</sup>, Waleska Vera Quezada<sup>3,6</sup>, Paris Lavín<sup>4</sup>, Danae Irribarren-Riquelme<sup>5</sup>

(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, Laboratorio de Productos Naturales Bioactivos, Medicina, Ejercito 141, Santiago, Chile

(3) Universidad de Valparaíso UV, Escuela de Química y Farmacia, Farmacia, Av. Gran Bretaña 1093, Playa Ancha, Valparaíso, Chile

(4) Universidad de Antofagasta UA, Departamento de Biotecnología. Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Campus Coloso Antofagasta Av. U de Antofagasta s/n, Antofagasta, Chile

(5) Zenobia Group SpA, Environmental Microbiology and Biotechnology Unit, Flores Millan 1350, Chillán, Chile

(6) Universidad de Valparaíso UV, Centro de Investigación Farmacopea Chilena, Facultad de Farmacia, Valparaíso, Chile

*Schinus molle* es un arbusto originario de los andes centrales, con amplia distribución en zonas subtropicales y tropicales. Es una especie tolerante a la sequía y a las altas temperaturas. Tanto sus hojas como la corteza, como así también sus frutos, se han utilizado desde largo tiempo por pueblos aborígenes andinos en preparaciones medicinales para el tratamiento de diversas afecciones. Es una planta longeva, resistente y perenne. Recientemente, ha cobrado interés la formulación y utilización de aceites esenciales (AEs) y la caracterización de sus propiedades. En este trabajo reportamos la caracterización quimiométrica y propiedades antimicrobianas de AEs de un ecotipo *S. molle* obtenidos en la Región de Atacama, Chile. La caracterización química de los extractos fue realizada mediante análisis de cromatografía gaseosa acoplada a masa (GS-MS). El análisis microbiológico para determinar las propiedades antimicrobianas fue estudiado mediante el método de difusión en agar sobre un total de 16 cepas bacterianas, entre Gram negativas y Gram positivas, determinando la concentración mínima inhibitoria (MIC). Entre los resultados relevantes se lograron identificar mayoritariamente terpenos como  $\alpha$ -phellandrene (34,02%),  $\beta$ -myrcene (23,87%) y limonene (13,99%) y otros 20 monoterpenos en diferentes proporciones. El análisis microbiológico reveló la presencia de actividad antimicrobiana contra *Clostridium sp.* y *Shigella boydii*, entre otros. Los valores de MIC obtenidos para *S. boydii* fueron equivalente a 32  $\mu\text{g/mL}$  y para *Clostridium sp.* 64  $\mu\text{g/mL}$ . Estos resultados preliminares permiten concluir que la presencia mayoritaria de la mezcla de monoterpenos puede estar relacionada con sus propiedades antimicrobianas, y que la caracterización e identificación de compuestos bioactivos en AEs de *S. molle* tiene potenciales aplicaciones antimicrobianas susceptibles de su utilización en biomedicina.

Keywords: *Schinus molle*, aceites esenciales, propiedades antimicrobianas, monoterpenos

Financing: Proyecto Fondecyt Iniciación N° 11190754 Proyecto Seed Factoría 102 INES

Tipo de presentación: Panel

### **Diversity and predicted structural features of environmental beta-lactamases from uncultured Antarctic Peninsula soil bacteria**

**José Coche-Miranda**<sup>1</sup>, Patricio Arros<sup>1</sup>, Camilo Berríos-Pastén<sup>1</sup>, Carlos Lagos<sup>6</sup>, Jacqueline Acuña<sup>5</sup>, Milko Jorquera<sup>5</sup>, Verónica Cambiazo<sup>4</sup>, Julieta Orlando<sup>3</sup>, Francisco P Chávez<sup>2</sup>, Andrés Marcoleta<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Laboratorio de Biología Estructural y Molecular (BEM), Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Laboratorio de Microbiología de Sistemas, Santiago, Chile

(3) Universidad de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Laboratorio de Ecología Microbiana, Santiago, Chile

(4) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Santiago, Chile

(5) Universidad de La Frontera, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada (EMALAB), Temuco, Chile

(6) Universidad San Sebastián, Facultad de Ciencias y Medicina, Chemical Biology and Drug Discovery Laboratory (CBD2), Santiago, Chile

Antibiotic resistance (AMR) is a global public health crisis, and it is expected that by the year 2050, more people will die from AMR than the number of people currently dying from cancer. In this context, the relevance of monitoring extreme environments as natural reservoirs of ARM mechanisms has been noted due to the possibility that genes naturally present in those environments can be horizontally transferred to pathogenic microorganisms. In this regard, it is considered vital to study and monitor the distribution of beta-lactamase enzymes that confer resistance to beta-lactam antibiotics, which are the most widely used antimicrobials in the clinical setting. Therefore, the objective of this study was to investigate the diversity and structural features of putative beta-lactamases from bacteria living in Antarctic soils, an environment that has been proposed to harbor a large number of potential AMR mechanisms. For this, we analyzed 13 soil metagenomes from different zones of the Antarctic Peninsula, searching for antibiotic resistance genes. A total of 152 putative beta-lactamase genes were identified, distributed among four structural classes. The class-B metallo-beta-lactamases predominated (60%), differing from the class-A predominance reported for most of the studied environments. They were followed by class A (28%), class C (7%), and class D (5%) enzymes. Moreover, potentially new beta-lactamase families from these classes were discovered. Subsequently, as cases of study, a beta-lactamase from each class was chosen to model its 3D structure, and the class-A and class-D structures were selected to assess their binding capacity to carbapenem antibiotics and known small-molecule inhibitors through molecular docking. The results showed that the modeled Antarctic beta-lactamases for each class maintained a similar 3D folding to reference beta-lactamases and also preserved conserved residues in their active sites. Additionally, the class A-beta-lactamase demonstrated *in silico* binding capacity to the carbapenem meropenem and inhibitor avibactam, while the class-B-beta-lactamase had preferred binding capacity to the carbapenem thienamycin and inhibitor tazobactam. In conclusion, Antarctica is a reservoir for a wide diversity of putative novel beta-lactamases with the potential capacity to inactivate clinically important antibiotics.

Keywords: beta-lactamase, Antarctic, antibiotic resistance

Financing: Grants Anillo mBioClim ACT210044, FONDECYT 1221193, and BASE Millenium Institute, from Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo de Chile.

Tipo de presentación: Panel

Colart

**Development of a peptides for blocking the isopeptide bond of pilus protein from *Corynebacterium diphtheriae***

**Vicente Colarte<sup>1</sup>**, Jaime Andrés Rivas Pardo<sup>1</sup>

(1) Universidad Mayor, Centro de Genómica y Bioinformática, Laboratorio de Genómica Microbiana, Facultad de Ciencias, Av. Camino la Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile

Bacteria, a dominant branch of life, have thrived in diverse niches, constituting around 70% of Earth's biomass and playing a pivotal role in environmental equilibrium. They adeptly colonize habitats, including human tissues, using pili as molecular anchors to trigger biofilm formation. Gram-positive bacteria use pili made of numerous covalently linked protein subunits, forming elongated filaments. Notably, in pathogens like *Corynebacterium diphtheriae* causing diphtheria, pili-mediated adhesion is crucial for infection establishment. SpaD, the structural subunit of this protein filament, have an intramolecular isopeptide bond that confers stability and mechanical resilience.

Given pili's adherence significance, recent focus has shifted toward leveraging them for infection treatments, diverging from faltering antibiotics against multi-resistant bacteria. Pili-based strategies offer promise in circumventing resistance development. This study aimed to create a peptide-based tool to disrupt the isopeptide bond in SpaD's domain 3, utilizing a peptide blocker. Computational simulations guided the choice of blocker length and motif. Moreover, suitable DNA vectors were engineered for sequential SpaD and blocker expression.

Results indicated that co-expression of SpaD and the SNAP-Tag fusion peptide facilitated covalent intervention, forming intermolecular bonds between SpaD and the peptide. This breakthrough offers prospects for future therapeutic approaches combating pathogenic bacteria resistant to conventional antibiotics.

In summary, bacteria's ubiquity and ecological influence are substantial, with pili-mediated adhesion being pivotal for infection in various contexts. The focus on pili as a treatment target reflects a shift away from waning antibiotic efficacy. This study's innovative peptide-based approach demonstrates potential in disrupting crucial bacterial bonds, opening new avenues for combating antibiotic-resistant pathogens.

Keywords: Adhesion, Isopeptide bond, Isopeptide-blocker, Antibiotics, Pilus

Tipo de presentación: Panel

### Phenotypic and genomic characterization of resistance to Beta-lactam antibiotics in *Campylobacteraceae*

#### Caracterización fenotípica y genómica de la resistencia a antibióticos Betalactámicos en *Campylobacteraceae*

Mónica Lopez-Cantillo<sup>1</sup>, Macarena Concha-Tolosa<sup>1</sup>, Tania Figueroa<sup>1</sup>, Luis Collado<sup>1</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile

La familia *Campylobacteraceae* comprende varias especies patógenas, como *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* y *Arcobacter butzleri*, asociadas con cuadros gastrointestinales, y en menor medida con infecciones sistémicas. Por otra parte, *Campylobacter fetus* se asocia mayormente con infecciones extraintestinales como bacteriemia y meningitis. Las infecciones sistémicas causadas por estas campilobacterias, suelen ser tratadas empíricamente con antibióticos betalactámicos, pese a la resistencia intrínseca reportada frente a algunos de ellos. Por ello, nuestro objetivo fue caracterizar la resistencia antimicrobiana a betalactámicos en las principales especies de *Campylobacter* y *Arcobacter* causantes de bacteriemias e infecciones extraintestinales en humanos.

Se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana de 107 cepas (54 *C. jejuni*, 19 *C. coli*, 13 *C. fetus* y 21 *A. butzleri*) provenientes de diversos orígenes (muestras clínicas y alimentos) frente a ampicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, piperacilina/tazobactam, cefazolina, ceftioxitina, cefoperazona, ceftriaxona, cefepime y meropenem. Adicionalmente, el genoma de todas las cepas fue secuenciado con la plataforma Illumina NextSeq 2000 (SeqCenter, USA), las lecturas fueron evaluadas usando FastQC, filtradas con Trimmomatic y ensambladas "de novo" mediante Unicycler. Posteriormente, se evaluó la presencia de determinantes moleculares de resistencia usando la base de datos CARD y ResFinder.

Todas las cepas fueron resistentes a cefazolina, 95,4% a ceftioxitina y 92,6% a cefoperazona, lo cual concuerda con estudios previos donde se señala una resistencia intrínseca frente a esos antibióticos. En general, las especies de *Campylobacter* fueron susceptibles a amoxicilina/ácido clavulánico, cefepime y meropenem. Asimismo, *C. fetus* fue susceptible a ceftriaxona. No obstante, *A. butzleri* exhibió altos porcentajes de resistencia frente a estos antimicrobianos (42,9; 66,7; 33,3 y 66,7% respectivamente). Adicionalmente, nuestros datos revelaron tres subfamilias de betalactamasas tipo OXA distribuidas diferencialmente entre las especies de campilobacterias estudiadas. En *C. jejuni* se detectaron OXA-61-like (50%) y OXA-184-like (11,1%), mientras que en *C. coli* únicamente OXA-61-like (31,6%). Por otro lado, en *C. fetus* no se detectó ningún determinante de resistencia asociado a betalactámicos. Con respecto a las cepas de *A. butzleri* la subfamilia OXA-464-like (76,2%) fue la única identificada.

Estos resultados proporcionan información de utilidad para orientar en la elección del tratamiento antimicrobiano para tratar infecciones sistémicas ocasionadas por estas bacterias.

Keywords: *Campylobacter*, *Arcobacter*, Resistencia, Betalactámicos, Chile

Financing: Fondecyt Regular 1200125 y Programa Ciencia para la Innovación 2030, Consorcio Sur-Subantártico, Ci2030



Tipo de presentación: Panel

**Isolation and Characterization of Antibiotic-Resistant Opportunistic Pathogens from the Drinking Water Reservoirs of a Hospital in Valparaíso**

**Aislamiento y caracterización de patógenos oportunistas, resistentes a los antibióticos, desde reservorios de agua potable de un hospital de Valparaíso**

**Richard Covarrubia-López<sup>1,2</sup>**, Diego Lira-Velásquez<sup>1,2</sup>, Juan Parás-Silva<sup>1,2</sup>, Paola Echeverría<sup>3</sup>, Rubén Muñoz-Rocha<sup>3,4</sup>, Jorge Olivares-Pacheco<sup>1,2</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo de resistencia antimicrobiana de bacterias patógenas y ambientales (GRABPA), Facultad de Ciencias, Valparaíso, Chile

(2) Iniciativa Milenio para la Investigación Colaborativa en la Resistencia a los Antibióticos Microb-R, Chile, Santiago, Chile

(3) Equipo de Infectología Hospital Dr. Eduardo Pereira, Valparaíso, Chile

(4) Universidad de Valparaíso, Escuela de Medicina Universidad de Valparaíso, Medicina, Valparaíso, Chile

El fenómeno de resistencia a antibióticos es una problemática global que afecta la salud humana. Se ha caracterizado que el ambiente intrahospitalario funciona como reservorio de bacterias resistentes a los antibióticos, en donde no solamente encontramos bacterias patógenas humanas, además existe presencia de patógenos oportunistas, los cuales son capaces de generar un cuadro clínico en pacientes inmunocomprometidos. El presente estudio se desarrolló en el Hospital Dr. Eduardo Pereira, de Valparaíso, en donde se caracterizó el perfil de susceptibilidad a antibióticos de diferentes bacterias patógenas oportunistas, obtenidas desde llaves de agua potable y sifones de lavamanos ubicados en puntos críticos del hospital, como lo son la entrada a Pabellones, Unidad de Cuidados Intensivos y Unidad de Tratamientos Intensivos. El aislamiento de diferentes cepas se realizó utilizando agar R2A suplementado con ceftazidima y ciprofloxacino independientemente, a continuación se llevó a cabo una identificación mediante MALDI-TOF y se determinó el perfil de susceptibilidad a los antibióticos, mediante la técnica de difusión de discos, siguiendo las normas establecidas por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI). Como resultados se obtuvieron un total de 43 aislados de interés y de estos el 50% presentó un perfil Multidrogoresistente (MDR), un 34,7% Extensivamente resistentes (XDR) y un 4,3% fueron Panresistente (PDR), donde destacan patógenos oportunistas de origen ambiental como *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* y *Citrobacter spp.* Los resultados indican una alta prevalencia de patógenos oportunista del tipo MDR, en llaves de agua potable del hospital, lo cual supone un potencial riesgo para la salud, considerando que estas fueron aisladas desde fuentes de agua potable en puntos críticos del hospital.

Keywords: Resistencia antimicrobiana, patógenos intrahospitalarios, patógenos oportunistas

Tipo de presentación: Panel

### Antimicrobial activity of n-butyl polycyanoacrylate nanoparticles against pathogenic bacteria

#### Actividad antimicrobiana de nanopartículas de policianoacrilato de n-butilo contra bacterias patógenas

**Erlen Cruz**<sup>1</sup>, Yaquelin Ramos Carriles<sup>2,3</sup>, Nicolás Navarro Martínez<sup>1,4,5</sup>, María José González<sup>1</sup>, David Pernas Manresa<sup>6</sup>, Eduardo Méndez<sup>7</sup>, Luciana Robino<sup>8</sup>, Rubén Álvarez Brito<sup>2,3</sup>, Paola Scavone<sup>1</sup>

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Departamento de Microbiología, Laboratorio de Biofilms Microbianos, Montevideo, Uruguay

(2) Universidad de la Habana, Química Física, Facultad de Química, La Habana, Cuba

(3) Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología - Universidad de la Habana, Laboratorio Conjunto de Nanobiomedicina, La Habana, Cuba

(4) Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS), Santiago, Chile

(5) Center of New Drugs for Hypertension (CENDHY), Santiago, Chile

(6) Complejo Industrial Labiofam, La Habana, Cuba

(7) Universidad de la República (UdelaR), Laboratorio de Biomateriales, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay

(8) Universidad de la República (UdelaR), Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

Debido al uso extenso e inadecuado de los antibióticos, los microorganismos se han vuelto resistentes a estos agentes. Por ello es necesario el desarrollo de nuevos antimicrobianos. Una posible alternativa es el uso de nanopartículas de policianoacrilato de n-butilo (Nps-pCAB). Este polímero presenta actividad antimicrobiana contra bacterias gram (+) y gram (-), además, su escala nanométrica incrementaría su actividad. El objetivo de este trabajo es determinar el potencial antimicrobiano y citotóxico de NPs-PCAB frente a *S. aureus* ATCC 6538, *A. baumannii* ATCC 19606 y *P. aeruginosa* ATCC 902, *E. coli* 144 y *P. mirabilis* 2921.

Las NPs-PCAB se sintetizaron en dos etapas. Primero se obtiene el PCAB mediante una polimerización aniónica en masa y luego se obtienen las NPs por nanoprecipitación. El PBCA se caracterizó por espectroscopía FT-IR y RMN-<sup>1</sup>H así como por GPC. El radio hidrodinámico y el Z-potencial de las NPs se determinó por DLS. La actividad antimicrobiana se evaluó mediante la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) por el método de microdilución y la Concentración Bactericida Mínima (CBM). La citotoxicidad se determinó mediante el IC<sub>50</sub> de las NPs en ensayos con resazurina.

El PCAB se obtuvo con un 97% de rendimiento y una masa molecular promedio en número de  $2,5 \times 10^5$  Da, con un PdI de 4,5. El radio hidrodinámico de las NPs-PCAB fue de 145,23 nm, con un PdI de 0,154 y un Z-potencial de -17,89 mV. Las NPs-PCAB presentaron una CIM/CBM superior a 3,5x para todas las cepas evaluadas. Por otro lado, los ensayos con resazurina mostraron que las NPs a la concentración de 3,5x son capaces de disminuir significativamente la viabilidad de las bacterias para *E. coli*, *P. mirabilis* y *P. aeruginosa* en relación al control, mientras que para *A. baumannii* entre 0,875x y 0,109x. No se apreció efecto para *S. aureus* en todo el intervalo evaluado.

Estos resultados sugieren que las NPs sintetizadas pueden afectar la viabilidad de cuatro de las bacterias testadas. En base a esto, se evaluará su efecto de las NPs en la inhibición y la erradicación de biofilms.

Keywords: nanopartículas, policianoacrilato de n-butilo, bacterias patógenas, nanotecnología

Financing: FMV\_3\_2022\_1\_172368

Acknowledgments: Los autores agradecen el financiamiento propiciado por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII), Uruguay y al laboratorio de Biomateriales de la Facultad de Ciencias de la UdelaR, Montevideo, Uruguay.

Tipo de presentación: Panel

**Characterization of the Resistome and Mobile Genetics Elements of Multidrug Resistant *E. coli* ST131 and ST744 from diverse sources**

**Constanza Díaz-Gavidia**<sup>1,7</sup>, Leonela Díaz<sup>2</sup>, Lina Rivas<sup>3</sup>, Rodrigo Martínez<sup>3,7</sup>, Jose Munita<sup>3,7</sup>, Jorge Olivares-Pacheco<sup>4,7</sup>, Aiko Adell<sup>1,7</sup>, Magaly Toro<sup>5</sup>, Andrea Moreno-Switt<sup>6,7</sup>

- (1) Universidad Andres Bello, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile
- (2) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Santiago, Chile
- (3) Universidad del Desarrollo, Facultad de Medicina, Santiago, Chile
- (4) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología, Valparaíso, Chile.
- (5) University of Maryland, College Park, MD USA
- (6) Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile;
- (7) Millennium Initiative for Collaborative Research on Bacterial Resistance (MICROB-R)

**Background:** *Escherichia coli* ST131 and ST744 are two high-risk, multidrug resistant (MDR) lineages of *E. coli*. In addition to being globally distributed, also show unique ability to persist and colonize various niches. The wide environmental distribution of these two sequence types may favor their role in the dissemination of resistance genes, mostly in mobile genetic elements (MGE). A previous study identified *E. coli* ST131 and ST744 as the most common ST, among 44 STs found in samples from humans, foods, and water in the city of Molina in Chile. To further understand these ST, the aim of this study was to characterize the resistome and MGE of MDR *E. coli* ST131 and ST744 obtained from these diverse sources.

**Methods:** In this study, we analyzed the genomes of 57 isolates of ST131 obtained from humans (n=25), vegetables (n=29), meats (n=1), and water (n=2), along with 33 isolates of ST744 obtained from humans (n=4), vegetables (n=18), meats (n=6), and water (n=5). We analyzed the phylogenetic relationship based on SNPs using snp-sites and IQ-tree tools; in addition, the resistome and mobile genetic elements of the MDR *E. coli* were determined using ABRicate with the ResFinder and PlasmidFinder databases respectively and Integrons with their antimicrobial resistance cassettes were determined using IntegronFinder.

**Results:** Phylogenetic analysis showed two interesting clades composed of isolates from two or more sources in ST131, while in the ST744 strains three of these clades are observed. *E. coli* ST131 presents 29 types of plasmid replicons, three complete integrons and 28 antimicrobial resistance genes (ARGs) most of them belonging to the aminoglycoside family (n=8) and sulfonamides (n=6). On the other hand, *E. coli* ST744 presented 30 types of plasmid replicons, three complete integrons and 28 ARGs, being most of them from the aminoglycoside family (n=7) and extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) (n=6).

**Conclusion:** We reported the spread of the high-risk clone of *E. coli* ST131 and ST744 in different sources of a city in Chile. The abundance of multidrug-resistant *E. coli* harboring class 1 integrons, plasmid replicons and ESBLs genes in vegetable, water and meat samples is a potential public health risk.

Keywords: Antimicrobial resistance, Mobile Genetic Elements, *E. coli*, One Health

Financing: FONDECYT 1181167 y ANID Millennium Science Initiative/549 Millennium Initiative for Collaborative Research on Bacterial Resistance, MICROB-R, NCN17\_081

Tipo de presentación: Panel

**Evaluation of alternative roles, instead of maintenance, of HicAB toxin-antitoxin system in antibiotic resistant plasmids.**

**Evaluación de funciones alternativas a la mantención plasmidial, del sistema toxina-antitoxina HicAB, en plásmidos de resistencia a antibióticos.**

**Josefa Encina Robles<sup>1</sup>**, Paula Bustamante<sup>1</sup>

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

Los elementos genéticos móviles son los principales factores de propagación de genes de resistencia a antibióticos, entre los cuales destacan los plásmidos conjugativos. Para no afectar el fitness bacteriano, estos plásmidos se mantienen en un bajo número de copias y por ello codifican para sistemas de mantención plasmidial. Entre estos, los sistemas toxina-antitoxina (TA) han sido históricamente reconocidos como agentes que cumplen esta función. Recientemente, se han identificado sistemas TA plasmidiales que, si bien no tienen una función en mantención plasmidial, pueden cumplir una función en controlar el número de copias plasmidiales (NCP) o bien en la exclusión de plásmidos competidores.

Resultados preliminares, indicaron que el sistema TA HicAB, codificado en un plásmido (pJIE143, *bla*<sub>CTX-M-15</sub>) de un aislado clínico de *E. coli* (*E. coli* JIE143), no tiene la función clásica de mantención plasmidial.

Dados estos antecedentes, el objetivo de este trabajo es analizar la participación del sistema HicAB en controlar el NCP y la exclusión de plásmidos competidores. Para todos los experimentos se utilizó la cepa silvestre JIE143 y una mutante de delección JIE143/pJIE143 $\Delta$ *hicAB*:*Km*. El NCP se determinó a través de qPCR desde muestras de DNA extraídas desde bacterias crecidas en distintos medios de cultivo y en distintas fases de crecimiento. Para cuantificar las copias de cromosomas y plásmidos, se utilizó los genes de copia única *dxs* y *pir*, respectivamente. La exclusión de plásmidos competidores se analizó comparando las frecuencias de conjugación del plásmido pJIE143 silvestre y  $\Delta$ *hicAB*, hacia cepas receptoras previamente ocupadas por uno de estos plásmidos. Nuestros resultados mostraron que en un medio de cultivo rico (medio LB), tanto en fase exponencial como estacionaria, la cepa  $\Delta$ *hicAB* presenta 3 a 10 veces menos NCP en comparación a la cepa silvestre. Por el contrario, en presencia de cefotaxima, solo se observaron diferencias durante fase estacionaria. Estos resultados se compararán con muestras tomadas en otras condiciones de crecimiento y se complementarán con los resultados de exclusión de plásmidos isogénicos. En conclusión, nuestros resultados preliminares indican que el sistema HicAB si estaría participando en el control del NCP del plásmido pJIE143.

Keywords: resistencia a antibióticos, mantención plasmidial, sistema toxina-antitoxina, número de copias plasmidiales, plásmidos  
Financing: FONDECYT 11230634

Tipo de presentación: Panel

**Involvement of the *rpoE* gene of the salmon pathogen *Yersinia ruckeri* in the envelope stress response triggered by exposure to flumequine and oxytetracycline**

**Participación del gen *rpoE* del patógeno de salmones *Yersinia ruckeri* en la respuesta a estrés de envoltura gatillado por la exposición a flumequina y oxitetraciclina**

**Nicolás Fernández-Navarro<sup>1</sup>**, Diego Pedraza<sup>1</sup>, María José Barros Gamonal<sup>1</sup>, Lillian G. Acuña<sup>1</sup>, Iván L. Calderón<sup>1</sup>  
(1) Universidad Andres Bello, Laboratorio de RNAs Bacterianos, Facultad Ciencias de la Vida, Republica 330, Santiago, Chile

*Yersinia ruckeri* es un patógeno de salmones expuesto permanentemente a antimicrobianos en el contexto de la salmicultura, siendo capaz de responder y sobrevivir a dicho estrés. Frente a esta condición, es sabido que las bacterias mantienen la integridad de su envoltura activando sistemas de respuesta a estrés, como el sistema asociado al factor transcripcional RpoE (factor  $\sigma^E$ ). El sistema  $\sigma^E$  puede detectar el mal plegamiento de proteínas de membrana externa (OMPs), provocado por la presencia de antibióticos, activando una cascada de eventos proteolíticos que inducen la expresión del regulón  $\sigma^E$ , con el fin de mantener la homeostasis de la envoltura. Dado que en *Y. ruckeri* existe escasa o nula evidencia respecto a la participación del sistema  $\sigma^E$  en la respuesta frente a la exposición a antibióticos, en este estudio nos propusimos evaluar la participación del gen *rpoE* en la respuesta a estrés por envoltura, gatillado por la exposición a antimicrobianos comúnmente utilizados en la salmicultura en Chile. Para ello se utilizó una cepa silvestre (WT) y una cepa deficiente del gen *rpoE* ( $\Delta rpoE$ ) de *Y. ruckeri*, las que fueron expuestas a los antibióticos flumequina y oxitetraciclina. Ensayos de viabilidad y determinación de Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) evidenciaron que la cepa  $\Delta rpoE$  es más sensible a ambos antimicrobianos. Asimismo, la cepa  $\Delta rpoE$  crece más lento que la cepa WT frente a los tratamientos. Por otro lado, análisis de microscopía electrónica de transmisión evidencian diferencias significativas entre las envolturas bacterianas de las cepas WT y  $\Delta rpoE$ . 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 *rpoE* hay una desregulación de la expresión de OMPs y una alteración del perfil de LPS. En su conjunto, los resultados de este estudio indican que el sistema RpoE de *Y. ruckeri* participa en la mantención de la homeostasis de envoltura frente a la exposición a los antimicrobianos flumequina y oxitetraciclina

Keywords: *Yersinia ruckeri*, *rpoE*, antimicrobianos, resistencia, metabolismo  
Financing: FONDECYT regular #1221610FONDECYT iniciación #11201070

Tipo de presentación: Panel

### What are we eating? Search for resistance mechanisms in frozen food

#### ¿Qué estamos comiendo? Búsqueda de mecanismos de resistencia en alimentos congelados

Nicolas Cordeiro<sup>1</sup>, Nadia Coppola<sup>1</sup>, **Federica Ferreira**<sup>1</sup>, Rafael Vignoli<sup>1</sup>, Ines Bado<sup>1</sup>

(1) Instituto de Higiene, Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, UDELAR, Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay

**Introducción:** La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es un problema que afecta la salud humana, ambiental y animal. Los microorganismos multirresistentes (MMR) pueden transitar entre la población humana y animal a través de alimentos, agua y medio ambiente. Previamente reportamos la presencia de MMR en pollitos de un día importados de Brasil. Nos propusimos la búsqueda de mecanismos de resistencia a antibióticos críticos para la salud humana en muestras de alimentos de pollos congelados importados de Brasil.

**Materiales y métodos:** Ochenta muestras de *nuggets* fueron procesadas y sembradas en agar McConkey lactosa suplementado con ceftriaxona, ciprofloxacina o colistin. Los aislamientos fueron identificados mediante MALDI-TOF y su sensibilidad determinada mediante disco difusión e interpretado según normas CLSI. Adicionalmente, ocho muestras fueron estudiadas mediante metagenómica. El ADN total fue procesado mediante secuenciación *shotgun* y los *reads* fueron analizados con el *pipeline* SqueezeMeta.

**Resultados:** Se obtuvieron 19 aislamientos de *Enterobacterales* (*C.freundii*, *S.marcescens*, *E.coli*, *Enterobacter* spp. y *Klebsiella* spp.) y 8 aislamientos de *Pseudomonas* spp.

Diez aislamientos de *Enterobacterales* presentaron resistencia a ampicilina, cefuroxime, y 3 de ellos resistencia a oximiinocefalosporinas y amoxicilina-ác.clavulánico por producción de cefalosporinasas cromosómicas. 4/19 mostraron resistencia a fluoroquinolonas, y 3 a aminoglucósidos. Todos los aislamientos de *Pseudomonas* fueron sensibles a los antibióticos estudiados.

No se detectaron genes transferibles de resistencia a colistin (*mcr*).

Los estudios de metagenómica mostraron una importante presencia de *Firmicutes* (>45%); las principales familias descritas fueron *Bacillaceae*, *Lactobacillaceae* y *Paenibacillaceae*, y dentro de éstas los géneros, *Bacillus* y *Leuconostoc*, entre otros.

La presencia de Proteobacterias fue baja (0,1-1,5%), las familias más representadas fueron *Enterobacteriaceae*, *Moraxellaceae*, *Aeromonadaceae*, *Vibrionaceae* y *Pseudomonadaceae*, a expensas de *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, entre otras. Además, se encontraron genes de resistencia a β-lactámicos (*bla*, *blaP*, *bla2*, *blaBPU* y *bla<sub>CTX-M</sub>*), cloranfenicol (*cat86*), eritromicina (*mefA*), fosfomicina (*fosB*), lincomicina (*InuG*), macrólidos (*mphK* y *ermD*), amonio cuaternario (*qacH*), estreptomycin (*aadK*), tetraciclina (*tet*) y vancomicina (*vanR* y *S*).

**Conclusiones:** La presencia de genes RAM críticos para la salud humana en alimentos congelados importados estarían sorteando las políticas de restricción del uso de antibióticos en salud humana y producción animal en Uruguay.

**Keywords:** Resistencia antimicrobiana, Metagenómica, Alimentos

**Financing:** FMV\_3\_2020\_1\_162024. Proyecto de investigación aplicada Fondo María Viñas (2020).

**Acknowledgments:** FMV\_3\_2020\_1\_162024. Proyecto de investigación aplicada Fondo María Viñas (2020).

Tipo de presentación: Panel

**Characterization of *Salmonella enterica* isolates obtained from surface water samples of the Mapocho and Maipo rivers during the years 2019 - 2020**

**Diego Fredes-García<sup>1,2</sup>**, Francisca P. Álvarez<sup>1,2</sup>, Andrea Moreno-Switt<sup>1</sup>, Aiko Adell<sup>2</sup>, Angelica Reyes-Jara<sup>4</sup>, Patricia García<sup>1</sup>, Magaly Toro<sup>3</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica, Escuela de Medicina Veterinaria, Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

(2) Universidad Andrés Bello, Ciencia Biológicas, Ciencias de la Vida, Republica 440, Santiago, Chile

(3) University of Maryland, Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition (JIFSAN), College Park, MD, USA

(4) Universidad De Chile, SANTIAGO, Chile

La resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno de impacto mundial tanto para la salud pública como para la economía de los países desarrollados y en desarrollo. Uno de los principales mecanismos de resistencia a los antimicrobianos es la producción de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), que se asocian con la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación. Este mecanismo de resistencia ha sido descrito en varios tipos de organismos, pero es particularmente relevante debido a su amplia documentación en patógenos transmitidos por alimentos como *Salmonella enterica*, principal causa de enfermedades transmitidas por alimentos en Chile. En el presente estudio caracterizamos el serogrupo de 49 aislados de *Salmonella* obtenidos de muestras de agua superficial de los ríos Mapocho y Maipo entre 2019 y 2020 en Chile. Evaluamos la presencia de los genes *bla*TEM, *bla*SHV y *bla*CTX-M, junto con la producción de BLEE y el perfil de resistencia de los aislados BLEE positivos. Se determinó el serogrupo para el 89,9% (45/49) de los aislados analizados, siendo el serogrupo B el más prevalente con el 36,6% (18/49) del total de aislados, seguido del serogrupo C1 34,7% (17/49), E 10,2 % (5/49), C2 (2/49) y D al 4,1 % (2/49). Se detectó la presencia del gen *bla*CTX-M en el 38,8% (19/49) de los aislados, y la producción de BLEE se determinó en el 22,4% (11/49) del total de aislados analizados mediante detección fenotípica de BLEE. Finalmente, se determinó el perfil de resistencia de los aislados BLEE positivos, con un 10 % (2/20) sin resistencia, un 20 % (4/20) resistente a una sola clase de antibióticos, un 15 % (3/20) con resistencia a dos clases diferentes de antibióticos, y el 55% (11/20) presenta resistencia a tres o más clases diferentes de antibióticos. La mayoría de las bacterias analizadas presentaban un perfil MDR y eran productoras de BLEE. La presencia de productores de *Salmonella* MDR y BLEE aislados del agua de riego se considera un gran problema de salud, especialmente en alimentos crudos, por lo que se requieren acciones adicionales y controlar la presencia de este tipo de patógenos.

Keywords: salmonella, resistance, water, esbl

Financing: Project FONDECYT 1231082.

Tipo de presentación: Panel

### **Antibiotic resistance among Antarctic soil bacterial isolates**

#### **Resistencia a los antibióticos entre bacterias aisladas del suelo antártico.**

**Hugo Gonzalez**<sup>1</sup>, Gabriela Carrasco<sup>1</sup>, Matías Gálvez Silva<sup>1</sup>, José Coche-Miranda<sup>1</sup>, Macarena Varas<sup>1</sup>, Jacqueline Acuña<sup>3</sup>, Milko Jorquera<sup>3</sup>, Verónica Cambiazo<sup>2</sup>, Francisco Chávez<sup>1</sup>, Andrés Esteban Marcoleta Caldera<sup>1</sup>

(1) University of Chile, Department of Biology, Faculty of Sciences, Santiago, Chile

(2) University of Chile, Laboratory of Bioinformatics and Gene Expression, National Institute of Food Technology, Santiago, Chile

(3) University of La Frontera, Laboratory of Applied Microbial Ecology (EMALAB), Scientific and Technological Center of Bioresources (BIOREN), Temuco, Chile

In recent decades, the understanding of antimicrobial resistance has grown, but until the end of the 20th century it was focused only on pathogenic bacteria and clinical environments, limiting knowledge about the origin of resistance genes. In this sense, it has been proposed that the environment could constitute an active source of resistance genes, which together constitute the natural resistome. In particular, it has been shown that in soils of the Antarctic continent, a relatively unexplored ecosystem with extreme temperatures and UV radiation, the microbiota has developed remarkable adaptations, possibly carrying new resistance mechanisms. This study aimed to characterize the natural resistome of cultivable microorganisms from the Antarctic Peninsula and Unión Glacier soils. After bacterial isolation in different media, phenotypic resistance was assayed using antibiotic disk diffusion assays and plating in MacConkey Agar + colistin medium. Isolates resistant to multiple antibiotics, especially last-resort drugs such as colistin or carbapenems, were selected for sequencing and genomic analysis. 50% of the isolates from Unión Glacier showed resistance to between 11 and 15 antibiotics, outstanding two isolates resistant to more than 20 different antibiotics, including carbapenems. Regarding King George Island isolates, 50% showed resistance between 21 and 25 antibiotics, especially non-beta-lactam antibiotics. Genomic analyses of selected isolates revealed the presence of putative resistance determinants that could partly explain the resistance phenotypes, suggesting the presence of non-canonical resistance mechanisms. Based on the results obtained, soils from the Antarctic Peninsula and even from high latitude regions such as Unión Glacier host bacteria with remarkable antibiotic resistance, which deserve further studies to understand the underlying resistance molecular mechanisms.

Keywords: Resistome, Antarctic, genome, antibiotics, soils  
Financing: FONDECYT 1221193, ANILLO mBioClim ACT210044



Tipo de presentación: Panel

**Characterization of carbapenemase producing *Enterobacter cloacae* complex (ECC) strains isolated in Chile.**

**Caracterización de cepas del complejo *Enterobacter cloacae* (ECC) productoras de carbapenemasas aisladas en Chile.**

**Víctor Herrera**<sup>1</sup>, Andrés Felipe Opazo-Capurro<sup>1</sup>, Gerardo González-Rocha<sup>1</sup>, Felipe Morales-León<sup>2</sup>

(1) Universidad de Concepción, Microbiología, Ciencias Biológicas, Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile

(2) Universidad de Concepción, Farmacia, Farmacia, Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile

**Introducción.**

El complejo *Enterobacter cloacae* (ECC) es un grupo de bacterias pertenecientes al orden Enterobacterales capaces de generar infecciones del tracto urinario, el torrente sanguíneo, entre otros. Por otro lado, son capaces de adquirir resistencia a antibióticos de última línea, como son los carbapenémicos, mediante la adquisición genes que codifican enzimas carbapenemasas, las cuales inactivan a dichos antibióticos. Es así como las cepas productoras de carbapenemasas, son clasificadas dentro las bacterias con prioridad crítica según la Organización Mundial de la Salud (OMS), siendo prevalentes en países como Estados Unidos y China, en donde son las cepas de Enterobacterales más comunes que presentan esta resistencia. La información, en Chile, sobre este tema es escasa y poco actualizada, por lo que el objetivo de este trabajo es analizar cepas de ECC productoras de carbapenemasas aisladas desde hospitales chilenos entre los años 2018 y 2022.

**Materiales y métodos.**

Se analizaron 20 cepas de ECC resistentes a carbapenémicos, cuyos perfiles de susceptibilidad antibiótica se determinaron mediante el método de disco difusión y su interpretación a través de las recomendaciones del Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI, 2023). La detección de la producción de carbapenemasas se realizó mediante la prueba fenotípica Blue-Carba, y la detección de los genes de carbapenemasas se realizó mediante PCR convencional múltiple, para los genes *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>NDM</sub> y *bla*<sub>KPC</sub>.

**Resultados.**

Los perfiles de susceptibilidad antibiótica evidencian resistencia a gran parte de los antimicrobianos ensayados a excepción de amikacina, en donde 15/20 cepas fueron susceptibles. Por otro lado, todas las cepas (20/20) mostraron un resultado positivo para la detección fenotípica de carbapenemasas y los genes encontrados correspondieron a *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>KPC</sub> y *bla*<sub>NDM</sub>, siendo la más prevalente en estas cepas, *bla*<sub>NDM</sub>.

**Conclusión.**

Se determinó el perfil de susceptibilidad a un grupo de muestras del ECC, lo que demostró un patrón de resistencia a múltiples antibióticos, incluyendo los carbapenémicos. Esta resistencia se debe, en la mayoría de los casos, a la producción de carbapenemasa tipo NDM. Estos resultados demuestran la importancia de la vigilancia a las cepas pertenecientes a este complejo, lo que podría evitar o mejorar el tratamiento de las infecciones generadas por esta bacteria.

Keywords: *Enterobacter cloacae* complex, Carbapenemasa, caracterización

Tipo de presentación: Panel

**Detección y cuantificación de genes bacterianos de resistencia a antibióticos y degradación de herbicidas en sedimentos del Lago Villarrica**

**Detection and quantification of bacterial genes of resistance to antibiotics and degradation of herbicides in sediments of Lake Villarrica**

**Milko Jorquera**<sup>1</sup>, Javiera Manquian<sup>1</sup>, Elizabeth Carrazana<sup>1,2</sup>, Cristobal Reyno<sup>1,2</sup>, Nicole Huerta<sup>1</sup>, Junhong Bai<sup>3</sup>, Ling Zhang<sup>3</sup>, Rong Xiao<sup>4</sup>, Jacqueline Acuña<sup>1</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada (EMALAB), Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Programa de Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Beijing Normal University, State Key Laboratory of Water Environment Simulation, School of Environmental, Beijing 100875, Beijing, China

(4) Fuzhou University, College of Environmental and Safety Engineering, Fuzhou 350108, Fuzhou, China

Los lagos del sur de Chile son importantes proveedores de "servicios ecosistémicos", siendo el Lago Villarrica uno de los más representativos. Sin embargo, como resultado del crecimiento económico y poblacional, sus aguas se han eutrofizado, causando preocupación pública y su categorización como "zona saturada". Por esta razón, se están implementando estudios y programa de descontaminación y gestión hídrica basado en propiedades fisicoquímicas y modelaciones matemáticas de la columna de agua. Sin embargo, estos programas no incluyen aspectos microbiológicos, a pesar que los microorganismos son importantes para la salud del lago y pública. En este estudio, genes involucrados en la resistencia a betalactamasas (*bla*-TEM), acetiltransferasa involucrada en la resistencia al cloranfenicol (*catA1*) y proteínas protectoras de ribosomas involucradas en la resistencia a la tetraciclina (*tetM*) fueron detectados y cuantificados en muestras de sedimentos mediante qPCR. En paralelo, genes de C-P liasa involucrada en la degradación del glifosato (*phnJ*) y clorohidrolasa involucrada en la degradación de la atrazina (*atzA*) fueron también detectados y cuantificados en sedimentos por qPCR. Nuestros resultados revelaron abundancias bacterianas de  $10^6$  a  $10^7$  copias de 16S ARNr  $g^{-1}$  sedimento. La presencia de genes de resistencia antibióticos ( $10^2$  a  $10^3$  copias  $g^{-1}$  sedimento) y degradación de herbicidas ( $10^1$  a  $10^3$  copias  $g^{-1}$  sedimento) también fueron detectados en los sedimentos, representando abundancias relativas de  $10^{-3}$  a  $10^{-1}$  respecto al recuento de 16S ARNr. Estos antecedentes pueden servir como línea base para que mayores estudios sobre bacterias ambientales en los sedimentos de los lagos para evaluar su uso potencial como bioindicadores de salud ambiental y pública para la gestión política de los recursos hídricos de los lagos al sur de Chile.

Keywords: Comunidades bacterianas, Lago Villarrica, resistencia a antibióticos, herbicidas, sedimentos

Financing: Investigación Conjunta Chile-China, código NSFC190012, ANID

Tipo de presentación: Panel

**Potable water sources as "vehicles" in the dispersion of antimicrobial resistance genes of clinical importance, associated with opportunistic Multidrug-resistant bacteria in a Hospital center in Valparaíso, Chile**

**Fuentes de agua potable como "vehículos" en la dispersión de genes de resistencias de importancia clínica, asociados a bacterias oportunistas Multirresistentes en un centro Hospitalario de Valparaíso, Chile**

**Diego Lira Velásquez**<sup>1,2</sup>, , Paulina Pimentel-Herrera<sup>1,2</sup>, Richard Covarrubia-Lopez<sup>1,2</sup>, Katherin Parra-Pizarro<sup>1</sup>, Francisco Estay-Arredondo<sup>1</sup>, Juan Parás-Silva<sup>1,2</sup>, Paola Echeverría<sup>3</sup>, Rubén Muñoz-Rocha<sup>3,4</sup>, Jorge Olivares-Pacheco<sup>1,2</sup>

(1) 1Grupo de Resistencia a los Antimicrobianos en Bacterias Patógenas y Ambientales (GRABPA), Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Avda. Brasil 2950, Valparaíso, Chile.

(2) 2Núcleo Milenio para la Investigación Colaborativa en la Resistencia a los Antibióticos Microb-R, Chile.

(3) 3Equipo de Infectología, Hospital Dr. Eduardo Pereira Ramírez.

(4) 4Escuela de Medicina, Universidad de Valparaíso.

**Background:** La resistencia a los antibióticos representa, en la actualidad, una creciente amenaza para la salud pública a nivel mundial. Bacterias oportunistas, como las micobacterias, han evolucionado a fenotipos Multirresistentes, portando distintos genes de resistencia de importancia clínica. En este contexto, uno de los mayores desafíos es comprender la diseminación de estos elementos, especialmente en ambientes hospitalarios. Una de las hipótesis plantea que los sistemas y fuentes de agua potable actúan como verdaderos "vehículos" para la diseminación de estos genes. Para probar esta hipótesis se seleccionó el hospital Eduardo Pereira como lugar de estudio, en donde se tomaron muestras de los lavamanos, tanto de las llaves como de los sumideros en la Unidad de Pacientes Críticos (UPC), Unidad de Tratamientos Intensivos (UTI), Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) y pabellones asociados.

**Methods:** La recolección de muestras se efectuó entre septiembre y octubre de 2021, seleccionando bacterias gram(-) en medios MacConkey y R2A suplementados con Ceftazidima y Ciprofloxacino, independientemente. La identificación bacteriana se realizó mediante MALDI-TOF-MS. Posteriormente se evaluó el perfil de susceptibilidad con un panel de antibióticos de importancia clínica y las cepas se clasificaron como Multirresistentes (MDR), Extensamente-Resistentes (XDR) y Panresistentes (PDR) según correspondiese. Además, se evaluaron cinco genes de resistencia de importancia clínica ( $bla_{KPC}$ ,  $bla_{VIM}$ ,  $bla_{NDM}$ ,  $bla_{CTX-M}$  & MCR-1), seleccionando bacterias que mostraron resistencia a Carbapenémicos y a Ceftazidima.

**Results:** Se identificaron todas las bacterias que no estaban relacionadas con patógenos críticos, y según sus pruebas de susceptibilidad, se observó una alta prevalencia de fenotipos MDR, XDR e incluso PDR. En la detección de genes de resistencia se observó prevalencia de los genes VIM, KPC & NDM, sin detección de CTX-M y MCR-1.

**Conclusion:** Este estudio entrega una mayor comprensión de la relación que existe entre bacterias resistentes y las fuentes de agua potable presentes en un Hospital, destacando la importancia de una vigilancia rigurosa y constante. También, ofrece una valiosa perspectiva para abordar el problema de la diseminación de la resistencia en entornos clínicos relevantes, con el objetivo de que los Hospitales no constituyan un factor de riesgo para los pacientes.

Keywords: Agua potable, bacterias oportunistas, dispersión de genes de resistencia, genes de resistencia, bacterias multirresistentes

Tipo de presentación: Panel

### Design of a phage cocktail for the control of vibrio strains associated with mortalities in shrimp ponds

#### Diseño de cóctel de fagos para el control de cepas de vibrios asociados a mortalidades en estanques de camarón

**Kívely Lozano**<sup>1</sup>, Roberto Bastías<sup>1</sup>, Eduardo Quiroz<sup>2</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso,, Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Curauma-Valparaíso, Chile  
(2) CONACYT-Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C., Av. Instituto Politécnico Nacional 195, Playa Palo de Santa Rita Sur, 23096., La Paz, Baja California Sur,, México

México, uno de los principales productores a nivel mundial, ha presenciado graves infecciones en estanques de camarón por distintas cepas de *Vibrio*, causando altas mortalidades. Uno de los tratamientos más comunes son antibióticos, pero el uso inadecuado ha desarrollado resistencia bacteriana, representando un riesgo ambiental y a la salud pública. Por esto se han priorizado alternativas naturales, como el uso de bacteriófagos, virus que infectan solo bacterias. Estos regulan poblaciones bacterianas de forma natural, particularmente fagos de ciclo lítico, se multiplican dentro de la bacteria, lisándola y provocando su muerte. Sin embargo, su uso como antimicrobianos tiene desafíos, como aparición de bacterias resistentes, o la búsqueda de fagos efectivos contra todas las cepas ligadas a la infección. Para afrontar estos retos diseñaron distintas estrategias como el uso de cócteles de bacteriófagos. A partir de fagos y bacterias aislados de estanques de camarones enfermos, se pretende elaborar un cóctel de fagos capaz de controlar vibrios relacionados a brotes infecciosos en camarón que minimicen la aparición de bacterias resistentes. Se seleccionarán fagos a partir de un análisis de redes de infección fago-bacteria (PBIN), tomando en cuenta su diversidad genética y bajo condiciones 30°C, TSA al 2,5% NaCl. Se realizó un ensayo de eficiencia de plaqueo y frecuencia de resistentes por cada fago y cepa de *Vibrio*. Estos ensayos se aislaron 38 variantes resistentes, estas presentaron diferencias morfológicas a su bacteria original. Para la elaboración del cóctel se usó un paquete R "PhageCocktail" usando como input a PBIN, incluyendo a las resistentes. Los análisis ejecutados hasta la fecha muestran que el mejor cóctel que elimina mayor cantidad de bacterias de la matriz, serían los fagos F1, F3 y F10. Los cuales en una infección individual generaban una frecuencia de resistentes de  $1,68 \times 10^{-2}$ ,  $1,09 \times 10^{-3}$  y  $2,72 \times 10^{-3}$ , respectivamente, (MOI 1000). Al usarlos como cóctel en la infección de la misma bacteria generó  $8,2 \times 10^{-3}$ . Menos resistentes en comparación al fago F1 controla simultáneamente más bacterias. Se estudiará el genoma de los fagos, además de comprobar que el cóctel sea capaz de controlar mezcla de vibrios. Así, podremos efectuar una alternativa natural para la vibriosis en camarones.

Keywords: Antimicrobianos, Vibrios, Fagos, Resistencia, Camarones

Acknowledgments: Laboratorio de Microbiología. Instituto de Biología de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Curauma-Valparaíso, Chile.

Tipo de presentación: Panel

**Evaluation of Physicochemical and Microbiological Factors Affecting the Removal of Antibiotics during Fish Silage Process for Application in Food Industry.**

**Sebastián López Águila**<sup>1,2</sup>, M. Cristina Diez Jerez<sup>1,4</sup>, Carolina Calderon<sup>3</sup>, Claudio Lamilla<sup>1</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

(2) Doctoral Program on Natural Resources Sciences, Universidad de La Frontera., Temuco, Chile

(3) Subgerente de Calidad y Desarrollo, Sociedad Pesquera Landes S.A., Talcahuano, Chile

(4) Department of Chemical Engineering, Universidad de La Frontera., Temuco, Chile

The development of diseases and the prolonged use of antibiotics in food production to eliminate pathogenic microorganisms have resulted in a significant accumulation of residues from these compounds. Different investigations have reported the presence of antibiotics in fish muscle, viscera, and brain, as well as in various environments such as wastewater and soil. In Chile, the most commonly used antibiotics in fish farming are oxytetracycline and florfenicol, both of which have a high persistence in fish organisms, fish parts, and natural environments. In this context, fish farming generates a significant number of by-products, including liquids, solids, and fish remains, which are processed to produce fish silage. Fish silage can be used to create a variety of food products, including hydrolyzed protein, fish oil, meal, animal feed, and fertilizers, among others. However, there have been reports of antibiotics being present in the fish silage. For this reason, it is important to find a method to degrade these compounds in food products. In order to obtain a product that is free from antibiotics. **The general objective** of this study is to evaluate physicochemical and microbiological factors on the removal of oxytetracycline and florfenicol antibiotics during the fish silage process, for application in the food industry. Among **the main results**, microorganisms, including bacteria, yeasts, and fungi, were obtained from fish silage. There was microbiological isolation, selection, extracellular enzymatic characterization, growth of the strain with antibiotics at concentrations of 1 and 5 mg/L, antibiogram testing, and the application of a methodology for the detection of antibiotics using HPLC. Bacteria (B2), yeast (CH9), and fungus (A6) were selected for future DNA extraction assays, identification, and degradation of oxytetracycline and florfenicol. Microorganisms that are capable of growing in oxytetracycline and florfenicol were obtained from a fish silage sample. Future research is expected to determine which strains are capable of degrading oxytetracycline and florfenicol.

Keywords: Antibiotics, Fish silage, Degradation

Acknowledgments: Research was funded by Doctoral Scholarship from ANID 21211427, FONDECYT 1211738, ANID/FONDAP/15130015; DIUFRO DI20-2013 and GAP DI20-3005 projects.

Tipo de presentación: Panel

**Culturable bacteria in surface sediments of Lake Villarrica show resistance to a wide variety of antibiotics and capable of using herbicide.**

**Bacterias cultivables con resistencia a antibióticos y capaces de utilizar herbicidas en sedimentos del Lago Villarrica**

**Javiera Manquían Yáñez<sup>1</sup>**, Elizabeth Carrazana<sup>1,3</sup>, Cristobal Reyno<sup>1,3</sup>, Nicole Huerta<sup>1</sup>, Junhong Bai<sup>4</sup>, Ling Zhang<sup>4</sup>, Rong Xiao<sup>5</sup>, Jacquelinne Acuña<sup>1,2</sup>, Milko Jorquera<sup>1,2</sup>

(1) Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada (EMALab), Universidad de La Frontera, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Ave. Francisco Salazar, 01145, Temuco, Chile

(2) Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN), Universidad de La Frontera, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Ave. Francisco Salazar, 01145, Temuco, Chile

(3) Programa de Doctorado en Ciencias mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Ave. Francisco Salazar, 01145, Temuco, Chile

(4) School of Environmental, Beijing Normal University, 19, Xijiekouwaida Street, Haidian District, Beijing. 100875, China

(5) College of Environmental & Safety Engineering, Fuzhou University, Fuzhou, China

Los antibióticos y herbicidas son compuestos orgánicos ampliamente utilizados en actividades antropogénicas. Como consecuencia, se ha observado una contaminación por antibióticos y herbicidas en diversos ambientes acuáticos, representando una amenaza potencial para la salud pública y ambiental. En este contexto, el Lago Villarrica es uno de los principales cuerpos de agua dulce del sur de Chile y recientemente ha sido declarado como una "zona saturada de nutrientes". En este estudio, investigamos la presencia de bacterias cultivables resistentes a antibióticos y capaces de utilizar herbicidas en sedimentos del Lago Villarrica. Las bacterias fueron cultivadas y cuantificadas en caldo suplementado con amoxicilina (AMX; 50 µg mL<sup>-1</sup>), cloranfenicol (CHL; 25 µg mL<sup>-1</sup>) y oxitetraciclina (OXT 25 µg mL<sup>-1</sup>). Posteriormente, se aislaron 46 cepas con resistencia a los 3 antibióticos y se caracterizaron respecto a su potencial patogenicidad (MacConkey agar y Cromagar), factores de virulencia (actividad hemolítica, DNasa, lecitinasa y producción de piocianina), resistencia a 11 antibióticos por método Kirby-Bauer, y utilización de los herbicidas, atrazina (50 mg L<sup>-1</sup>) y glifosato (50 mg L<sup>-1</sup>), como única fuente de nitrógeno-carbono y fósforo, respectivamente. Las cepas aisladas mostraron adicionalmente resistencia a 4 antibióticos, oxacilina (100%), cefotaxima (83%), eritromicina (96%) y vancomicina (93%). Los análisis de patogenicidad y virulencia fueron positivos en rangos de 26 a 39% y 17 a 59% de los 46 aislados, respectivamente. En cuanto a la utilización de herbicida el 56% de los aislados crecieron en medio mínimo suplementado con atrazina y glifosato. La secuenciación del gen 16S ARNr fue coherente con las resistencias observadas, donde, en general bacterias Gram negativas mostraron resistencia intrínseca a AMX, oxacilina y vancomicina. Interesantemente, 2 *Pseudomonas* y 1 *Pantoea* mostraron resistencia a todos los antibióticos ensayados y la presencia de genes de resistencia a antibióticos (blaTEM, catA y tetM) y degradación de herbicidas (atzA y phnJ). Nuestro estudio sugiere que bacterias de sedimentos pueden poseer resistencia intrínseca y adquirida a antibióticos, y la utilización de herbicidas como fuentes nutrientes. Esta investigación representa los primeros pasos para la exploración de comunidades bacterianas como indicadores de salud del Lago Villarrica.

Keywords: Resistencia a antibióticos, Bacteria, Sedimento, Lago Villarrica, Chile

Financing: Financiamiento: Proyecto ANID, código NSFC190012.

Acknowledgments: Proyecto ANID, código NSFC190012.

Tipo de presentación: Panel

**Antibiotic resistance in Gram-negative bacilli isolated from the endemic fish *Orestias chungarensis* (Vila and Pinto 1986) and *Trichomycterus chungaraensis* (Arratia 1983) from Chungará Lake, Chile**

**Resistencia a antibióticos en bacilos Gram negativos aislados de los peces endémicos *Orestias chungarensis* (Vila and Pinto 1986) y *Trichomycterus chungaraensis* (Arratia 1983) del Lago Chungará, Chile**

**Victoria Mardones-Verdugo**<sup>1,3</sup>, Claudia Torres<sup>1</sup>, Celia A. Lima<sup>4</sup>, Daniel Gomez-Uchida<sup>2,3</sup>, Jimmy Villanueva<sup>3</sup>, Claudio Quezada-Romegialli<sup>3</sup>, Poliana Strange<sup>3</sup>, Mauricio Cañas-Merino<sup>3</sup>, David Tapia<sup>3</sup>, Chris Harrod<sup>3</sup>, Gerardo González-Rocha<sup>1</sup>

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile

(2) Universidad de Concepción, Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Concepción, Chile

(3) Núcleo Milenio de Salmónidos Invasores Australes, Concepción, Chile

(4) Universidad de Concepción, Departamento de Salud Pública, Facultad de Odontología, Concepción, Chile

La resistencia a antibióticos (RA) es un fenómeno que ocurre en diversos microorganismos y ambientes, por lo que emergió el concepto "Una sola Salud", que propone que la salud humana y animal son interdependientes y están vinculadas a los ecosistemas en los cuales coexisten. Así, la RA también debe ser estudiada en ambientes no clínicos, como aguas, suelos y animales silvestres. El Lago Chungará, ubicado a casi 4500 msnm, es hábitat de los peces endémicos *O. chungarensis* y *T. chungaraensis*, y se originó por actividad volcánica, lo que arrastró metales como el mercurio. Este ambiente remoto es ideal para estudiar la RA en bacterias aisladas de estos peces. Se hizo un hisopado intestinal a 10 ejemplares de cada especie y se sembraron en agar R2A con (i) cicloheximida (CHX, 50 µg/ml), (ii) CHX y ceftriaxona (2 µg/mL) y (iii) CHX y HgCl<sub>2</sub> (2 µg/ml), a 15°C por 5 días. Se seleccionaron diferentes colonias y se almacenaron a -80°C. Se caracterizaron mediante tinción de Gram y fermentación de glucosa en agar TSI. Se seleccionaron 30 bacilos Gram negativos por especie de pez y se determinó su susceptibilidad a aminoglucósidos, beta-lactámicos, fenicoles, quinolonas, sulfonamidas y tetraciclinas. El 30% de los aislados de *O. chungarensis* fermentó glucosa y el 67% de los de *T. chungaraensis*. Considerando que halos <15 mm podrían tener algún mecanismo de RA, se calculó el índice de resistencia antibiótica (IRA) para cada grupo de aislados. El IRA para los aislados de *O. chungarensis* fue 0,16 y para los de *T. chungaraensis* 0,23. Un 87% de los aislados de *T. chungaraensis* presentó halos <15 mm para ampicilina y 93% para cefalotina. Sin embargo, para *O. chungarensis* esto se observó sólo en 67% para ambos antibióticos, reflejando una menor susceptibilidad de los aislados de *O. chungarensis*, especialmente a beta-lactámicos. Estos hallazgos parciales permiten concluir que la microbiota intestinal de *T. chungaraensis* es ligeramente menos susceptible que la de *O. chungarensis*, lo que podría estar explicado por diferencias en el hábitat de estas especies, y revelan la importancia de estudiar RA en uno de los ambientes más remotos de Chile.

Keywords: lago, altiplano, peces endémicos, resistencia a antibióticos, microbiota intestinal  
Financing: ANID – Programa Iniciativa Científica Milenio – NCN2021-056

Tipo de presentación: Panel

### **Isolations of Bacteriophages Infecting *Salmonella* Infantis from Poultry-associated Samples**

**Cristobal Martínez<sup>1</sup>**, Rocio Barron<sup>1</sup>, Andrea Moreno<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

Multidrug resistant *Salmonella* Infantis (SI) is a recently emerged foodborne pathogen, with worldwide distribution. The most common food associated with SI is contaminated poultry meat and live poultry. To control SI emergence, bacteriophages, viruses that infect and kill bacteria, represent a promising serovar-specific mitigation strategy to be used in poultry production. This study aimed to isolate and characterize *S. Infantis* bacteriophages from poultry-associated samples. Five samples of carcasses rinses and seven samples of boot swaps that were previously positive for *Salmonella* were used to isolate phages. Samples were enriched in 90 mL of TSB (Trypticase Soy Broth) with 500 uL of overnight culture of SI strains DR006 and PM57, and incubated at 37 °C overnight. The enrichments were filtered using 0.22 um pore. Then, a drop of the filtered was spot on a double-agar layer of the host (PM57 or DR006) over TSA (Trypticase Soy Agar) plates and incubated at 37 °C overnight. If lysis was observed, plaques were further purified by 4 passages or until only one plaque morphology was observed. Morphology of purified phage isolates was characterized using Transmission Electronic Microscopy (TEM), using precipitated phage stocks, stained with uracil acetate 2% and observed using Talos TEM. From positive samples for *Salmonella*, we isolated 4 phages, including one phage (CM-06) isolated in SI strain PM57 obtained from boot swaps samples and three phages (CM-01, CM-05 and RB-03) in strain DR006 obtained from carcasses rinses (CM-01) and boot swaps samples (CM-05 and RB-03). Phage CM-01, shows two different plaques morphology, after 7 transfers. This could mean the presence of two different phages or one phage with different plaques morphology. Similar results have been obtained after 4 passages for the other phages. The CM-01 TEM shows a unique morphology, consistent with siphovirus morphotype, with and icosahedral capsid and flexible long tail. Those phages show more than one plaque morphology, so we are still trying to figure out if each plaque belongs to only one phage or more than one. More experiments are required to a deep characterization and to consider these phages as a tool to biocontrol SI in different contexts.

Keywords: Antimicrobial resistance, Bacteriophages, Food safety

Financing: Fondef ID32I10093 and Fondecyt Regular 1231082



Tipo de presentación: Panel

**Relation between total polyphenols and antimicrobial activity of propolis extracts from the Maule region, Chile**

**Relación entre polifenoles totales y la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de la región del Maule, Chile**

**Jessica Mejía Forero**<sup>1</sup>, Valentina Castillo<sup>2</sup>, Cristian Jacob<sup>1</sup>, Ady Giordano<sup>2</sup>, Claudia Giovagnoli<sup>2</sup>, Gloria Montenegro<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Agronomía e Ingeniería Forestal, Av. Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago de Chile, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Química Inorgánica, Facultad de Química, Av. Vicuña Mackenna, Macul 4860, Santiago de Chile, Chile

Los propóleos chilenos pueden ser una alternativa de control microbiano, debido principalmente a su composición fenólica. La extracción asistida por ultrasonido en comparación con la convencional, podría generar una menor pérdida de la actividad biológica y garantizar la aplicación de forma óptima, favoreciendo la estabilidad y solubilidad a una baja concentración. El objetivo de esta investigación fue establecer la relación del contenido de polifenoles totales (CPT) y la actividad antimicrobiana (AA) contra *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes* de un extracto de propóleos macerado (EPM) y optimizado (EPO) de la región del Maule, para su potencial uso como bioplaguicida. Las condiciones de extracción del EPO fueron etanol al 80% (v/v) como solvente y una proporción propóleos/etanol de 1:5 (m/v) en ultrasonido durante 30 minutos a 30°C. El EPM se obtuvo con agitación manual dos veces al día durante cuatro semanas. El CPT se determinó mediante el método Folin-Ciocalteu. Se cuantificó la capacidad antioxidante (ensayo ABTS, DPPH y FRAP) y se realizó un screening fitoquímico para confirmar la presencia de estos compuestos. La AA del EPO y EPM se evaluó mediante el diámetro de inhibición (DI) a una concentración de 200 mg/mL y la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). Finalmente, se calculó el coeficiente antimicrobiano de polifenoles (CAP) considerando la CMI y el CPT (CMI/CPT). El CPT para el EOP fue de  $24.4 \pm 0.4$  mg AG/mL y se confirmó la presencia de compuestos como flavonoides. La capacidad antioxidante fue de  $35.0 \pm 0.0$ ;  $63.1 \pm 0.1$  y  $51.2 \pm 0.1$  mg equivalente Trolox/mL para ABTS, DPPH y FRAP, respectivamente. El DI y la CMI de *Listeria monocytogenes* serotipo 1/2b correspondió a  $18 \pm 0$  mm y  $3.13 \pm 0$  mg/mL con el EPO, y de  $16 \pm 0.6$  mm y  $6.25 \pm 0$  mg/mL con el EPM, respectivamente. Según el CAP ( $<1$ ) los polifenoles contribuyen a la AA. En conclusión, el EPO presentó la mayor AA, indicando que tiene potencial para ser aplicado como bioplaguicida y que, la presencia del CPT se relaciona con la actividad biológica. La eficacia de cada extracto se encuentra condicionada a su origen y forma de extracción.

Keywords: Propolis, Polifenoles, Capacidad antioxidante, Actividad antimicrobiana.

Financing: Proyecto Fondecyt Postdoctorado N°3220661

Acknowledgments: Proyecto Fondecyt Postdoctorado N°3220661 Proyecto FIC código BIP40041020-0

Tipo de presentación: Panel

**Characterization and analysis of resistance to antibiotics of the culturable bacterial community of aerobiome of the Región Metropolitana of Chile.**

**Caracterización y análisis de resistencia a antibióticos de la comunidad bacteriana cultivable del aerobioma de la Región Metropolitana de Chile.**

**Madelaine Mejías<sup>1,2</sup>**, Romina Madrid<sup>1</sup>, Karina Díaz<sup>1</sup>, Carla Gimondo<sup>1</sup>, Diego Varas<sup>1</sup>, Rodrigo Pulgar<sup>2</sup>, Dinka Mandakovic<sup>1</sup>

(1) Universidad Mayor, GEMA, Center for Genomics, Ecology and Environment, Camino La Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Laboratorio de Genómica y Genética de Interacciones Biológicas (LG2IB), Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, El Libano 5524, Macul, Santiago, Chile

La comunidad bacteriana del aire es variable según condiciones ambientales como la contaminación. Además de seleccionar a las bacterias que conforman el aerobioma, los contaminantes atmosféricos también conducen a la selección de atributos fenotípicos en los microbios aerotransportados, destacando la resistencia a los antibióticos. El "resistoma" del aire se ha abordado de forma marginal a pesar de que las bacterias resistentes a los antibióticos se diseminan globalmente a través del aire, lo que convierte a este entorno en un suministro relevante de ARG. El objetivo de este estudio fue caracterizar y analizar la resistencia los antibióticos de la comunidad bacteriana cultivable del aire de la Región Metropolitana (RM) de Chile, la cual es una de las regiones más contaminadas del mundo. Para esto, se obtuvieron colectas activas de aire en placas Petri con medios de cultivo de diferentes zonas de la RM. Luego de siete días de crecimiento, se evaluó la composición y diversidad de la comunidad cultivable del aerobioma mediante la secuenciación masiva de los miembros bacterianos. A su vez, se colectaron muestras activas de comunidades cultivables en medios de cultivos suplementados individualmente con los antibióticos ampicilina, ciprofloxacino, florfenicol, kanamicina y vancomicina en concentraciones selectivas de bacterias resistentes y se evaluó la multirresistencia de los aislados que proliferaron en presencia de los antibióticos. La secuenciación de la comunidad cultivable bacteriana nos permitió detectar 170 ASVs bacterianos. Las familias más abundantes fueron *Micrococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Rhodobacteraceae* y *Moraxellaceae*. El análisis de resistencia a antibióticos nos permitió obtener 59 aislados bacterianos resistentes a alguno de los antibióticos testeados, de los cuales la mayoría fue resistente a ampicilinas (66,1%). A su vez, el 37% de los aislados fueron multirresistentes para al menos tres de los antibióticos y 13,5% fueron resistentes para los cinco antibióticos probados. Este estudio permitió caracterizar el aerobioma cultivable de la RM, el cual no había sido descrito previamente. A su vez, la comunidad cultivable del aerobioma se transforma en una estrategia novedosa que nos permite determinar el resistoma del aerobioma bacteriano y su multirresistencia, siendo relevante en las áreas de ecología microbiana-ambiental y de salud pública.

Keywords: Aerobioma, Resistencia, Antibióticos, Comunidad cultivable

Financing: Investigación financiada por FONDECYT de Iniciación #11200319 y FONDECYT Regular #1221848.

Acknowledgments: Beca Doctoral Universidad Mayor.

Tipo de presentación: Panel

**Peptide Development or the blocking the Isopeptide bond on Spy0128 protein from *Streptococcus pyogenes***

**Michelle Mendoza**<sup>1</sup>, Michelle Mendoza Becerra<sup>1</sup>, Tomas Herмосilla<sup>1</sup>, J. Andrés Rivas-Pardo<sup>1</sup>

(1) Grupo de Biología Mecánica, Laboratorio Genómica Microbiana, Centro de Genómica y Bioinformática, Universidad Mayor, Camino la Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile.

At the onset of an infection, bacteria adhere to host cells through their pili, filamentous structures built by hundreds of repeats of pilin proteins. These proteins must withstand large mechanical challenges without unfolding, remaining anchored to the host, and resisting cleavage by proteases and oxygen radicals present in the targeted tissues. The key structural component that gives pilins mechanical resilience are internal isopeptide bonds, strategically placed so that pilins become inextensible structures.

The isopeptide bond is a covalent link formed between the side chains of the Lys179 and Asn303, located in the first and last b-strand of the pili protein. Thus, the isopeptide bond prevents any unfolding of the Spy0128, despite high mechanical forces been applied. Therefore, isopeptide bonds can be understood as the Achilles heel of pilus mechanical integrity.

Here, we target this bond by designing isopeptide-blockers, short peptides made of ~10 residues that aim to bind to the nascent Spy0128 recently synthesized. Specifically, we used RPG, a lab-made software available on GitHub, which operates as a computational pipeline for searching and screening peptides through high-throughput molecular docking. After choosing the appropriate peptides, we tested *in vitro* using co-expression assays where both, the pili Spy0128 and the peptide, were expressed. Our data shows that the peptides N14 and C96, two candidates with high binding energy evaluated through molecular docking, could compete with Asn303 and block the formation of the isopeptide bond on Spy0128. Moreover, we have engineered both peptides into an expression vector fused to SNAP-Tag for fluorescent tracking on SDS-PAGE assays. Preliminary results indicate that when the expression of the N14 peptide is followed by Spy0128, the isopeptide blocker successfully binds the pili protein, increasing its molecular weight. Whereas, when the N14 peptide follows the expression of the Spy0128, there is no change in the pili protein's electromobility. Together, our results suggest that the isopeptide blocker, after reaching high concentrations, is able to interfere with the formation of the isopeptide bond on nascent Spy0128 pili protein.

Keywords: *S. pyogenes*, Bacterial adhesion, isopeptide bond

Financing: Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 1221064

Acknowledgments: This research was supported by the National Agency for Research and Development (ANID), FONDECYT 1221064

Tipo de presentación: Panel

**New lineage ST13842 of endophytic *Escherichia coli* producing CTX-M-8 isolated from organic tomato**

**Nuevo linaje ST13842 de *Escherichia coli* endofítica productora de CTX-M-8 aislada de tomate orgánico**

**Brandon Núñez-Rojas<sup>1</sup>**, Sandra Quilodran<sup>1</sup>, Rafael Valiente<sup>1</sup>, Fredy Riquelme<sup>1</sup>, Andres Opazo-Capurro<sup>2</sup>, Danny Fuentes-Castillo<sup>1</sup>  
(1) Universidad de Concepción, Departamento de Patología y Medicina Preventiva, Medicina Veterinaria, Chillán, Chile  
(2) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Ciencias Biológicas, Concepción, Chile

Patógenos resistentes a antimicrobianos (RAM) de prioridad crítica amenazan la salud humana y animal. Algunas bacterias potencialmente patogénicas tienen la capacidad de tener un estilo de vida endofítico permaneciendo en los espacios intercelulares de vegetales y frutas, resistiendo la desinfección externa. Se han registrado Enterobacterales endofíticos productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en alimentos de consumo humano, siendo de alta relevancia para la salud pública. Un estudio de vigilancia epidemiológica de bacterias RAM de importancia crítica, analizó ocho tomates de la Región de Ñuble. Fueron sometidos a desinfección externa sumergiéndolos 1 minuto en etanol 70%, 4 minutos en hipoclorito de sodio 2,5%, nuevamente etanol 70% por 30 segundos y lavados con agua destilada. Cuatro gramos de contenido interno fueron macerados, una alícuota sembrada en caldo lauril sulfato triptosa a 37°C durante toda la noche. Se traspasó a agar MacConkey suplementado con ceftriaxona (2ug/mL). Los cultivos positivos fueron sometidos a identificación mediante el sistema API® 20E (Biomérieux Francia), y evaluación de susceptibilidad antimicrobiana mediante difusión de discos. La producción de BLEE fue confirmada mediante test de sinergismo de doble disco. Un aislado productor de BLEE fue sometido a extracción de ADN usando InstaGene Matrix (Bio-Rad) para secuenciar su genoma completo mediante Illumina NextSeq. El ensamble genómico fue realizado en la página web BV-BRC (<https://www.bv-brc.org/>). El archivo fasta se sometió a análisis MLST y genes de resistencia mediante la página web *Center of Genomic Epidemiology* (<http://www.genomicepidemiology.org/>)

De las muestras de tomate se aisló una cepa nombrada TEC de *Escherichia coli* multirresistente productora de BLEE. Su resistoma estaba compuesto por genes de resistencia a betalactámicos (*bla*CTX-M-8 y *bla*TEM-1A), sulfonamidas (*su*2), tetraciclinas (*tet*A) y anfenicoles (*flo*R). El análisis MLST arrojó que correspondía a un nuevo ST asignado ST13842.

Este estudio detecta un nuevo linaje de *E. coli* endofítica en tomate. La cepa TEC era multirresistente a antimicrobianos y productora de BLEE, patógeno de prioridad crítica según la Organización Mundial de la Salud. Las bacterias endofíticas pueden ser importantes en la diseminación de la RAM. Por su impacto en la salud pública, la presencia de patógenos endofíticos cargando determinantes de multirresistencia debe ser estudiada.

Keywords: antimicrobial resistance, one health, oms, betalactamasas

Tipo de presentación: Panel

**Resistance to carbapenem antibiotics in multiresistant pathogenic bacteria isolated from a hospital in Santiago de Chile.**

**Resistencia a antibióticos carbapenémicos en bacterias patógenas multirresistentes aisladas desde un hospital de Santiago de Chile.**

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

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

La resistencia a los antimicrobianos es un grave problema de salud pública, que ha llevado a la disminución de opciones terapéuticas frente a infecciones graves causadas por bacterias multirresistentes. Actualmente, se ha planteado la existencia de una pandemia silenciosa por diseminación y aumento de la resistencia, que ha sido potenciada por la pandemia causada por el virus SARS-CoV-2, afectando la susceptibilidad a los principales antimicrobianos de uso en clínica. Los antibióticos carbapenémicos son una importante alternativa frente al aumento de bacterias Gram negativo resistentes a otros antibióticos de amplio espectro. El objetivo de este trabajo consistió en conocer el perfil de resistencia a antibióticos carbapenémicos en bacterias patógenas multirresistentes aisladas desde un hospital de Santiago de Chile entre los años 2020 a 2022. Para llevar a cabo este objetivo, se analizaron 110 cepas de bacilos Gram negativo multirresistentes procedentes de aislados clínicos, mediante el sistema automatizado de microdilución en caldo BD Phoenix y antibiograma en placa, frente a los principales antibióticos de uso en clínica, incluyendo los antibióticos carbapenémicos imipenem, meropenem y ertapenem. Los resultados mostraron que, del total de las 110 muestras analizadas, un 66,4% resultó resistente frente al menos 1 antibiótico carbapenémico, un 28,2% sólo a uno, un 22,7% a dos y un 15,4% a los tres antibióticos carbapenémicos analizados. Dentro de las cepas con alguna resistencia a carbapenémicos un 42,7% del total mostró resistencia a meropenem, un 39,1% a ertapenem y un 40% a imipenem. Además, las especies bacterianas que mostraron resistencia a carbapenémicos fueron principalmente *Klebsiella pneumoniae* (41,1%) y *Acinetobacter baumannii* (12,3%). En conclusión, en la muestra analizada existe una alta tasa de resistencia a carbapenémicos, en particular en bacterias Gram negativo, conocidas por el desarrollo de resistencia a antimicrobianos. Si bien en la actualidad existe una creciente resistencia frente a los principales antibióticos carbapenémicos, el uso de antibióticos de este grupo farmacológico, como imipenem, siguen siendo importantes alternativas de tratamiento en pacientes con infecciones causadas por bacterias multirresistentes, debido al lento desarrollo de antimicrobianos en relación al aumento de la tasa de resistencia.

Keywords: Antimicrobianos, Resistencia a antibióticos, Bacterias patógenas

Acknowledgments: Proyecto DIUA181-2020 Universidad Autónoma de Chile.

Tipo de presentación: Panel

**Synergistic effect of Ru (II)-based type II photodynamic therapy for Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus***

**Efecto sinérgico de la terapia fotodinámica tipo II basada en Ru (II) para *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* multirresistentes**

**Christian Erick Palavecino**<sup>1</sup>, Scarlet Vallejos<sup>1</sup>

(1) Universidad Central de Chile, Laboratorio de Microbiología Celular y fotodinámica, Instituto Investigación y Postgrado, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Lord Cochrane 418, 3° piso, Santiago, Chile

**Background.** Due to the low development of new antibiotics, the increase in bacterial resistance to multiple drugs is one of the most pressing global threats to human health in the 21st century. The Gram-negative bacilli *K. pneumoniae*, producers of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) and carbapenemase (KPC), and the Gram-positive cocci methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) stand out. In this scenario, treatment alternatives other than antibiotics, such as antimicrobial photodynamic treatment (aPDT), must be explored. The aPDT uses light to activate photosensitizer (PS) compounds to produce photooxidative stress by generating reactive oxygen species (ROS) to produce superoxide ( $O_2^{\cdot-}$ ), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), and singlet oxygen ( $^1O_2^*$ ); that damages bacterial structures. We have synthesized the **PSRu-L2** and **PSRu-L3** PSs compounds. **Methods:** The compound aPDI activity was determined by serial micro dilutions exposing *K. pneumoniae* KPC<sup>+</sup> and MRSA to 0.612 J/cm<sup>2</sup> of light dose. PS interaction with cefotaxime was determined on a collection of 118 clinical isolates of *K. pneumoniae*. To characterize the mode of action of PDI, the bacterial response to oxidative stress was measured by RT-qPCR. The cytotoxicity on mammalian cells was assessed by trypan blue exclusion. **Results.** These compounds show aPDI capacity, inhibiting  $>3\log_{10}$  the bacterial growth of KPC and MRSA at doses of 8  $\mu$ g/mL and 4  $\mu$ g/mL, respectively inhibiting by  $3\log_{10}$  ( $>99.9\%$ ) and lethality of 30 minutes. Remarkably, they are synergic with imipenem, cefotaxime, and ceftazidime. Hitherto, on a BLEE population of clinical isolates of *K. pneumoniae*, increased to  $>6\log_{10}$  with an FIC value of 0.16 and 0.17, respectively. Also, PSRu-L2 and PSRu-L3 showed no toxicity in HEp-2 and HEK293T mammalian cells. Moreover, the photooxidative stress over *K. pneumoniae* stimulates the transcriptional response to the extracytoplasmic sigma factor *rpoE*. The upregulation of the extracytoplasmic virulence factors *mrkD*, *magA*, and *rmpA* accompanied this response. The PSIR-3 and PSRu-L3 compounds retain their aPDT activity when embedded in a translucent hydrogel matrix, inhibiting the growth of KPC and MRSA strains. **Conclusions.** Therefore, through the type II effect, our PS compounds are bactericidal and synergistic in photodynamic therapy for gram-negative and gram-positive bacteria. Also, the PS compounds do not primarily affect mammalian cells.

Keywords: MDR bacteria, Mode of action, Complementary therapies, Financing: Universidad Central de Chile: CIP2021004

Acknowledgments: We want to thank Myriam Pizarro, head of the "Hospital El Carmen de Maipú" laboratory, for her collaboration and provision of the clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*.

Tipo de presentación: Panel

**Resistance, Adaptation and Biofilm Formation Capacity: *Salmonella* in the Poultry Industry**

**Resistencia, Adaptación y capacidad de formación de Biopelículas: *Salmonella* en la Industria Avícola**

**Valentina Pavez<sup>1</sup>**, Gabriel Krüger<sup>1</sup>, Coral Pardo-Esté<sup>1,3</sup>, Francisca Urbina<sup>1</sup>, Nicolás Pacheco<sup>1</sup>, Juan Castro-Severyn<sup>2</sup>, Rolando Vernal<sup>4</sup>, Claudia Saavedra<sup>1</sup>

(1) Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile.

(2) Laboratorio de Microbiología Aplicada y Extremófilos, Departamento de Ingeniería química, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.

(3) Laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Universidad Católica del Norte, Antofagasta 1240000, Chile.

(4) Laboratorio de Biología Periodontal, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

El estudio de la resistencia de *Salmonella* a diversos factores de estrés ayuda a la entender la adaptación y formación de biopelícula. En la industria avícola, la resistencia de *Salmonella* a desinfectantes y su capacidad de formar biopelículas son preocupaciones importantes. En este estudio se evaluaron 155 cepas de *Salmonella* aisladas de una granja avícola, abarcando diferentes etapas de producción (manufactura, engorda, incubación y matanza). Se analizó la respuesta a diferentes tipos de estrés oxidativo, ácido y osmóticos donde destacaron los serotipos Infantis, y Heidelberg. Un 72,5% de todas las cepas evaluadas superó el umbral de 4 mM de supervivencia en hipoclorito de sodio, la mayor resistencia se encontró en los aislados de la granja de pollo y el matadero. También se determinó la capacidad de formar biopelículas y un 78% de las cepas presenta esta habilidad. Se estableció una escala de intensidad de formación de biopelículas, donde el 34% mostró una muy alta formación, destacando el serotipo Infantis (55%). La concentración mínima inhibitoria y bactericida en biopelícula ante hipoclorito de sodio se determinó en cepas con muy alta formación de biopelículas. El 62% duplicó su concentración de inhibición en estado de biopelícula con respecto a la planctónica, mientras que la concentración bactericida fue de cuatro a ocho veces superior respecto a la planctónica, especialmente en serotipos Infantis presentes en matadero y granja de pollo. Finalmente, se seleccionaron dos aislados Infantis SE081-matadero y SE016-granja de pollo, para ensayos de microscopia electrónica de barrido (SEM) en estado de formación de biopelículas bajo estrés oxidativo. Cambios significativos se observaron en comparación con la cepa control no industrial (SARB 27, *S. Infantis*), demostrando adaptación a condiciones hostiles. Estas capacidades de adaptación son el resultado de una selección natural y presión evolutiva en la industria avícola debido a protocolos de limpieza. Por lo tanto, la resistencia y formación de biopelículas dificultan la erradicación de patógenos, representando un riesgo latente de cepas altamente resistentes y potencialmente patógenas para la salud pública.

Keywords: *Salmonella*, Resistencia, Microscopia Electronica de barrido, Estrés Ambiental, Biopelículas

Financing: ANID-FONDECYT Regular 1210633 y ANILLO-ANID ATE220007.

Acknowledgments: Agradecemos la ayuda de Rocío Orellana de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile en la obtención de las imágenes SEM y a los Proyectos ANID-FONDECYT Regular 1210633 y ANILLO-ANID ATE220007.

Tipo de presentación: Panel

**Gram-negative bacilli resistant to aminoglycosides and quinolones isolated from sewage waters of Gran Concepción.**

**Bacilos Gram negativos resistentes a aminoglucósidos y quinolonas aislados de aguas servidas del Gran Concepción**

**Carlos Peña Raddatz<sup>1</sup>**, Franco Ilabaca Carrasco<sup>1</sup>, Claudia Torres Bustos<sup>1</sup>, Andrés Opazo-Capurro<sup>1</sup>, Helia Bello-Toledo<sup>1</sup>, Gerardo González-Rocha<sup>1</sup>

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile

Las aguas servidas (AS) desempeñan un papel crítico en la propagación de la resistencia antimicrobiana, albergando bacterias resistentes (BRA) y genes de resistencia a los antibióticos (GRA). El objetivo de esta investigación fue evaluar la presencia de BRA y GRA en el afluente y efluente de una planta de tratamiento de AS (PTAS) que abarca 12 comunas de la Región del Biobío, con aproximadamente 1,2 millones de habitantes (GCCP). Muestras integradas de 24 h se colectaron en afluente y efluente y se sembraron en agar MacConkey con y sin ciprofloxacino (0,6 ug/mL), amicacina (58 ug/mL) o gentamicina (14 ug/mL), e incubaron a 35°C por 24-48 h. Desde las placas con antibiótico se seleccionaron 145 colonias de bacilos Gram negativos, en base a su morfotipo. Se caracterizaron por fermentación de glucosa (FG) en agar TSI y producción de oxidasa. Se realizó antibiograma con 16 antibióticos representantes de quinolonas, aminoglucósidos, beta-lactámicos y tetraciclinas. En base al diámetro del halo de inhibición se clasificaron en: (A) < 11 mm, (B) 11-14 mm y (C) > 14 mm. Se pesquisarón GRA a aminoglucósidos y quinolonas por PCR convencional. Desde el afluente se seleccionaron 100 aislados, mayoritariamente FG (91%) y oxidasa [-] (62%), probablemente *Enterobacterales*; en cambio, en el efluente se seleccionaron 45 aislados, todos no FG y oxidasa [-]. En afluente el mayor porcentaje de aislados en categoría A y B se observó para estreptomomicina (71%), ácido nalidíxico (56%), gentamicina (47%) y tobramicina (42%). En efluente, en cambio, el porcentaje mayor fue para cefotaxima y ceftriaxona (100%), estreptomomicina (96%) y kanamicina (93%). Para fluoroquinolonas y carbapenémicos, la mayoría de los aislados, en ambos grupos, están en la categoría C. Los GRA relacionados con aminoglucósidos y quinolonas solo se detectaron en cepas de afluente y los principales fueron: *aac(6)Ib* (43%), *ant(3)Ia* (25%), *qnrA* (12%) y *qnrB* (14%). Sin embargo, producción de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) se detectó en aislados de ambos orígenes. Se concluye que el afluente de AS en el GCCP alberga BRA y GRA, principalmente relacionados con aminoglucósidos, y esta presencia disminuye en el efluente de la PTAS.

Keywords: Resistencia antibiótica, Aguas servidas, Resistencia a aminoglucósidos y quinolonas, BLEE, One Health

Financing: Fondo Tesis Bioingeniería, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.

Acknowledgments: Agradecemos a Biodiversa S.A por proporcionar las muestras para realizar la investigación.



Tipo de presentación: Panel

**Antibiotic resistance characterization of critical priority pathogens isolated from different drinking water sources in Dr. Eduardo Pereira Hospital**

**Caracterización del fenómeno de resistencia a los antibióticos en patógenos críticos aislados desde diferentes puntos de agua potable del Hospital Dr. Eduardo Pereira**

**Paulina Pimentel-Herrera**<sup>1,2</sup>, **Diego Lira-Velásquez**<sup>1,2</sup>, **Katherin Parra-Pizarro**<sup>1,2</sup>, **Juan Parás-Silva**<sup>1,2</sup>, **Paola Echeverría**<sup>3</sup>, **Rubén Muñoz-Rocha**<sup>3,4</sup>, **Jorge Olivares-Pacheco**<sup>1,2</sup>

(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, Valparaíso, Chile

(2) Iniciativa Milenio para la Investigación Colaborativa en la Resistencia a los Antibióticos Microb-R, Chile, Santiago, Chile

(3) Equipo de Infectología Hospital Dr. Eduardo Pereira R, Valparaíso, Chile

(4) Universidad de Valparaíso, Facultad de Medicina, Valparaíso, Chile

La resistencia a los antibióticos es un problema de salud pública debido al número reducido de agentes antimicrobianos eficaces contra las infecciones bacterianas y las muertes asociadas a ellas. Esta problemática es de gran relevancia para los centros de salud. Las superficies y lavamanos de áreas de cuidado que no están adecuadamente descontaminadas albergan patógenos resistentes a múltiples antibióticos, como los  $\beta$ -lactámicos, que son relevantes para la salud humana. *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y enterobacteriáceas resistentes a carbapenémicos, son patógenos categorizados como prioridad crítica según la OMS. Con torulas estériles se realizó un barrido en llaves y sumideros de los lavamanos de pabellones, UTI y UCI del Hospital Eduardo Pereira. Las muestras se resuspendieron en solución salina, se hicieron diluciones seriadas y se sembraron por duplicado en agar MacConkey suplementado en forma independiente con ceftazidima y ciprofloxacino. Aquellas colonias bacterianas puras se clasificaron taxonómicamente mediante la técnica MALDI-TOF-MS. Se realizaron pruebas de susceptibilidad a los antibióticos para los patógenos de interés siguiendo la técnica de difusión en disco. Para identificar los mecanismos de resistencia a los  $\beta$ -lactámicos, con la técnica de PCR se evaluó la presencia de enzimas inactivantes relevantes a nivel clínico, tales como las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido ( $bla_{CTX-M}$ ) y carbapenemasas transferidas horizontalmente ( $bla_{KPC}$ ,  $bla_{VIM}$  y  $bla_{NDM}$ ).

El 50% de las enterobacteriáceas identificadas (18 cepas) fueron extensivamente resistentes (XDR) principalmente a los  $\beta$ -lactámicos, combinaciones con inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, fluoroquinolonas y antifolatos. En *P. aeruginosa* (18 cepas), el 16,7% era XDR, destacando la resistencia a las fluoroquinolonas, aminoglucósidos y carbapenémicos. También se identificaron los patógenos emergentes *Pseudomonas oleovorans* (7 cepas) y *Stenotrophomonas maltophilia* (3 cepas). En *P. oleovorans* un 71,4% fue XDR, destacando la resistencia a los  $\beta$ -lactámicos y fluoroquinolonas. *S. maltophilia* fue susceptible a los antibióticos evaluados. En las enterobacterias resistentes a carbapenémicos se detectaron los genes  $bla_{VIM}$ ,  $bla_{KPC}$ ; y  $bla_{CTX-M}$  también fue detectado. Solo se detectó  $bla_{VIM}$  en las cepas resistentes a carbapenémicos de *P. aeruginosa* y *P. oleovorans*.

La acumulación de bacterias multirresistentes en los sistemas de agua representa una amenaza intrahospitalaria y medioambiental, debido a la posible propagación de microorganismos resistentes a los antibióticos.

Keywords: Resistencia antimicrobiana, Patógenos críticos, Multirresistencia

Tipo de presentación: Panel

**Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolated from aquatic environments associated with wastewater from the city of Popayán, Cauca, Colombia**

**Resistencia antibiótica en *Escherichia coli* aislada de ambientes acuáticos asociados con aguas residuales de la ciudad de Popayán, Cauca, Colombia.**

**Nathaly Pérez Muñoz**<sup>1</sup>, Jennifer-Yadira Tovar-Rosero<sup>1</sup>, Roberto M. Vidal<sup>2</sup>, Matías S. Castro<sup>3</sup>, Carla G. León<sup>3</sup>, David A. Montero<sup>3</sup>, Clara Giraldo<sup>1</sup>, Daniela Alejandra Garrido Jara<sup>3</sup>

(1) Programa de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación, Universidad del Cauca, Colombia.

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

(3) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile.

**Introducción:** La resistencia bacteriana, intensificada por el uso inapropiado de antibióticos, amenaza la salud global. El vertimiento de trazas de antibióticos y bacterias resistentes en cuerpos de agua potencialmente amplifica este problema. Este estudio se centró en identificar cepas resistentes de *Escherichia coli* en un tramo del Río Molino, que recibe un vertimiento de aguas residuales a cielo abierto por medio de una tubería. **Materiales y métodos:** Se recogieron muestras en tres puntos del río: en el vertimiento y aguas arriba y abajo del mismo. Usando la metodología 9222 de filtración por membrana, se procesaron las muestras y se sembraron en duplicado en placas de agar EMB, sin antibióticos o con Ciprofloxacino y Cefuroxima. Las muestras se incubaron a  $36 \pm 2$  °C durante 24-48 horas. Colonias específicas se resembraron en Agar Sangre y luego se identificaron en Agar Mac Conkey por fermentación de lactosa. Se efectuaron pruebas bioquímicas, y se evaluó la sensibilidad antibiótica con VITEK 2 de bioMérieux, usando la tarjeta AST-N271. **Resultados:** se obtuvieron 30 aislamientos de la familia Enterobacteriaceae y uno de la familia Moraxellaceae. En las muestras del vertimiento se encontró el mayor número de enterobacterias con un total de 13 aislamientos, seguido por las muestras aguas abajo con 10 aislamientos y finalmente las muestras aguas arriba con 7 aislamientos. Las enterobacterias aisladas pertenecen a 7 especies, destacándose *E. coli* (n= 19), *Enterobacter cloacae* (n=5) y *Enterobacter asburiae* (n=3). De la familia Moraxellaceae, la bacteria aislada correspondió a *Acinetobacter baumannii*, obtenida en el vertimiento. De los aislamientos, 16 eran resistentes a al menos 2 antibióticos, con *E. coli* mostrando la mayor resistencia. El índice de multiresistencia a los antibióticos (MAR) varió entre 0,143 y 0,90, siendo más elevado en las *E. coli* del vertimiento.

**Conclusiones:** Se confirmó la presencia de bacterias multirresistentes en el Río Molino. Estos hallazgos resaltan la urgencia de abordar la contaminación de agua con bacterias multirresistentes y sugieren la necesidad de mayores estudios para comprender la relación entre vertimientos y resistencia bacteriana.

Keywords: *Escherichia coli*, Resistencia antibiótica, aguas residuales, ambientes acuáticos

Financing: Proyecto FONDECYT Postdoctorado 3190524, otorgado a DAM. Proyecto FONDECYT Regular 1211647, otorgado a RMV.

Tipo de presentación: Panel

**Drug repurposing to inhibit the growth of *Piscirickettsia salmonis* by in vitro screening**

**Reposicionamiento de fármacos para inhibir el crecimiento de *Piscirickettsia salmonis* mediante screening in vitro**

**Josefina Reyes-Arroyo**<sup>1</sup>, Andrea Talamilla-Espinoza<sup>1</sup>, Dinka Mandakovic<sup>2</sup>, Rodrigo Pulgar<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Laboratorio de Genómica y Genética de Interacciones Biológicas (LG2IB), Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, El Líbano 5524, Macul, Santiago, Chile

(2) Universidad Mayor, GEMA Center for Genomics, Ecology and Environment, Camino La Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile

La Septicemia Rickettsial Salmonídea (SRS), causada por la bacteria *Piscirickettsia salmonis*, es la enfermedad infecciosa más importante en la industria salmonera en Chile. Para su control, se usan altas dosis de antibióticos, siendo los más comunes el Florfenicol y Oxitetraciclina, los cuales no tienen los efectos esperados y promueven la emergencia de cepas resistentes. Por estas razones, se hace relevante la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento para SRS.

En este estudio se realizó un *screening in vitro* de 1.961 fármacos (10 µM) aprobados por la FDA (L1021 APExBio) para evaluar el efecto sobre el crecimiento de la bacteria *Piscirickettsia salmonis* LF-89 (ATCC VR-1361). A partir de esto se identificó un total de 90 fármacos que inhibieron significativamente su crecimiento por sobre un 60% comparado con la condición de crecimiento sin fármacos. Al clasificar estos 90 fármacos según su agrupación farmacológica o anatómica principal (código ATC de primer nivel) se identificaron las categorías "Anti-infectivos de uso sistémico" y de "Órganos sensoriales" como enriquecidas.

Adicionalmente, se evaluó el efecto de estos 90 fármacos sobre el crecimiento de un aislado del genogrupo EM-90 de *P. salmonis*. Con esto se identificó que 80 fármacos (89%) mantuvieron su capacidad de inhibición del crecimiento en este aislado. Como se esperaba, entre los fármacos inhibidores comunes para ambos genogrupos, 76 fármacos (95%) correspondieron a la categoría de antibacteriales. Sin embargo, interesantemente hubo 4 fármacos (5%) que inhibieron el crecimiento bacteriano sin ser parte de esta categoría y que su uso convencional los clasifica como antineoplásicos, cardiovasculares, desparasitarios y relajantes musculares. Estos resultados, sugieren que existen fármacos no clasificados como antibacterianos que pueden ser reposicionados como potenciales terapias para el control de SRS.

**Keywords:** *Piscirickettsia salmonis*, Screening, Reposicionamiento de fármacos, Antibacteriales, Salmonicultura

**Financing:** Investigación financiada por FONDECYT Regular #1221848 y FONDECYT de Iniciación #11200319

Tipo de presentación: Panel

### Antibiotic resistance genes distribution in dairy slurries - rhizosphere and bulk soil continuum in southern Chile dairy farms

#### Distribucion de genes de resistencia antibiotica en el continuo de purines lecheros - rizosfera y suelo sin influencia vegetal en granjas lecheras del sur de Chile

Joaquin Rilling<sup>1,2</sup>, Marco Campos<sup>3</sup>, Constanza Venegas<sup>1</sup>, Milko Jorquera<sup>1,2</sup>, Jacqueline Acuña<sup>1,2</sup>

(1) Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada (EMAlab), Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

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

(3) Laboratorio de Investigación en Salud de Precisión, Departamento de Procesos Diagnósticos y Evaluación, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Católica de Temuco.

Farm derived manure and slurries application as soil organic fertilizer amendments has been a common practice since the beginning of agriculture. This responds to several factors, such as residues management, nutrients recycling and organic matter inputs provided. In this sense, modern agriculture administers antibiotics to farm animals to assure production yields, disease control and growth promotion. In this study, we explored the microbial communities and thirteen antibiotic resistance genes (ARGs) in four southern Chile dairy farms on the dairy slurries – rhizosphere and bulk soil transect. As methods, total bacteria (16s rRNA), thirteen ARGs (*tetA*, *tetG*, *tetM*, *tetQ*, *tetW*, *tetX*, *sul1*, *sul2*, *blaTEM*, *blaCTX-M*, *blaOXA-1*, *ermB*, and *dfra1*) and two related integrases (*int1*, *int2*) abundances were measured via qPCR. Total bacteria communities were assayed via Illumina MiSeq. Finally, extended spectrum beta-lactamase (ESBL; *blaTEM*) and antibiotic inactivation tetracycline resistance (*tetX*) communities were explored with Oxford Nanopore. As results, all ARGs were detected in all sample types, with the exception of *blaOXA-1* in bulk soils. In general, the ARGs abundance decreased from slurries to bulk soil (from  $\sim 10^6$  in slurries, to  $\sim 10^1$  copies per g sample<sup>-1</sup>). As revealed by ARGs:16s rRNA ratio, all samples harbor equal relative abundance proportions. Contrarily to this trend, *tetX* abundances were equal or higher to slurries in all soil samples, revealing a possible enrichment of this ARG in soils induced by slurries input. For total communities, slurries were dominated by Firmicutes and Bacteroidota, whilst soils had larger proportions of Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria, and Chloroflexi with different ratios related to sample type (rhizosphere or bulk soil). Finally, Nanopore sequencing revealed the relative abundance of *blaTEM* and *tetX* variants as equal for all samples. The *blaTEM* communities were dominated by TEM-229 and TEM-116 variants ( $\sim 15$ -20% for TEM-229, and  $\sim 11$ -20% for TEM-116, respectively). Likewise, *tetX* was distributed as *tetX3* (50%), *tetX4* (30%) and *tetX5* (20%). As conclusions, despite differences in community compositions, the ARG abundance data provides enough information to assume that all farms soil bacterial communities have been enriched with ARGs derived from slurries application.

Keywords: Dairy Slurries, Antibiotic resistance genes, resistome enrichment

Financing: This work was funded by ANID FONDECYT Postdoctorado no. 3210594.

Acknowledgments: Acknowledgements: ANID FONDECYT Postdoc. 3210594 (J.R.); FONDECYT Iniciacion no. 11230308 (M.C.); FONDECYT Regular 1201386 (M.J.); and FONDECYT Regular no 1221228 (J.A). In parallel, Universidad de La Frontera (DI21-0044) (J.A.); Instituto Milenio Centro de Regulacion del Genoma (CGR) (J.A., J.R.).

Tipo de presentación: Panel

**In vitro evaluation of the bacteriophage cocktail CVA-001 with high lytic efficacy against *Salmonella enterica* isolated in a field trial**

**Victoria Rojas-Martínez<sup>1</sup>**, Matías Aguilera<sup>1</sup>, Eduardo Tobar-Calfucoy<sup>1</sup>, María Jesus Serrano<sup>1</sup>, Rodrigo Norambuena<sup>1</sup>, Andrea Sabag<sup>1</sup>, Luis León<sup>1</sup>, Soledad Ulloa<sup>1</sup>, Pablo Cifuentes<sup>1</sup>, Hans Pieringer<sup>1</sup>, Nicolás Cifuentes<sup>1</sup>  
(1) PhageLab Chile SpA, Research Projects and Phages, Centro de Innovación Anacleto Angelini, Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

*Salmonella enterica* is a major human foodborne pathogen worldwide, and a great concern for the poultry industry. In Brazil, the second largest chicken producer and exporter of the globe, Minnesota and Heidelberg serovars of *Salmonella* are rising in the farms. The emergence of antimicrobial resistant *Salmonella* and the increase of restrictions in the use of antibiotics in the U.S. and Europe, have encouraged phage therapy as an alternative for prevention and control. In recent years, diverse *in vitro* studies of phage cocktails have been evaluated but *in vivo* studies are few and limited. It is therefore necessary to conduct field trials in order to understand the effect of bacteriophage cocktails over large and diverse populations of *Salmonella* on their natural environment. Here we evaluated the phage cocktail CVA-001 in a high scale field trial in a Brazilian commercial chicken company, involving more than 4 million broiler chickens. 75% of the chickens were treated with three doses of the cocktail during four consecutive cycles, and the rest were used as control. In each cycle, faecal and shoe cover samples were collected and 694 *Salmonella* were isolated. Minnesota (76,6%) and Heidelberg (10,5%) were the most prevalent serovars. All field-isolates were challenged against CVA-001 *in vitro* and 96,2% of them were susceptible to the cocktail. The cocktail maintained its high lytic activity across all cycles, and its high efficacy over Minnesota and other 20 serovars. The cocktail-resistant isolates (n=26) were sequenced and studied in depth. Of these, 53,8% and 23,1% corresponded to serovars Heidelberg and Worthington, respectively. Bioinformatic analysis predicted different patterns of virulence factors and a widespread resistance to antibiotics among the *Salmonella* resistant isolates. The cocktail formulated at the facilities of PhageLab Chile demonstrated to maintain its high *in vitro* lytic efficacy against *Salmonella* isolated from a large field trial, presenting a promising biocontrol alternative to be applied *in vivo*.

Keywords: *Salmonella*, bacteriophage, field trial

Financing: This work was supported by the Chilean Economic Development Agency (CORFO) [grant number 22CYE-201546, 2022] ; and by private funding.

Tipo de presentación: Panel

### **Evaluation of cross-resistance between bacteriophages of the cocktail SEA-007I in *Salmonella enterica* isolates**

**Andrea Sabag Matilla**<sup>1</sup>, Daniel San Martin<sup>1</sup>, Marcela Zabner<sup>1</sup>, Sofia Zamudio<sup>1</sup>, Pabla Lara<sup>1</sup>, Cecilia Muster<sup>1</sup>, Daniel Tichy<sup>1</sup>, Pamela Camejo<sup>1</sup>, Luis León<sup>1</sup>, Michael Pino<sup>1</sup>, Paola Mora<sup>1</sup>, Karen Mujica<sup>1</sup>, Soledad Ulloa<sup>1</sup>, Hans Pieringer<sup>1</sup>, Pablo Cifuentes<sup>1</sup>, Gastón Higuera<sup>1</sup>, Daniel Castillo<sup>1</sup>, Nicolás Cifuentes<sup>1</sup>

(1) Phagelab Chile SpA, Research Project & Phages, Centro de Innovación Anacleto Angelini, Av. Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago, Chile

*Salmonella enterica* is one of the most common zoonotic foodborne pathogens. Poultry farms are considered major contributors of *Salmonella* antimicrobial resistance owing to excessive use of antimicrobial products as prophylactic treatment. Phage therapy has been considered as a rising alternative treatment to fight against multidrug resistant *Salmonella* strains. Recently, our group developed a bacteriophage cocktail with high efficacy as a biocontrol agent against prevalent *Salmonella* serovars from poultry farms.

To evaluate the potential rise of cross-resistance between the bacteriophages of the cocktail *in vivo*, we studied events of cross-resistance between individual bacteriophages *in vitro*. A single *Salmonella* isolate susceptible to the four bacteriophages of the cocktail SEA-007I (M7, SAEN098P03, SAEN100P08 and SAENMB161P02) was used as a wild-type (WT) strain. Bacteria were infected individually with each bacteriophage using a MOI of 20, and five bacteriophage-resistant colonies were reisolated. Efficiency of plating (EOP) between individual phage-resistant mutants and WT strain was compared by double layer agar titration. Selected phage-resistant mutants and WT strain were sequenced by Illumina. Additionally, phage adsorption kinetics assays were performed mixing bacteria with phages at low MOI. Aliquots were taken at an interval of every 0.5-1 min for 20 minutes and purified with chloroform. The titer of unabsorbed phages was calculated from filtrates.

Our results showed limited events of cross-resistance between bacteriophages M7, SAEN098P03 and SAEN100P08. Increased susceptibility was observed in some instances between these bacteriophages. Surprisingly, a permanent cross-resistance event was observed between phages M7 and SAENMB161P02. Analysis of sequencing data allowed us to identify SNPs in genes encoding membrane proteins (*ompD* and *zitB*), potentially involved in bacteriophage-host interaction. To confirm these predictions, we compared the M7 and SAENMB161P02 adsorption curves in WT and mutant strains. Our results indicate M7 and SAENMB161P02 phages adsorbed more than 50% in the WT strain within 20 min, while no adsorption was detected in the phage-resistant mutants. Altogether, our results suggest that cross-resistance events between M7 and SAENMB161P02 phages could be associated with a shared mechanism of adsorption in the bacteriophage-*Salmonella* interaction.

**Keywords:** *Salmonella*, bacteriophage, cross-resistance

**Financing:** This work was supported by the Chilean Economic Development Agency (CORFO) [grant number 22CYE-201546, 2022]; and by private funding.

Tipo de presentación: Panel

### **Characterization of bacteriophages from the cocktail CVA-001**

**Daniel San Martín**<sup>1</sup>, Andrea Sabag<sup>1</sup>, Marcela Zabner<sup>1</sup>, María Sofía Zamudio<sup>1</sup>, Pabla Lara<sup>1</sup>, Gastón Higuera<sup>1</sup>, Cecilia Muster<sup>1</sup>, Daniel Castillo<sup>1</sup>, Daniel Tichy<sup>1</sup>, Pamela Camejo<sup>1</sup>, Luis Leon<sup>1</sup>, Michael Pino<sup>1</sup>, Soledad Ulloa<sup>1</sup>, Hans Pieringer<sup>1</sup>, Pablo Cifuentes<sup>1</sup>, Nicolás Cifuentes<sup>1</sup>

(1) Phagelab Chile SpA, Research Proyec am; Phages, Centro de Innovación Anacleto Angelini, Av. Vicuña Mackenna 4860 Macul, Santiago, Chile.

*Salmonella* spp. is a prevalent and important zoonotic pathogen that causes a major public health problem worldwide. Poultry are known to be the main reservoir for this pathogen. Despite the advances in the control of *Salmonella* primarily using antimicrobials, its high prevalence in poultry farms still remains a major challenge. An alternative to control and reduce the burden of *Salmonella* in poultry is the use of cocktails based on bacteriophages. Three bacteriophages named L8, SAEN098P01 and SAEN098P03 were previously selected by us, based on their high lytic efficacy and host range against bacteria isolated from poultry farms of Brazil, to form the cocktail CVA-001. In order to characterize in depth the three bacteriophages of CVA-001, we studied their genetic and morphological characteristics, physicochemical tolerance, cross-resistance, and kinetic parameters of bacteriophage-host interactions. Sequencing by Illumina and subsequent analysis of the genomes allowed us to determine a lytic life cycle for the three bacteriophages. Different taxonomy, genome size, % GC, number of ORFs and number of tRNAs were found between all three bacteriophages. Images of transmission electron microscopy (TEM) were acquired in a Thermo Scientific Talos F200C G2 TEM, revealing a different full length size, head and tail length for L8, SAEN098P01 and SAEN098P03. Physicochemical assays were performed by incubating the bacteriophages at different temperatures between -80 and 70°C. Likewise, incubation of the bacteriophages at pHs between 2 to 10 were done. The activity of each bacteriophage after the incubation at different conditions was evaluated by double layer agar titration, showing stable antimicrobial activity over a wide temperature and pH range. Novel analysis of cross-resistance between the three bacteriophages of CVA-001 were additionally performed, revealing low generation of cross-resistance. Finally, adsorption rate and burst size are currently being determined by double layer titration of free bacteriophage in time using their host bacteria, in only one infection cycle. The in depth characterization of bacteriophages presented here is a critical prerequisite in the process of assembly of new bacteriophage cocktails.

Keywords: Bacteriophage, *Salmonella*, Characterization

Financing: This work was supported by the Chilean Economic Development Agency (CORFO) [grant number 22CYE-201546, 2022] ; and by private funding.

Tipo de presentación: Panel

### Effect of temperature and oxygen availability on the activity of the bacteriophage cocktail CVA-001

### Efecto de la temperatura y la disponibilidad de oxígeno sobre la actividad del cóctel de bacteriófagos CVA-001

**Maria Jesus Serrano**<sup>1</sup>, Eduardo Tobar-Calducy<sup>1</sup>, Matias Aguilera<sup>1</sup>, Victoria Rojas-Martínez<sup>1</sup>, Rodrigo Norambuena<sup>1</sup>, Hans Pieringer<sup>1</sup>, Pablo Cifuentes<sup>1</sup>, Nicolas Cifuentes-Muñoz.<sup>1</sup>

(1) PhageLab Chile SpA, Research Projects & Phages, Centro de Innovación Anacleto Angelini, Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago, Chile

*Salmonella* is one of the major foodborne pathogens. The most frequent meat involved in salmonellosis has been associated with poultry (chicken, turkeys, ducks, and geese). Antimicrobials are not currently used to control *Salmonella* in poultry production systems. In this context, bacteriophage cocktails have arisen as a plausible biocontrol strategy. PhageLab developed a bacteriophage cocktail with high lytic efficacy against *Salmonella*, named CVA-001. However, bacteriophage cocktails against *Salmonella spp.* applied *in vivo* must exert their action mainly in the chicken gut. The chicken gut is a hostile environment for bacteriophages, with temperatures reaching 42 °C and low-oxygen availability.

To evaluate the efficacy of the cocktail CVA-001 at different environmental conditions, quantitative host range assays in 96 well microtiter plates were implemented at different temperatures (37°C and 42°C) and absence/presence of oxygen. The cocktail was faced against 46 strains of *Salmonella spp* from Brazilian commercial broiler farms with an adjusted MOI input of 60. OD600 was measured for 18 hours to evaluate bacterial growth inhibition. Growth inhibition was calculated as the percentage of reduction of the treatment compared to the area under the curve of the untreated bacteria.

No statistically significant differences in the activity of CVA-001 between 37 and 42°C were observed ( $\chi^2(1) = 1.123$ , p-value = 0.2893) but cocktail activity was found in strains that were resistant at 37°C. Interestingly, when shifting from aerobic to anaerobic conditions, both assays at 37 °C, the cocktail showed an improvement in the activity, increasing the bacterial growth inhibition by  $11.7\% \pm 4.7\%$  ( $\chi^2(1) = 6.0299$ , p-value = 0.01407). Remarkably, cocktail activity was observed in strains that were resistant in aerobiosis.

Overall, our results found no difference in the efficacy of CVA-001 by an increase in the temperature from 37 °C to 42 °C, and it was significantly improved in low oxygen conditions that more closely resemble the chicken gut.

Keywords: Phage cocktail, bacteriophage, anaerobiosis, *salmonella*

Financing: Funding: This work was supported by the Chilean Economic Development Agency (CORFO) [grant number 22CYE-201546, 2022]; and by private funding.



Tipo de presentación: Panel

**Characterization and Comparison of the Import Mechanism of Microcins E492 and L492, produced by the bacterial pathogen *Klebsiella pneumoniae*.**

**Caracterización y Comparación de los Mecanismos de Importación de las Microcinas E492 y L492, producidas por el patógeno bacteriano *Klebsiella pneumoniae* RYC492.**

**Victoria Suárez<sup>1</sup>**, Camilo Berríos-Pastén<sup>1</sup>, Paulina Aguilera<sup>1</sup>, Andrés Esteban Marcoleta Caldera<sup>1</sup>, Rosalba Lagos<sup>1</sup>

(1) Grupo de Microbiología Integrativa, Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

In the face of the current antimicrobial resistance crisis, the mechanisms of action and synthesis of bacteriocins as alternatives to traditional antibiotics have been investigated. Bacteriocins are antimicrobial peptides that exert a toxic effect on bacteria phylogenetically related to the producing strain. We have previously investigated the properties of Microcin E492 (MccE492), produced by some *K. pneumoniae* strains. Among other features, MccE492 undergoes a posttranslational modification at the C-terminal end with a glycosylated enterochelin derivative (salmoachelin). The modified MccE492 is recognized by siderophore receptors from the target cell, which translocate it into the periplasmic space, where MccE492 can then insert into the inner membrane of target cells and form pores, exerting its toxic activity (Trojan horse strategy). MccE492 genetic cluster is encoded in the GIE492 genomic island highly prevalent among hypervirulent *K. pneumoniae* strains, although its possible role in virulence remains unknown. Moreover, we found that a second bacteriocin, Microcin L492 (MccL492), is encoded in this mobile genetic element and would undergo a posttranslational modification similar to MccE492. In this work, we sought to verify that the import mechanism of MccL492 by the target cells is the same as MccE492. For this purpose, MccE492 and MccL492 were purified and used to perform antibacterial activity assays on mutant strains of the siderophore receptors FepA, Fiu and Cir, which had been characterized as MccE492 receptors. The results showed that the activity of MccL492 on the mutant strains is similar to that observed for MccE492, leading us to conclude that the mechanism of import of MccL492 is the same as that of MccE492.

Keywords: Bacteriocin, Microcin, Antimicrobial peptide, *Klebsiella pneumoniae*, Siderophore  
Financing: Grant FONDECYT 1221193

Tipo de presentación: Panel

### A small RNA that can modify the antibiotic susceptibility in *Shigella sonnei*

#### Un RNA pequeño que puede modificar la susceptibilidad a los antibióticos en *Shigella sonnei*

Alejandra Andrea Rodríguez<sup>2</sup>, Cecilia Shirley Toro Ugalde<sup>1</sup>, Juan Carlos Salazar G.<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Ave. Independencia 1027, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Ave. Independencia 1027, Santiago, Chile

*Shigella* spp. es un enteropatógeno humano causante de la shigelosis, que afecta principalmente a menores de 5 años y adultos mayores en todo el mundo. La infección es habitualmente autolimitada, pero en ocasiones resulta necesario el tratamiento antimicrobiano. Uno de los serogrupos más frecuentemente aislados en Chile es *Shigella sonnei*, observándose un aumento de la resistencia a antibióticos. Por tanto, se buscan formas novedosas de contrarrestarla, siendo los RNA pequeños (sRNA) y su implicancia en la regulación postranscripcional de genes relevantes para la resistencia, un foco de estudio, por ejemplo, SdsR de *S. sonnei* disminuye su resistencia a quinolonas. En nuestro laboratorio buscamos sRNAs implicados en la regulación de la resistencia a antibióticos. Un sRNA descrito recientemente es MicL, que interactúa con el mensajero que codifica a la lipoproteína Lpp, la cual se ha demostrado que tiene un rol en la susceptibilidad a diversos químicos, como vancomicina, hipotetizando una relación entre el sRNA MicL y la susceptibilidad a antibióticos. Por ello se propuso determinar si la sobreexpresión de micL en *S. sonnei* aumenta la susceptibilidad a antibióticos. En *Escherichia coli* se describió que MicL puede tener dos formas, una del largo total del sRNA (MicL-L) y un producto de menor tamaño (MicL-S). Se evaluó el efecto de ambos sRNA, para ello se clonó cada gen de *micL* (*micL-L* y *micL-S*) en un vector de expresión que fue transformado en la cepa de *S. sonnei*. Se corroboró la expresión de los sRNA mediante RT-PCR, además se observó que la sobreexpresión del gen no altera el crecimiento bacteriano. En los estudios de susceptibilidad se observó que el aumento de MicL-L y MicL-S genera una disminución de la susceptibilidad a ciprofloxacino, cuando se utilizaron niveles subinhibitorios del antibiótico, sin observarse cambios con otros antibióticos. Un resultado interesante fue observar un aumento en la susceptibilidad a vancomicina con ambos sRNA, siendo mayor con MicL-S en una prueba de viabilidad de la bacteria al antibiótico. Estos resultados sugieren por primera vez que MicL tiene un papel en la susceptibilidad a los antibióticos en especial a Vancomicina.

Keywords: sRNA, *Shigella sonnei*, Resistencia antibióticos, Regulación postraduccional.

Financing: Proyecto Puente ICBM

Tipo de presentación: Panel

### **Quantifying the *intI1* gene as an indicator of antibiotic resistance gene pollution in wastewater from Gran Concepción**

#### **Cuantificación del gen *intI1* como indicador de contaminación por genes de resistencia a antibióticos en aguas servidas del Gran Concepción**

**Claudia Torres-Bustos**<sup>1</sup>, Franco Ilabaca<sup>1</sup>, Ricardo Fuentes<sup>2</sup>, Gerardo González-Rocha<sup>1</sup>, Andrés Opazo-Capurro<sup>1</sup>

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile

(2) Universidad de Concepción, Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile

Los genes de resistencia a los antibióticos (GRAs), como contaminantes ambientales emergentes, se han convertido en una amenaza para la salud humana. Diversos estudios han demostrado que el efluente de las plantas de tratamiento de aguas servidas (PTAS) es una fuente puntual significativa de GRA liberados al ambiente. En este sentido, se ha propuesto al gen que codifica para la integrasa del integrón clase 1, o *intI1*, como un marcador de GRAs y cuyas concentraciones absolutas en el efluente indican la eficiencia de eliminación general de estos en los procesos de tratamiento de aguas residuales. El objetivo de este trabajo, fue detectar y cuantificar *intI1* en muestras de afluente y efluente de PTAS, con la finalidad de asociarlo a la carga de GRAs. El procesamiento y análisis de muestras de agua desde afluente y efluente de PTAS de cada muestra incluyó la extracción de ADN, detección del gen *intI1* por PCR, cuantificación mediante qPCR, y la estandarización de las condiciones para un máximo desempeño. Además, desde las muestras se realizaron aislamientos bacterianos, utilizando placas de agar MacConkey suplementadas con antibióticos, para la detección de *intI1*. Así, se confirmó la presencia de *intI1* en muestras de afluente y efluente mediante qPCR, detectándose concentraciones que oscilaron entre  $10^6$  a  $10^8$  copias/ml. Por otro lado, se detectó *intI1* en un 22% y 5% en aislamientos bacterianos obtenidos desde afluente y efluente respectivamente. Adicionalmente, 14 de 50 cepas de especies del orden *Enterobacterales*, aisladas de afluente, revelaron ser positivas para *intI1*. Se concluye que la presencia de *intI1* en aguas servidas no varió significativamente ( $p > 0.05$ ) entre afluente y efluente, a diferencia de lo encontrado en aislamientos bacterianos, donde la presencia de *intI1* fue mayor en aquellos aislados provenientes de afluente. Esto sugiere que si bien los tratamientos convencionales disminuyen la carga bacteriana en las aguas servidas, no serían capaces de remover la carga de GRAs, y que la pesquisa de estos genes mediante métodos convencionales de aislamientos bacterianos no representarían la real contaminación por *intI1* en agua.

Keywords: plantas de tratamiento de aguas servidas, Integrón clase 1, Genes de resistencia a antibióticos

Financing: Proyecto Fondef ID23I10264

Acknowledgments: ANID Beca doctorado Nacional. Proyecto Fondef ID23I10264 "Desarrollo de una herramienta biotecnológica para la detección rápida de genes de resistencia contaminantes de aguas servidas" Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos (LIAA)

Tipo de presentación: Panel

### Design of PGPB consortia free of bacterial virulence factors and lower antibiotic resistance for safe application in agriculture

### Diseño de consorcios PGPB libres factores de virulencia bacteriana y menor resistencia a antibióticos para su aplicación segura en agricultura

**Constanza Venegas<sup>1</sup>**, Milko Jorquera<sup>1,2</sup>, Francisco P Chávez<sup>3</sup>, Andrés E Marcoleta<sup>4</sup>, Verónica Cambiazo<sup>5</sup>, León Bravo Bravo<sup>7</sup>, Jaquelinne J Acuña<sup>1,2,6</sup>

(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) Laboratorio de Microbiología de Sistemas, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile

(4) Grupo de Microbiología Integrativa, Laboratorio de Biología Estructural y Molecular BEM, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile

(5) Institute of Nutrition and Food Technology, Universidad de Chile, Santiago, Chile

(6) Millennium Institute Center for Genome Regulation (CGR), Ave, Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

(7) Department of Agronomical Sciences and Natural Resources, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile

El uso de bioestimulantes bacterianos, ha ganado popularidad en los últimos años para promover la sostenibilidad agronómica; sin embargo, diversos estudios indican que algunas bacterias sugeridas como biofertilizantes, se podrían comportar como patógenos oportunistas al contener genes de resistencia a antibióticos y factores de virulencia bacteriana, lo que supone un potencial riesgo para el medio ambiente y salud pública. En este trabajo se diseñó un consorcio con características PGP libre de factores de virulencia y menor resistencia a antibióticos para su aplicación segura en agricultura. Para ello se aislaron potenciales PGPB desde la rizósfera de plantas crecidas en ecosistema antártico (*Deschampsia antarctica*) y agroecosistemas (*Lupinus luteus*). Se evaluó la presencia de 4 factores de virulencia en medios de cultivos y la resistencia a 35 antimicrobianos de uso clínico. Los aislados que no presentaron virulencia y menor resistencia antimicrobiana, se les realizó una caracterización de dos rasgos promotores del crecimiento vegetal (PGP) que intervienen en el equilibrio hormonal de las plantas: producción de ácido indol-3-acético (AIA) y producción del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminasa (ACCD). De un total de 37 aislados, 27 presentaron factores fenotípicos de virulencia, por otra parte, se reveló una elevada resistencia para las familias de lincosamidas, betalactámicos, cefalosporinas y monobactámicos, en donde la resistencia se presentaba desde 12 hasta 28 antibióticos simultáneamente, los géneros asociados a las resistencias más altas se asignaron a los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* según secuenciación del gen 16S ARNr. Finalmente se seleccionaron 8 aislados que no presentaban factores fenotípicos de virulencia y menor resistencia microbiana para su caracterización como productoras de de AIA y degradadoras de ACC. Los resultados revelaron valores de 516 a 1180 mg mL<sup>-1</sup> de AIA y de 261 a 1012 nmol αKB mg proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> para ACCD. Se realizó el diseño de un consorcio bacteriano con los 3 aislados que presentaron las actividades PGP más prometedoras y se asignaron a los géneros *Paenibacillus*, *Rugamonas* y *Pedobacter*. Nuestro estudio sugiere incluir una mayor caracterización de bioinsumos, descartando cepas con potencial riesgo, antes de su formulación y aplicación en agricultura.

Keywords: PGPB, Antibiotic Resistance

Financing: FONDECYT (no. 1221228 y 1201386), Instituto Milenio Centro de Regulación del Genoma, código ICN2021\_044, Anillo project (mBioClim) cod. ACT210044.

Acknowledgments: FONDECYT (Nº, 1221228 y 1201386), Instituto Milenio Centro de Regulación del Genoma, código ICN2021\_044, Anillo project (mBioClim) cod. ACT210044.

Tipo de presentación: Panel

**Microbiological characterization of *Salmonella enterica* isolated from the Maipo and Mapocho rivers: Analysis of serotypes, resistance determinants and antimicrobial susceptibility (2019-2020)**

**Caracterización Microbiológica de *Salmonella enterica* aislada desde los ríos Maipo y Mapocho: Análisis de serotipos, determinantes de resistencia y susceptibilidad a antimicrobianos (2019-2020)**

**Francisca P. Álvarez<sup>1,2</sup>**, Valentina Lagos-Leyton<sup>1</sup>, Constanza Díaz-Gavidia<sup>1,2</sup>, Diego Fredes-García<sup>1</sup>, Patricia García<sup>3</sup>, Aiko D. Adell<sup>2</sup>, Magaly Toro<sup>4</sup>, Angélica Reyes-Jara<sup>5</sup>, Jianghong Meng<sup>4</sup>, Andrea Moreno-Switt<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina Veterinaria, Santiago, Chile

(2) Universidad Andres Bello, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(4) University of Maryland, Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition (JIFSAN), College Park, MD, Estados Unidos

(5) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Santiago, Chile

La resistencia a los antimicrobianos se ha convertido en un grave problema de salud pública en las dos últimas décadas. *Salmonella enterica* es uno de los patógenos de transmisión alimentaria más relevantes en todo el mundo y aislados multidrogo-resistente (MDR) productores de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) pueden conducir al fracaso terapéutico debido al aumento de la resistencia.

En este estudio se analizaron 243 aislados de *Salmonella* provenientes de los ríos Maipo (126) y Mapocho (117) entre abril/2019 y enero/2020, los serotipos y determinantes de resistencia (DR) se predijeron mediante secuenciación de genoma completo. Se determinó la concentración inhibitoria mínima mediante el método de dilución en agar para 14 antibióticos (amikacina, ampicilina, ciprofloxacina, gentamicina, cotrimoxazol, imipenem, meropenem, cefazolina, cefepime, cefotaxima, fosfomicina, ampicilina/sulbactam, piperacilina/tazobactam, ceftazidima), la susceptibilidad y la producción de BLEE se determinaron siguiendo la guía de CLSI 2023.

Se predijeron un total de 34 serotipos de *Salmonella enterica*, siendo el más prevalente *S. Infantis* 27%, seguido por *S. Stanley* 9% y *S. Agona* 7%. El 15% de los aislados presentó un fenotipo MDR, el 16% presentó resistencia a 1-2 de los antibióticos ensayados y el 69% pan-susceptible. Los aislados mostraron mayor resistencia a gentamicina 24%, ampicilina 23% y cefazolina 18%. Un 17% de los aislados presentó un fenotipo productor de BLEE. De los 126 aislados del río Maipo un 30% presentó resistencia a  $\geq 1$  antibiótico y 16% presentó un fenotipo MDR. De los 117 aislados provenientes del río Mapocho un 32% presentó resistencia a  $\geq 1$  antibiótico y 14% presentó un fenotipo MDR. Se identificaron 31 DR, un 26% de los aislados presentó al menos 1 DR, predominando la presencia de *tet(A)*. Un 83% de los productores de BLEE mostró un fenotipo MDR, sin embargo, un 39% de los aislados productores no evidenció presencia genética de BLEE.

La presencia de *Salmonella enterica* MDR productora de BLEE en agua de uso agrícola se encuentra ampliamente diseminada y puede representar un factor contribuyente para la diseminación de DR, así como enfermedades transmitidas por alimentos y pone en evidencia la necesidad de desarrollar estrategias de mitigación y control en las fuentes de agua.

Keywords: *Salmonella enterica*, resistencia antimicrobiana,  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), aguas superficiales, determinantes de resistencia

Financing: Food and Drug Administration (FDA) of the U.S. Department of Health and Human Services (HHS) as part of a financial assistance award U01FDU0014

Tipo de presentación: Panel

**Isolation and selection of cellulose-degrading microorganisms for the valorization of agro-industrial waste with an industrial symbiosis approach**

**Selección y aislamiento de microorganismos degradadores de celulosa para valorización de residuos agroindustriales con foco en simbiosis industrial**

**Giovanna Anziani-Ostuni<sup>1</sup>**, Camilo Sánchez-Baeza<sup>1</sup>, Derie Fuentes<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Centro de Biotecnología de Sistemas, Ciencias de la Vida, Fernández Concha 700, edificio C1, piso 1, Las Condes, Santiago, Chile

En Chile, las industrias agrícola y forestal generan grandes cantidades de residuos lignocelulósicos tanto por los protocolos de cuidado y mantención de los cultivos, como por el procesamiento y limpieza de los productos. Alternativas de manejo actuales se limitan a la combustión y a la disposición en vertederos, ambas con un impacto ambiental preocupante. Ante esto, una opción ecoamigable es la producción de abonos incorporando estos residuos, pero la complejidad del material limita la calidad del producto final. En este sentido, el uso de microorganismos seleccionados específicamente para promover y/o acelerar los procesos de degradación de estas materias nace como una estrategia para la valorización de material de descarte, bajo el modelo de bioaumentación, permitiendo determinar nuevos procesos de obtención de abonos orgánicos, apoyando y promoviendo un sistema sustentable para industrias agrícolas y forestales.

Para el aislamiento y selección de microorganismos degradadores de celulosa se tomaron muestras desde 1) plantación de Abetos, 2) suelo y 3) corteza de araucaria y 4) jardín de plantas nativas. Se incubó 1 g de cada muestra en medio M9 con 0.2% p/v de celulosa microcristalina durante 2 semanas a 30 °C, sin agitación. Luego, nuevos cultivos fueron inoculados con 1 % v/v de cultivo antiguo y medio M9 fresco (0.2% celulosa, 1% LB). Tras 10 días de incubación a 30 °C, alícuotas de 100 µL de cada cultivo fueron sembradas en medio LB agar. Tras 48 h, las colonias fueron resembradas individualmente para su posterior selección según fenotipo, obteniéndose un total de 75 aislados. Los aislados fueron incubados en medio M9 con agitación (120 RPM, 7 días), haciendo un recuento final de UFC a cada condición, seleccionando 25 aislados finales. Los microorganismos candidatos fueron sometidos individualmente a pruebas de crecimiento en medio líquido con celulosa como única fuente de carbono. Entre el grupo analizado, 10 de los aislados demostraron crecimiento en cultivo líquido con celulosa, con variaciones en los niveles de producción de CO<sub>2</sub> (determinado mediante titulación con NaOH). Ensayos para la identificación de géneros bacterianos obtenidos mediante test bioquímico API 20 NE indican la presencia de *Pseudomonas* y *Bacillus*.

Keywords: biotecnología, simbiosis industrial, agroindustria, valorización de residuos, celulosa

Tipo de presentación: Panel

### **Selective anti- *Vibrio* bacteriostatic product for marine aquaculture**

#### **Producto bacteriostático selectivo anti- *Vibrio* para la acuicultura marina**

**Carlos Aranda**<sup>1</sup>, Alex Gonzalez<sup>2</sup>

(1) Universidad de Los Lagos, Departamento de Ciencias Biológicas y Biodiversidad, Lab. de Bioproductos y Microbiomas Ambientales, Av. Fuchslocher 1305, Osorno, Chile.

(2) Universidad de Los Lagos, Departamento de Ciencias Biológicas y Biodiversidad, Laboratorio de Microbiología Ambiental y Extremófilos, Av. Fuchslocher 1305, Osorno, Chile.

El riesgo de vibriosis en etapas tempranas larvales de cultivos marinos es reconocido como un factor limitante en la diversificación y crecimiento de la acuicultura a nivel global. El desarrollo de nuevos productos que contribuyan a reemplazar la utilización de antibióticos en la producción de alimentos es sin duda una necesidad que ha venido siendo abordada con múltiples estrategias. En el Laboratorio de Bioproductos y Microbiomas Ambientales se dispone de una colección de bacterias marinas aisladas por sus propiedades anti- *Vibrio*. Entre estas el aislado *Pseudoalteromonas* sp. X19 ha resultado atractivo por la producción de un extracto bacteriostático contra *Vibrio parahaemolyticus*. Se optimizó la obtención del máximo título de actividad anti- *Vibrio* con cultivos por lotes crecidos a 30 grados celsius (temperatura en el límite superior de tolerancia de la bacteria) en caldo marino preparado con agua de mar natural. El extracto permite una solubilidad en fase acuosa con un título semicuantitativo de actividad de hasta 512 equivalentes por 10 ul contra *V. parahaemolyticus*. Este valor es similar al obtenido contra *V. harveyi*, *V. alginolyticus* y *V. anguillarum* (469, 235 y 107 eq./10 ul, respectivamente), mientras que es 17 a 56 veces superior en comparación a otras bacterias de la familia Vibrionaceae. Evaluaciones posteriores incluirán ensayos en hatchery en modelos de larvas de moluscos, crustáceos y peces marinos para conocer *in vivo* la capacidad para reducir el riesgo de vibriosis en diversos cultivos.

Keywords: *Vibrio*, Bacteriostatic, *Pseudoalteromonas*

Tipo de presentación: Panel

## Beyond Pesticides: *Alcaligenes faecalis* as a Biocontrol Solution

### Más Allá de los Pesticidas: *Alcaligenes faecalis* como Solución Biocontroladora

Manuel Arce<sup>1</sup>, Paula Salinas<sup>2</sup>, Roberto Bastias<sup>1</sup>

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

(2) Universidad Santo Tomás, Escuela de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Ejército Libertador 146, Santiago, Chile

#### Introducción

El género *Alcaligenes* comprende bacterias Gram negativas que se encuentran en diversos entornos naturales. Son reconocidas por su versatilidad metabólica, característica que combinada con su notable capacidad de adaptación, las convierte en candidatas prometedoras para aplicaciones biotecnológicas en diversos campos de estudio.

#### Metodología

En este estudio, se aisló la cepa 407 de plantas de kiwi y se secuenció utilizando la plataforma Illumina. El ensamblaje y la anotación se realizaron con los software Geneious y RAST, respectivamente. Mediante un análisis MLSA utilizando genes constitutivos y genomas de *Alcaligenes* depositados en bases de datos, se logró clasificar taxonómicamente la cepa 407. Asimismo, se analizó su genoma utilizando el servidor antiSMASH para identificar agrupamientos biosintéticos con potencial biotecnológico. Además, se reconstruyeron vías de síntesis de compuestos antimicrobianos previamente detectados en el análisis de LC-MS, utilizando genes depositados en bases de datos.

Para el análisis de extracto crudo, se cultivó la bacteria y se obtuvo el sobrenadante libre de células, el cual se envió para su análisis mediante LC-MS.

El estudio de la capacidad antagonista de la cepa 407 se evaluó contra los fitopatógenos *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* y *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, dos patógenos de importancia comercial.

#### Resultados

Los resultados mostraron que el genoma de la cepa 407 tiene una longitud de 4.257.498 pares de bases, con un contenido de G+C del 56,8%. Se identificaron 3995 secuencias codificantes en la anotación del genoma. El análisis taxonómico reveló su relación filogenética con una cepa de *Alcaligenes faecalis*. Además, se encontraron 7 agrupamientos biosintéticos destacados, como policétido sintasa, betalactonas y NRPS.

El análisis de LC-MS de los extractos crudos reveló la presencia de compuestos antimicrobianos como el Ácido 3-fenilláctico, Ácido p-coumárico y Bacileano.

Los ensayos de antagonismo confirmaron la capacidad de la cepa 407 de actuar como antagonista de los fitopatógenos *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* y *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.

En conclusión la cepa 407 aislada de plantas de kiwi proporcionó información valiosa sobre su genoma, características genéticas y su potencial biocontrolador. Actualmente, se está evaluando la eficacia de esta cepa como biocontrolador en modelos de plantas de kiwi.

Keywords: *Alcaligenes*, Biocontrolador, Fitopatógenos, Genoma

Financing: Proyecto FIA Jovenes Innovadores PYT-2019-0705



Tipo de presentación: Panel

**Effect of chia mucilage (CM) on the survival of probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) encapsulated by spray-drying in cross-linked alginate matrices**

**Víctor Bascur**<sup>1,5</sup>, Olga Rubilar<sup>4,5</sup>, Mariela Bustamante<sup>2,3,5</sup>

(1) Doctorado en Ciencias de la Ingeniería mención Bioprocesos, Universidad de La Frontera, Avda. Fco. Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Center of Food Biotechnology and Bioseparations, Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN), Universidad de La Frontera, Avda. Fco. Salazar 01145, Temuco, Chile.

(3) Centre for Biotechnology and Bioengineering (CeBiB), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

(4) Biotechnological Research Center Applied to the Environment (CIBAMA-BIOREN), Universidad de La Frontera, Temuco 4780000, Chile.

(5) Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Avda. Fco. Salazar 01145, Temuco, Chile.

Spray drying has been used to improve the viability of probiotic bacteria for subsequent high-temperature processing. However, the problem with this technique is the thermal inactivation of probiotic bacteria caused by drying temperatures. As a solution, we proposed to evaluate the effect of chia mucilage (CM) on the survival of encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) by spray drying in cross-linked alginate matrices. An encapsulating solution composed of sodium alginate and succinic acid in a 2:1 ratio in 50 mL of distilled water (4 and 2% w/v, respectively) was prepared. CM was obtained by aqueous phase extraction using distilled water as solvent (80°C for 2h). After drying (60°C), it was sieved to obtain a dry powder and incorporated into the encapsulating solution. For spray drying assays, 200 mL of 5% (v/v) MRS broth was inoculated with the grown culture and incubated (37°C for 12 h). Cells were harvested by centrifugation (4100 rpm, 4°C and 15 min). The pellets were then washed twice with sterile distilled water and added to the encapsulating solution. For the spray drying process, the feed flow rate (6 g/min) and the inlet air temperature (130°C) were adjusted. An experimental design (Response Surface Methodology) was applied to optimize the encapsulating solution for survival of LGG. Two independent variables were considered: CM (0, 0.3 and 0.6% w/v) and calcium phosphate (0.2, 0.4 and 0.6% w/v); and added to the encapsulating solution prior to drying. Experiments without CM were established as control assay. The results obtained after the spray drying encapsulation process showed that the linear regression model allowed determining the conditions to improve survival. The calcium phosphate concentration corresponded to 0.6% (w/v) and the CM concentration to 0.6% (w/v), effect of CM being significant ( $p < 0.05$ ), allowing a survival after drying of 90.56% for LGG. In addition, thermogravimetry analyses confirmed that CM gave a higher thermal resistance compared to control microcapsules (without CM). Therefore, it was concluded that CM, when part of an encapsulating solution by cross-linked alginate matrices, can significantly improve the survival of the LGG strain and the microcapsules obtained could be used in high temperature processes.

Keywords: Chia mucilage, *Lactobacillus rhamnosus* GG, Encapsulation, Spray drying, Cross-linked alginate matrices

Financing: Doctoral Grant folio N°21212055, Res. Exenta N°2074/2021, Chile. Project FONDECYT-Regular 1211211. Project FONDAP 15130015.

Acknowledgments: Universidad de La Frontera Scientific and Technological Bioresource Nucleus – BIOREN

Tipo de presentación: Panel

**Point mutations in the RRT5 gene affect the growth of *Saccharomyces cerevisiae* in nitrogen-deficient musts**

**Mutaciones puntuales en el gen RRT5 afectan el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en mostos deficientes en nitrógeno**

**Camila Bastias**<sup>1</sup>, Francisco Salinas<sup>3</sup>, Eduardo I Kessi-Perez<sup>1</sup>, Claudio Martínez<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Santiago de Chile (USACH), Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CECTA), Alameda 3677, Estación Central, Santiago, Chile

(2) Universidad de Santiago de Chile (USACH), Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Alameda 3363, Estación Central, Santiago, Chile

(3) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Campus Isla Teja, Valdivia, Chile

Las levaduras pueden reconocer la naturaleza y disponibilidad de las fuentes de nitrógeno y ajustar sus mecanismos transcripcionales, metabólicos y biosintéticos al nitrógeno disponible. En consecuencia, el estudio del consumo de nitrógeno durante la fermentación vínica por *S. cerevisiae* y los requerimientos de nitrógeno de cepas diferentes es de gran relevancia para la industria vitivinícola. En un trabajo previo, identificamos genes relacionados con el crecimiento de la levadura en mostos deficientes en nitrógeno a partir de un análisis GWAS, validando el efecto de SNPs puntuales sobre el crecimiento de una cepa de laboratorio. Uno de los genes validados fue *RRT5*, de función desconocida, existiendo una asociación estadísticamente significativa en dos posiciones de su secuencia (SNP1 y SNP2). Para validar este gen y sus correspondientes SNPs en un contexto relevante para la industria vitivinícola, en el presente trabajo se realizaron mutaciones puntuales mediante CRISPR-Cas9 en una cepa vínica industrial (T73), cambiando uno y dos nucleótidos en las dos posiciones identificadas de *RRT5*. Adicionalmente, se intercambió el ORF del gen en uno y en los dos alelos por genes de resistencia antimicrobiana. En las variantes alélicas generadas de *RRT5* en condiciones de fermentación, se observaron diferencias significativas en el consumo de aminoácidos y amonio entre ellas y en comparación con la cepa T73 sin modificar. Además, se encontraron diferencias al analizar el consumo de aminoácidos por las variantes entre los medios con cantidades suficientes (300 mg/L) o deficientes (60 mg/L) de nitrógeno, lo cual se correlaciona con el consumo de azúcares y la pérdida de CO<sub>2</sub> en estas variantes. Adicionalmente, en deficiencia de nitrógeno las mutantes nulas junto con la variante SNP2 aumentaron significativamente el tiempo de latencia con respecto a la cepa silvestre y a las otras variantes. Estos resultados sugieren que el gen *RRT5* está involucrado en el proceso fermentativo 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 durante la fermentación vínica.

Keywords: RRT5, SACCHAROMYCES CEREVISIAE, CRISPR-CAS9, FERMENTACIÓN

Financing: FONDEF IDeA I+D ID21I10198 (ANID, Chile), FONDECYT 1201104 (ANID, Chile) y FONDECYT 11220533 (ANID, Chile).

Tipo de presentación: Panel

**Effect on cell viability of extract fortified with vitamin D2 from the edible mushroom *Suillus luteus***

**Efecto en la viabilidad celular de un extracto fortificado con vitamina D2 proveniente del comestible *Suillus luteus***

**Noelia Benavente**<sup>1</sup>, Marcelo González<sup>1</sup>, Norbert Arnold<sup>2</sup>, José Becerra<sup>3</sup>, Claudia Pérez<sup>3</sup>, Solange Torres<sup>3</sup>

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Barrio Universitario s/n, Concepción, Chile

(2) Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Bioorganic Chemistry, 06120, Halle, Germany

(3) Universidad de Concepción, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Barrio Universitario s/n, Concepción, Chile

La vitamina D, es un compuesto liposoluble que participa en un gran número de procesos metabólicos brindando protección contra diferentes patologías. A pesar de su rol esencial en la salud humana, existe una deficiencia de vitamina D a nivel mundial dada la baja ingesta dietética de esta, siendo una solución a este problema la fortificación de los alimentos. Los hongos comestibles son capaces de producir vitamina D cuando son expuestos a la radiación ultravioleta (UV). Durante este proceso, el contenido de ergosterol de la membrana celular del hongo se convierte en ergocalciferol (vitamina D<sub>2</sub>) mejorando el potencial bioactivo de estos. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de los extractos del hongo fortificado con vitamina D<sub>2</sub> sobre la viabilidad celular en células endoteliales de vena umbilical humana (HUVECs).

El hongo comestible *Suillus luteus* fue expuesto a diferentes tiempos (30 a 120 minutos) a una intensidad de radiación UV-B de 1,8 mW/cm<sup>2</sup>. Posteriormente, se realizó una extracción de vitamina D<sub>2</sub> y ergosterol y se cuantificó por HPLC. Para los ensayos de viabilidad celular en HUVECs se utilizaron los extractos del hongo fortificado con vitamina D<sub>2</sub> a concentraciones de 25 a 100 mg/mL. Los resultados obtenidos por HPLC indicaron un incremento en el contenido de vitamina D<sub>2</sub> en el extracto a los 60 y 90 minutos de exposición ultravioleta. Los extractos obtenidos del hongo fortificado no presentaron citotoxicidad en las células expuestas aumentando los valores de viabilidad celular en un 50% con respecto al control, para todas las concentraciones utilizadas.

El tratamiento con radiación ultravioleta genera una mejora en el contenido de vitamina D<sub>2</sub> disponible en extractos provenientes del hongo comestible *Suillus luteus*. Los extractos al no presentar citotoxicidad y mejorar la viabilidad celular se posiciona como una potencial solución de alimento fortificado con vitamina D<sub>2</sub> apto para su consumo en la población.

Keywords: Vitamin D, *Suillus luteus*, Viabilidad celular

Financing: Proyecto Fondecyt Iniciacion 11220598

Acknowledgments: - Proyecto FONDECYT INICIACION 11220598- Laboratorio de Investigación Materno Fetal. Facultad de Medicina, Universidad de Concepción- Department of Bioorganic Chemistry, Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle (Saale), Germany.

Tipo de presentación: Panel

**Impact of soluble fiber type on the viability and storage stability of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* by spray-drying in cross-linked alginate matrices**

**Impacto del tipo de fibra soluble en la viabilidad y estabilidad en el almacenamiento de *Lactobacillus plantarum* microencapsulado por secado spray en matrices de alginato reticulado**

**Mariela Yanet Bustamante López<sup>1,2,3</sup>**, París Paredes<sup>4</sup>, Carolina Shene<sup>1,2,3</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Center of Food Biotechnology and Bioseparations, Scientific and Technological Bioresource Nucleus BIOREN, Ingeniería y Ciencias, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Centre for Biotechnology and Bioengineering - CeBiB, Ingeniería y Ciencias, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Universidad de La Frontera, Ingeniería Química, Ingeniería y Ciencias, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(4) Universidad de La Frontera, Programa de Doctorado en Ciencia de la Ingeniería mención Bioprocesos, Ingeniería y Ciencias, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

La microencapsulación por secado *spray* es una técnica utilizada para la protección de agentes activos, como los probióticos. Esta es una técnica sencilla, de bajo costo y fácil de escalar. Por otro lado, los probióticos son microorganismos que al ser consumidos en cantidades adecuadas proporcionan beneficios a la salud de los consumidores.

El objetivo de este estudio fue evaluar la sobrevivencia de *Lactobacillus plantarum* ATCC8014 microencapsulado por secado *spray* en una matriz de alginato reticulado y fibra soluble (mucilago de chía (MC) o de mucilago de linaza (ML)) en un solo paso. Además, se evaluó el efecto de cada mucilago en la viabilidad del probiótico durante el almacenamiento a 4, 25 y 37°C durante 90 días.

La sobrevivencia de *L. plantarum* fue del 98,4% en un proceso de encapsulación control realizado a 130°C y en una solución de encapsulación formada por alginato de sodio (4% p/v), ácido succínico (2% p/v), CaHPO<sub>4</sub> (0,5% p/v) y sin fibra soluble. Por otro lado, la viabilidad del probiótico disminuyó durante el almacenamiento a 4, 25 y 37°C, siendo significativamente mayor a 37°C. La viabilidad se ajustó a un modelo cinético de primer orden donde la tasa de inactivación (k) fue constante y dependiente de la temperatura de almacenamiento y de la composición de la solución de encapsulación. La tasa de inactivación fluctuó entre 0,012 y 0,314 d<sup>-1</sup> (R<sup>2</sup> = 0,899 y R<sup>2</sup> = 0,966). Además, los datos mostraron que la viabilidad de *L. plantarum* es más estable en ML a 4°C y en MC a 25 y 37°C. La energía de activación se puede utilizar para estimar el impacto de los cambios de temperatura en la viabilidad de *L. plantarum*, los resultados mostraron que MC (E<sub>a</sub> = 33,09 KJ/mol) es térmicamente más estable a los cambios de temperatura que ML (E<sub>a</sub> = 71,89 KJ/mol) y, por lo tanto, la adición de MC produce polvos de *L. plantarum* menos susceptibles al daño térmico. Luego, el uso de MC proporciona una mayor estabilidad a *L. plantarum* cuando es almacenado a 25 y 37°C, debido a que es térmicamente más estable que el ML.

Keywords: Probióticos, Mucilago de linaza (ML), Mucilago de chía (MC), Estabilidad al almacenamiento

Financing: Esta investigación fue financiada con fondos de la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID) a través del proyecto FONDECYT No. 1211211

Acknowledgments: 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

Tipo de presentación: Panel

### **Characterization of Aerobic granular sludge for metal recovery in landfill leachate**

#### **Caracterización de lodos granulares aerobios para la recuperación de metales en lixiviados de vertedero**

Victor Guzman-Fierro<sup>1</sup>, **Brian Bustamante Ramos**<sup>3</sup>, Manuel Quiroz<sup>1</sup>, Karla Moscoso<sup>1</sup>, Carlo Espinoza<sup>1</sup>, Constanza Arriagada<sup>1</sup>, Daniel Contreras<sup>2</sup>, Victor L Campos<sup>3</sup>, Juan-Jose Gallardo<sup>4</sup>, Marlene Roeckel<sup>1</sup>

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Barrio Universitario S/N, Concepción, Chile

(2) Universidad de Concepción, Departamento de Química Analítica e Inorgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Centro de Biotecnología, Barrio Universitario S/N, Concepción, Chile

(3) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Barrio Universitario S/N, Concepción, Chile

(4) Universidad de Almería, Departamento de Ingeniería Química, Escuela Técnica Superior de Ingeniería, Almería, España

Los lodos granulares aerobios (AGS) corresponden a esferas biocatalíticas autoagregadas ampliamente utilizadas en el tratamiento de aguas residuales debido a su estructura, la cual permite que la respiración aeróbica ocurra solo en la periferia del lodo, generando microambientes en el núcleo del gránulo. Así, se producen metabolismos aeróbicos, anóxicos y anaeróbicos en una única unidad operativa. A pesar que se ha demostrado la eficacia de la utilización de lodos tipo AGS para la eliminación de nutrientes de los lixiviados de vertedero, su aplicación se ha limitado a condiciones de lixiviados diluidos. En este trabajo, se utilizó AGS producido a partir de lixiviados de vertedero no diluidos para evaluar los mecanismos de bioacumulación y biosorción, procesos directamente relacionados a la asimilación de cationes. La desorción de AGS, proceso para recuperación de cationes, se evaluó en términos de sus propiedades fisicoquímicas, metabólicas y moleculares. La biosorción representó el 53% de los cationes asimilados del lixiviado de vertedero. Las pruebas de desorción mostraron que los parámetros fisicoquímicos son estables a pesar del tratamiento con NaCl. Sin embargo, las actividades específicas del nitrógeno, como la nitrificación parcial y la desnitrificación, se vieron afectadas con el proceso de desorción, disminuyendo 9,2 y 4,7 veces, respectivamente. En cuanto a las comunidades bacterianas presentes en los gránulos el análisis metagenómico del AGS sin y con ensayo de desorción, S1 y S2 respectivamente, reveló la presencia de un total de 21 phyla diferentes. Los grupos taxonómicos dominantes para S1 y S2 fueron los phyla *Proteobacteria* (57,1% y 85,4%), *Firmicutes* (35,4% y 10,1%), *Bacteroidetes* (2,1% y 1,4%), *Actinobacteria* (2,2% y 1,2%). En general, la mayor abundancia de estos phyla puede deberse a la naturaleza copiotrófica de este grupo, que sobrevive en condiciones de elevada disponibilidad de C y presenta tasas de crecimiento relativamente rápidas. Probablemente, la reducción de las limitaciones difusionales mediante el tratamiento con NaCl potenció la tasa de crecimiento de estos microorganismos. Estos resultados moleculares son coherentes con la caracterización metabólica. Este trabajo muestra la versatilidad de los gránulos utilizándolos para la eliminación de nutrientes, al tiempo que destaca su potencial para la recuperación de metales valiosos.

Keywords: lodo granular, lixiviados de vertedero, biosorción, bioacumulación, Metagenómica

Financing: Proyecto Fondecyt N°1200583

Tipo de presentación: Panel

**Plant growth promoting microbial consortium (PGPR) from rhizosphere isolates of drought tolerant tomato plants.**

**Consortio microbiano promotor de crecimiento vegetal (PGPR) provenientes de aislados de rizosfera de plantas de tomate tolerante a la sequía**

**Vanessa Candia**<sup>1,4</sup>, Rodrigo Rodríguez<sup>1</sup>, Nicolas Ferrada<sup>1</sup>, Patricio Barra<sup>1,3</sup>, Paola Durán<sup>1,2</sup>

(1) Biocontrol Research Laboratory, Universidad de la Frontera, Av. Francisco Salazar 01145, Temuco 4811230, Chile

(2) Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, Universidad de la Frontera, Av. Francisco Salazar 01145, Temuco 4811230, Chile

(3) Center of Plant, Soil Interaction and Natural Resources Biotechnology, Scientific and Biotechnological Bioresource Nucleus (BIOREN-UFRO), Universidad de La Frontera, Av. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(4) Doctorate Program in Natural Resources Sciences, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile., Universidad de la Frontera, Av. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

In the context of climate change, where rising temperatures are leading to a decrease in the production of economically significant crops for human consumption, coupled with growing uncertainty in food security, the need to discover sustainable agricultural practices that don't compromise production volume has become exceedingly urgent. Consequently, the focus has turned towards soil-plant-microorganism interactions, particularly plant growth promoting bacteria (PGPR), as a viable and ecologically sound solution that won't adversely affect the ecosystem. This approach supports crop growth and development. To address this, a consortium of plant growth promoting microorganisms was derived from the rhizosphere of drought-tolerant *Solanum lycopersicum* (tomato) plants. The bacterial strains were isolated from the rhizospheric soil of these drought-tolerant tomato plants. A series of tests were conducted, including evaluating PGPR traits, such as phosphorus solubilization, secretion of auxin hormones (IAA), production of the enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase (ACC), as well as antagonism tests. Additionally, the molecular characterization involved amplifying the 16S gene of the selected strains for the consortium. This analysis revealed that *Acinetobacter Iwoffii*, *Pantoea agglomerans*, *Bacillus licheniformis*, *Arthrobacter pascens*, and *Caballeronia catudaia* exhibited the most favorable outcomes. Subsequently, these strains were preserved in the form of a lyophilized powder, intended for utilization in greenhouse experiments. Ultimately, the formulation and application of plant growth promoting bacterial consortia provide a promising alternative to the indiscriminate use of agrochemicals. This technology holds great potential in enhancing agricultural production, offering a sustainable path forward.

Keywords: Climate Change, Drought, Microbial Consortium, Plant Growth Promoting Microbial, Sustainable Agriculture

Financing: Project VIU VIUP22P0052 and Project Anillo ATE220038

Acknowledgments: Project VIU VIUP22P0052 and

Project Anillo ATE220038

Tipo de presentación: Panel

**Evaluation of the role of Membrane Vesicles in substrate attachment of *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 53993.**

**Evaluación del papel de las vesículas de membrana en la fijación a sustrato de *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 53993.**

**Matías Castro-Piña**<sup>1</sup>, Marcela Montoya<sup>2</sup>, Carla León<sup>1</sup>, Matías Castro<sup>2</sup>

(1) Universidad de Concepción, Laboratorio de Microbiología Ambiental, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile

(2) Instituto Milenio de Oceanografía, 4070386, Concepción, Chile

The chemolithoautotrophic bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans* oxidizes diverse metal sulfides promoting bioleaching process for the extraction of economically relevant metal but also the generation of acidic metal-rich drainage waters. Mineral oxidation has been positively correlated with the attachment of cells to solid substrate surface and subsequent biofilm formation. This is a dynamic process that requires a self-produced extracellular matrix (ECM), which act as a reaction space that concentrates leaching chemicals at the cell/mineral interface. *A. ferrooxidans* ECM commonly consist in a mixture of lipids, proteins, and polysaccharides, however, many aspects of ECM remain largely unexplored. Membrane Vesicles (MVs) are nano-sized proteoliposomes derived from the bacterial envelope that participate in diverse and critical functions in bacterial physiology including structural and regulatory roles in bacterial biofilms and cell-cell association. Recent studies have shown that other members of *Acidithiobacillaceae* family are able to produce MVs, however, their functions in *A. ferrooxidans* are still unknown. In this work, we evaluated the production of MVs in cultures of *A. ferrooxidans* ATCC 53993 using two different energy sources, ferrous iron and elemental sulfur. By using nanotracking analysis and transmission electron microscopy, we found nanometric round particles, in both conditions, indicating that *A. ferrooxidans* produces MVs using different energy sources. To indagate into the role of MVs in *A. ferrooxidans* biofilms, we assess the attachment of *A. ferrooxidans* MVs on solid substrate by fluorescence and scanning electron microscopy, showing that MVs were able to attach to the solid substrate along with cells. In addition, to gain insight into MVs molecular function we determined their protein cargo by liquid chromatography-mass spectrometry. Protein cargo suggest outer MVs as main product of vesiculation process in *A. ferrooxidans*. We identified several proteins that could act as adhesins, explaining MVs ability to attach to solid substrate. Other relevant protein functions found in MVs were related with transport/efflux and electron transport. A comparative analysis among the proteomes of MVs and MV-producing cells indicates the enrichment of important substrate oxidizing enzymes in MVs along with protein related with lipid raft, membrane constriction, and vesicle fusion. Potential mechanisms for MVs synthesis and function are proposed.

Keywords: Membrane Vesicles (MVs), *Acidithiobacillus*, Biofilm, Extracellular Matrix, Adhesins

Financing: Fondecyt 11201114.ICN12\_19-instituto Milenio de Oceanografía (IMO)

Acknowledgments: Melisa Institute

**“Biosíntesis de nanoestructuras metálicas y evaluación de su potencial acción viricida contra virus Influenza A”**

**“Biosynthesis of metallic nanostructures and evaluation of their potential virucidal action against Influenza A virus”**

**Fernanda Contreras**, Katherine Rivero, Nicole Neira, Marcelo Cortez-San Martín, Felipe Arenas-Salinas

Tesista de Doctorado

Laboratorio de Microbiología Molecular y Laboratorio de Virología Molecular y Control de Patógenos, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile

Agradecimientos a Beca de Doctorado Nacional, ANID

fernanda.contreras.t@usach.cl

**INTRODUCCIÓN.** Las nanoestructuras (NS), partículas que poseen al menos una dimensión en el rango de 1- 100 nm, exhiben propiedades interesantes para su aplicación en diferentes campos, uno de ellos se relaciona con su actividad viricida, lo que las hace candidatas para el manejo de enfermedades virales. Actualmente, existen productos desinfectantes y protectores de superficies que contienen NS metálicas que actúan como agentes viricidas, sin embargo, la síntesis de estas nanoestructuras se lleva a cabo mediante métodos físicos/químicos tradicionales, los cuales son complejos, tóxicos y consumen energía. La síntesis biológica de NS surge como una alternativa a los métodos existentes, debido a que es un procedimiento que se encuentra dentro de la “química verde”. La siguiente investigación se asocia a la implementación de métodos de síntesis biológicos de NS metálicas, utilizando proteínas bacterianas provenientes de aislados ambientales chilenos.

**MÉTODOS.** A partir de aislados bacterianos resistentes y reductores de oro, se buscaron proteínas que podrían estar involucradas en la reducción del metal de interés a través de análisis bioinformáticos. Las proteínas identificadas fueron expresadas en *Escherichia coli* y purificadas por cromatografía de afinidad para evaluar su actividad reductora de oro *in vitro*. La proteína con mayor actividad reductora fue seleccionada para sintetizar nanoestructuras de oro. Las nanoestructuras generadas fueron caracterizadas y purificadas para evaluar su actividad viricida contra ortomixovirus mediante ensayos en suspensión y en superficies no porosas según el Comité Europeo de Estandarización.

**RESULTADOS.** A través de análisis bioinformáticos se identificaron 5 proteínas con posible actividad reductora de oro pertenecientes a la familia de las oxidorreductasas y metiltransferasas en uno de los aislados ambientales. Se determinó la actividad reductora de oro de las proteínas purificadas, observando que la mayor actividad fue obtenida con una oxidorreductasa a pH básico y en presencia de un cofactor. En estas condiciones se sintetizaron nanoestructuras de oro que mostraron actividad contra ortomixovirus, disminuyendo los títulos virales infectivos en ensayos en suspensión y superficies no porosas.

**CONCLUSIÓN.** Las nanoestructuras metálicas biosintetizadas exhibieron actividad viricida contra ortomixovirus en ensayos en suspensión y superficies, convirtiéndolas en candidatas para su aplicación en productos desinfectantes/protectores.

Keywords: Nanoestructuras, reducción, oro, viricida, ortomixovirus.

Agradecimientos a Beca de Doctorado Nacional, ANID



Tipo de presentación: Panel

**Improvements in culture medium and operational parameters for maximizing biomass of the marine protist *Ulkenia visurgensis* Leng2**

**Pedro Contreras**<sup>1</sup>, Claudia Oviedo<sup>2</sup>, José Navarrete<sup>1</sup>, Robinson Soto-Ramírez<sup>3</sup>

(1) Universidad del Bío-Bío, Wood Department, Engineering Faculty, Avda. Ignacio Collao 1202, Concepción, Chile

(2) Universidad del Bío-Bío, Chemistry Department, Sciences Faculty, Avda. Ignacio Collao 1202, Concepción, Chile

(3) Pontificia Universidad Católica, Biochemistry Engineering Department, Engineering Faculty, Avda. Brasil 2950, Valparaíso, Chile

Thraustochytrids are marine heterotrophic protists that have gained attention in recent years due to their biotechnological potential, especially as a microbial source of high value-lipids such as docosahexaenoic acid (DHA), eicosapentaenoic acid (EPA) and carotenoid pigments. These protists are feasible to obtain in the laboratory, however, low yields are one of the most important restrictions in terms of operational scaling for high-value metabolites production.

In this research, an improvement in culture medium composition and operational parameters was carried out to maximize biomass production of *Ulkenia visurgensis* Leng2, a recently isolated Chilean thraustochytrid strain. For this purpose, Design of Experiments methodologies such as Factorial and Response Surface designs were used. As a result of these analyses, a substantial improvement in biomass yield was obtained in the composition of a conventional culture medium (glucose, peptone and yeast extract) and in some operational parameters (time, temperature and aeration degree). A maximum concentration of 11.64 g/L of dry biomass was achieved. This is a 120% improvement as compared to previous studies. Additionally, the growth kinetics and behavior of the strain against the use of antibiotics were analyzed. The latter is an additive that is normally used during the isolation and culture of these protists to avoid bacterial contamination. Growth kinetics evidenced a delay of the exponential phase after the addition of chloramphenicol (0.3 g/L) with a decrease in the maximum biomass obtained.

The use of Design of Experiments resulted in an effective improvement in the biomass production of *U. visurgensis* Leng2 in conventional media. In all, these results provide useful procedural data to maximize biomass production in thraustochytrids and contribute to prospecting new culture media formulations.

Keywords: Thraustochytrids, Biotechnology, Biomass, Marine, Protist

Financing: Universidad del Bío-Bío Graduate Research Fellowship 2022 (Decree number 5099)

Acknowledgments: The authors would like to thank the Universidad del Bío-Bío for the Doctoral Scholarship and Research Grant Decree.

Tipo de presentación: Panel

**Proposal for optimization of serial cultivation of *Metharizium anisopliae* as an alternative for biocontrol of *drosophila suzukii* in *prunus subg. cerasus*.**

**Propuesta de optimización de cultivo seriado de *Metharizium anisopliae* como una alternativa para biocontrol de *Drosophila suzukii* en *Prunus subg. cerasus*.**

**Bryan Contreras<sup>1,3</sup>**, Rodrigo Rodríguez<sup>1</sup>, Josefa Mendoza<sup>1</sup>, Isabel Coronado<sup>1</sup>, Paola Duran<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de la Frontera, Biocontrol Research Laboratory, Av. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, Universidad de la Frontera, Av. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Biochemistry Degree, Universidad de la Frontera, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Av. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

El hongo *Metarhizium anisopliae* de la familia Clavicipitaceae posee características de un hongo entomopatógeno biocontrolador de una gran diversidad de plagas que afectan la agricultura y la fruticultura de nuestro país. La baja efectividad de los productos comerciales actualmente utilizados, motiva a proponer nuevos sistemas de producción que optimicen aspectos fisiológicos y de crecimiento del hongo. Este estudio tiene por objetivo desarrollar una metodología que permita optimizar la producción *in vitro* de una cepa nativa de *Metarhizium* aislada desde una larva de *Drosophila* e identificada morfológicamente. La cepa fue tomada desde placas de cultivo agar dextrosa y papa (PDA) e inoculada en bolsas de polipropileno con membranas de intercambio gaseoso que contenían arroz integral y una solución nutritiva. Las bolsas fueron sometidas a fotoperiodos evaluando parámetros como velocidad de crecimiento, desarrollo del micelio y esporas, biomasa por cm<sup>3</sup>, etc. La viabilidad final de las esporas fue determinada mediante crecimiento en placas de PDA posterior a los tratamientos. Los resultados demostraron que la mejor condición de producción se logró bajo fotoperiodos de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, logrando una mayor estimulación en el desarrollo del micelio y esporas, una producción de biomasa de 3 g/cm<sup>3</sup> en comparación con los 15 g/cm<sup>3</sup> obtenidos en fotoperiodos superiores a las 20 de horas de luz y en condiciones ambientales de 27°C y Humedad relativa del aire del 70%. La metodología propuesta demostró ser una alternativa relevante de optimización del crecimiento de *Metarhizium* mejorando significativamente el desarrollo micelar y producción de biomasa del hongo bajo en condiciones *in vitro*.

Keywords: Microbiología, fisiología de hongos, Biocontrol, Agricultura Sustentable

Financing: PROYECTO ANILLO ATE220038

Acknowledgments: PROYECTO ANILLO ATE220038 UNIVERSIDAD DE LA FRONTERALABORATORIO DE BIOCONTROL

Tipo de presentación: Panel

### **Bacteriophages as bioreceptors for the detection of *Salmonella* Typhimurium**

### **Bacteriófagos como bioreceptores para la detección de *Salmonella* Typhimurium**

**Mónica Cortés-Higareda**<sup>1</sup>, Manuel Arce Arellano<sup>2</sup>, Marcela León<sup>2</sup>, Rosa Isela Ventura-Aguilar<sup>1</sup>, Silvia Bautista-Baños<sup>1</sup>, Roberto Bastías<sup>2</sup>

(1) Instituto Politécnico Nacional, Laboratorio de Tecnología Postcosecha de Productos Agrícolas, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Ctra. Yautepec-Jojutla, Km.6, calle CEPROBI No. 8, Col. San Isidro, Yautepec, Morelos, México

(2) Instituto de Biología, Laboratorio de Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Avenida Universidad 330 Curauma, Valparaíso, Chile

En respuesta a los brotes epidémicos relacionados con *Salmonella* Typhimurium debido al consumo de frutas, se ha investigado la utilidad de los bacteriófagos en un biosensor para la detección de este patógeno, actuando como bioreceptores o biomoléculas altamente sensibles. La falta de monitoreo efectivo en diversos países ha agravado el problema, resaltando la necesidad de herramientas más precisas y sensibles para la detección de esta bacteria. Los bacteriófagos han surgido como posibles candidatos para esta función debido a su habilidad para reconocer selectivamente a sus bacterias hospederas.

El objetivo principal de este trabajo es aislar y caracterizar bacteriófagos capaces de anclarse a *Salmonella* Typhimurium y generar una señal para la detección temprana de este patógeno.

El proceso de aislamiento involucró el muestreo de heces de aves de corral y el uso de cepas *S. enterica* como hospedero. La especificidad de los bacteriófagos se evaluó a través de su rango hospedero contra otras enterobacterias y *Listeria monocytogenes*. La secuenciación de los genomas de los bacteriófagos se llevó a cabo mediante la plataforma Illumina, y la información genética resultante se analizó utilizando herramientas bioinformáticas Pharokka y Vip tree.

El estudio reveló la identificación de dos bacteriófagos específicos para *Salmonella* Typhimurium, denominados F4/1 y F5/2. Estos fagos demostraron una selectividad notable, infectando exclusivamente bacterias del género *Salmonella*, además el fago F5/2 infecto cepas resistentes a la kanamicina. Los análisis genómicos revelaron que el F4/1 y F5/2 presentaron un tamaño 110,270 y 92,353 pb, respectivamente, y un contenido de G+C del 38-82% y 45.1% respectivamente. Pertenecen a la clase *Caudoviricetes*. Por otro lado, utilizando Viptree se estableció que F4/1 está relacionados con *Salmonella phage* SE131, *Salmonella phage* 7-118, mientras que F5/2 con *Salmonella phage* VSe12, *Salmonella phage* oldekolle.

En conclusión, los bacteriófagos F4/1 y F5/2 han demostrado ser específicos en la infección de *Salmonella* Typhimurium, lo que los convierte en prometedores bioreceptores para la detección de este patógeno mediante biosensores. Este estudio representa un primer paso para el uso de bacteriófagos como herramientas valiosas en la detección temprana y precisa de *Salmonella* Typhimurium, contribuyendo así a la mejora de la seguridad alimentaria.

Keywords: Interacción huésped-bacteriófagos, Análisis genómico, Biosensores

Tipo de presentación: Panel

**Production of thermophilic *Bacillus* spp. biopolymers from the Altiplano chileno for the minimization of water stress in plants**

**Producción de biopolímeros de *Bacillus* spp. termófilos del Altiplano chileno para la minimización de estrés hídrico en plantas**

**Fabián Dario Cuadros Segura**<sup>1</sup>, Cristóbal Gajardo<sup>1</sup>, Johanna Cortes<sup>1</sup>, Victoria Palma<sup>1</sup>, Coral Pardo<sup>2</sup>, Martha Hengst<sup>2</sup>, Carolina Yañez<sup>1</sup>

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

(2) Universidad Católica del Norte, Departamento de Ciencias farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Avenida Angamos 0610, Antofagasta, Chile

Debido a las sequías prolongadas, es esencial desarrollar estrategias y tecnologías para adaptar la agricultura a las variaciones climáticas y del suelo, garantizando la seguridad alimentaria. Este estudio evaluó los mecanismos de síntesis de exopolisacáridos (EPS) y el efecto de la inoculación en plantas sometidas a estrés hídrico de *Bacillus paralicheniformis* LB7 y *Bacillus licheniformis* NP42, aislados desde el Sistema Hidrotermal de Lirima (Chile), caracterizadas como productoras de EPS y potencial reductor de estrés hídrico. Se ajustó la producción de polímeros cuantificando EPS mediante diseño de Plackett-Burman y metodología de superficie de respuesta identificando las condiciones óptimas (LB7: 58°C, pH 4, NaCl 1.15 M, glucosa 0.2 M; NP42: 58°C, pH 4, NaCl 1.19 M, glucosa 0.2 M) que generan la mayor producción teórica de EPS (LB7: 404 mg/L, NP42: 187 mg/L). A partir de la anotación del genoma, se determinaron genes y proteínas involucradas en la producción de biopolímeros y se realizó una reconstrucción metabólica identificando 4 etapas (fosforilación de glucosa, formación de NDP-azúcares, síntesis de unidades repetitivas de azúcares y polimerización y transporte). Además de esto, para evaluar el efecto protector *in vitro*, ambas bacterias se inocularon en plántulas de lechuga mediante cuatro tratamientos (con y sin bacteria y con y sin estrés hídrico) por 7 días. No se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a las longitudes de hojas y raíces, así como al porcentaje de humedad y la actividad de clorofila. No obstante, las plántulas no inoculadas mostraron signos de clorosis y deshidratación. Por esta razón, se determinaron enzimas detoxificantes relacionadas al estrés hídrico observando un aumento significativo en la actividad enzimática de la catalasa y ascorbato peroxidasa en los tratamientos inoculados con bacterias (9.56 y 7.14 U/mg proteína) en comparación con los controles no inoculados (4.06 y 2.19 U/mg proteína); esto se relaciona con la preparación de la planta para enfrentar la escasez de agua, ya que el estrés hídrico aumenta el estrés oxidativo en la planta. Basados en esto, estas bacterias son promisorias como bioinoculantes para mitigar el estrés por sequías y reducir la huella hídrica en la agricultura ante el cambio climático.

Keywords: Estrés hídrico, Extremófilas, Exopolisacáridos, Bioinoculante, Agricultura  
Financing: Proyecto Fondecyt Regular 1211515Proyecto PUCV 039.325/2023

Tipo de presentación: Panel

**Effect of light quality on the synthesis of carotenoids and associated transcriptome of a chlorophyte microalga MCH-35, potential producer of lutein.**

**Efecto de la calidad de luz en la síntesis de carotenoides y transcriptoma asociado de una microalga clorófitas MCH-35, potencial productora de luteína.**

**Daniela Dominique Diaz Mac-Adoo<sup>1</sup>**, Maria Teresa Mata<sup>1</sup>, Carlos Riquelme<sup>1</sup>

(1) Universidad de Antofagasta, Centro de Bioinnovación, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Av Universidad de Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile

La síntesis de carotenoides en microalgas, puede ser afectada por diversos factores de estrés ambiental, donde la luz es considerada uno de los más importantes debido a su influencia en el crecimiento celular y la regulación de vías metabólicas relacionadas con la fotoprotección del aparato fotosintético. El objetivo de nuestro trabajo, fue evaluar en la microalga clorófitas MCH-35, aislada en el desierto costero de Antofagasta y potencial productora de luteína, la influencia de la luz blanca, azul y roja, sobre el crecimiento, biomasa, acumulación de carotenoides como luteína, astaxantina, violaxantina,  $\beta$ -caroteno y zeaxantina y la expresión de los genes relacionados con su biosíntesis, a través de técnicas de conteo celular, HPLC y ARN-seq donde se analizaron los genes diferencialmente expresados (DEG) y el enriquecimiento de conjuntos genes (GSEA) pertenecientes a cada cluster. Para estos análisis, los tratamientos se llevaron a cabo en un Multicultivador MC 1000-Mix. Los resultados mostraron que la luz azul y blanca estimulan la productividad de carotenoides con valores cercanos a  $1.3 \text{ mg L}^{-1}\text{día}^{-1}$ , en contraste con la luz roja ( $\approx 0,5 \text{ mg L}^{-1}\text{día}^{-1}$ ), siendo la luteína el carotenoide más representativo con valores cercanos al 0,3 % peso seco. Por otro lado, se observó que la luz azul también induce la acumulación de otros carotenoides como astaxantina, violaxantina,  $\beta$ -caroteno y zeaxantina, relacionando este resultado con la sobre-regulación de 11 de los 12 transcritos detectados relacionados con enzimas clave presentes en el vía de biosíntesis de carotenoides. Finalmente, se ha observado que los cultivos sometidos a tratamientos de estrés por diferentes longitudes de onda, inducen la regulación de transcritos implicados en vías metabólicas relacionadas con mecanismos de fotoprotección en general. Este estudio presenta enfoques relevantes sobre la producción de carotenoides y la comprensión de su relación con el nivel de expresión génica, basado en la implementación de sistemas de inducción de luz seleccionados.

Keywords: Microalgas, carotenoides, luteína, transcriptoma, longitud de onda

Financing: Proyecto Atacama Lutein: Sistema optimizado de producción de luteína microalgal en base a inducción sinérgica luz-fitohormonascódigo: ID22I10317

Tipo de presentación: Panel

**Characterization of compounds with antifungal activity against *Botrytis cinerea* obtained from endophytic fungi of the order Pleosporales**

**Caracterización de compuestos con actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea* obtenidos de hongo endófito del orden Pleosporales**

**Josefa Divasto Vergara**<sup>1</sup>, Trinidad Curtze<sup>1</sup>, Freddy Navarro<sup>1</sup>, Paulo Castro<sup>1</sup>, Rodolfo Parada<sup>1</sup>, Milena Cotoras<sup>1</sup>, Leonora Mendoza<sup>1</sup>  
(1) Universidad de Santiago de Chile, Biología, Química y Biología, Av. B. O'Higgins N° 3363, Santiago, Chile

El hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* afecta a más de 1400 especies vegetales en el mundo, considerándose como el segundo fitopatógeno de mayor importancia a nivel mundial. Su presencia en cultivos y cosechas puede causar la pérdida total de la producción agrícola, debido a la enfermedad que produce en el huésped, denominada "pudrición gris". Para prevenir la infección por el fitopatógeno se han utilizado a lo largo del tiempo diversos fungicidas de origen sintéticos. Sin embargo, el prolongado uso de estos ha permitido la selección de cepas resistentes, además de causar daño en el medio ambiente y en la salud, debido a los residuos tóxicos que quedan en el ambiente. Es por ello por lo que se han desarrollado metodologías para la prevención de infección o desarrollo de enfermedad por *B.cinerea*. Una alternativa, es el uso de hongos endófitos, los que secretan una diversidad de metabolitos secundarios con actividad antifúngica contra fitopatógenos que puedan infectar mediante antibiosis por competencia de nutrientes y/o espacio.

En este trabajo se utilizó un endófito del orden Pleosporales aislado de la zona precordillera del Cajón del Maipo de *Echinopsis chiloensis*. De los productos secretados por el hongo, se trabajó con la fracción obtenida con la mayor actividad antifúngica contra *B.cinerea*. Mediante la técnica de bioautografía se determinó la fracción del extracto que poseía los compuestos bioactivos. Posteriormente, a través de técnicas cromatográficas se purificó parcialmente la fracción bioactiva, y finalmente, mediante técnicas espectrométricas y espectroscópicas se caracterizaron los compuestos con actividad contra *B.cinerea*. Los compuestos bioactivos mostraron una inhibición en el crecimiento micelial del fitopatógeno sobre un 90% y probablemente correspondan a la familia de los terpenoides.

Keywords: Metabolitos secundarios, Hongos endófitos, Antibiosis

Financing: Financiamiento Fondecyt regular N°1230464

Acknowledgments: Agradecimientos a Beca Movilidad POE2023\_FQYB1 Facultad Química y Biología, Universidad de Santiago.

Tipo de presentación: Panel

### **Microscope Automatization for the Characterization of Bacterial Adhesion**

**Natalie Duchén Mura<sup>1</sup>**

(1) Grupo de Biología Mecánica, Laboratorio Genómica Microbiana, Centro de Genómica y Bioinformática, Universidad Mayor,, Camino la Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile.

Bacterial adhesion is a crucial process in the colonization of surfaces. Many bacteria use filamentous structures called fimbria or pili to adhere to the host cell's surface, allowing them to attach temporarily or long-term to cell surface receptors. These protein-based filaments must withstand high mechanical forces due to the movement of mucus, coughing, and other challenges implemented by the host as a desperate resource aiming to dislodge pathogenic bacteria.

Here, we developed an instrument that mimics the mechanical forces experienced by a single pilus during the adhesion to human epithelia. Based on 3D printing and custom-made design, the microscope can track single beads decorated with single pili proteins covalently tethered to the surface through the Halo-Tag strategy. By approaching a pair of magnets, the force on the molecule is increased, operating as a "magnetic tweezers" which enable the manipulation of the protein filament.

The microscope is equipped with two stepper motors, operated through an Arduino microcontroller, allowing X- and Y-axis movements with a precision of  $>10$  nm. On the other hand, the Z-axis is controlled by a piezo-objective with a spatial resolution of 5 nm. Moreover, a fast camera enables a video acquisition of  $\sim 1000$  fps (bandwidth 1KHz). All these components are anchored on an opto-mechanics chassis developed in our lab.

For testing the ability of our Magnetic-Tweezers (MT) instrument, we used protein L from *Fingoldia magna*, a surface protein model for studying protein folding under force. Our recordings suggest that protein L experiences unfold and refold transitions in the 1-10 pN range, while at forces above 10 pN, the transitions are biased to the unfolded state. Our preliminary results indicate a mechanism to explain the forces that bacteria experience during the adhesion.

We are working on future developments for our MT instrument, which are based on implementing artificial intelligence for bead tracking and automatic motion. This new software will allow us to automatically explore an entire surface during hours, without human supervision, speeding up the acquisition of data related to the adhesion of bacteria to surfaces.

Keywords: Bacterial adhesion, force spectroscopy, artificial intelligence

Acknowledgments: This research was supported by the National Agency for Research and Development (ANID), FONDECYT 1221064

Tipo de presentación: Panel

**Optimization of submerged fermentation culture conditions for the production of red pigments by Antarctic fungi of the genus *Pseudogymnoascus* using a response surface methodology.**

**Optimización de la condiciones de fermentación sumergida para la producción de pigmentos rojos por hongos antárticos del género *Pseudogymnoascus* utilizando una metodología de superficie de respuesta.**

**Valeria Ergas<sup>1</sup>**, Diego Palma<sup>1</sup>, Mariana Montanares<sup>1</sup>, Renato Chávez<sup>2</sup>, Inmaculada Vaca<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile

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

Los hongos del género *Pseudogymnoascus* son prevalentes de los climas fríos, incluyendo la Antártica. En nuestro laboratorio, tenemos una colección de cepas de *Pseudogymnoascus* de origen antártico, varias de las cuales son filogenéticamente cercanas a la especie *Pseudogymnoascus verrucosus*. Una de las características de las cepas del complejo *P. verrucosus* es que producen pigmentos rojizos en cultivos sólidos, los cuales se cree que podrían ser azafilonas y naftoquinonas. En este trabajo, se analizaron distintas fuentes de carbono y nitrógeno, pH, concentraciones de NaCl, temperaturas, y velocidades de agitación, para inducir la producción de pigmentos rojizos en fermentaciones sumergidas de 4 cepas de *P. verrucosus* de origen antártico. Se observó la producción de pigmentación rojiza en cultivos en agitación de medios caldo papa dextrosa (PDB) suplementados con infusión de papa natural y glucosa. Usando esto datos, se realizaron experimentos de diseño de superficie de respuesta para optimizar la pigmentación de los cultivos, variando la concentración de glucosa y de infusión de papa natural, así como la velocidad de agitación. La producción de pigmentos rojos se evaluó a través de espectrofotometría a 520 nm. Las curvas de superficie de respuesta mostraron que las condiciones óptimas de cultivo son: agitación de 250 rpm, y concentración de PDB y extracto de papa de 36 g/L y 8 g/L, respectivamente. No se observó influencia significativa de la cantidad de glucosa en la producción de pigmento. Por otro lado, mediante PCR, se determinó la presencia de dos genes de policétido sintasas que podrían estar relacionados con la producción de azafilonas en el genoma de las 4 cepas estudiadas. Finalmente, mediante RT-PCR, se comprobó que estos genes se expresan diferencialmente cuando hay pigmentación del medio. En conclusión, se lograron determinar dos variables que significativamente contribuyen a la producción de pigmentos rojizos en cultivos sumergidos de 4 cepas de *P. verrucosus* de origen Antártico y se vinculó su expresión con genes involucrados en la biosíntesis de azafilonas.

Keywords: metodología de superficie de respuesta, *Pseudogymnoascus*, Pigmento, Fermentación

Financing: Funding: ANID Programa Fondecyt 1211830



Tipo de presentación: Panel

**Valorization of slaughterhouse wastewater: an approach to circular economy**

**Valorización del agua residual de un matadero: un enfoque hacia la economía circular**

**Robin Espinosa Flores**<sup>1</sup>, Mónica Montory González<sup>1</sup>, Javier Ferrer Valenzuela<sup>1</sup>, Apolinaria García Cancino<sup>2</sup>

(1) Universidad de Concepción, Recursos Hídricos, Ingeniería Agrícola, Vicente Méndez 595, Chillán, Chile

(2) Universidad de Concepción, Microbiología, Ciencias Biológicas, Chacabuco, Concepción, Chile

La producción cárnica es la actividad con mayor impacto en el medio ambiente, por la demanda y contaminación del recurso hídrico. Esta actividad ha ido en constante aumento y en efecto, se pronostica una mayor generación de agua residual de matadero (ARM). Este tipo de agua está enriquecida con sangre, grasas, contenido ruminal, nitrógeno, fósforo, etc. El ARM es visto como un residuo debido a la visión económica lineal. Sin embargo, dada las características nutricionales de este se podría satisfacer el metabolismo de alguna bacteria ácido láctica (BAL) y obtener así un medio de cultivo de bajo costo. En este contexto, el objetivo de esta investigación es valorizar el uso de agua residual de matadero como medio de cultivo para la cepa *Lactobacillus plantarum* LP 47. Para lograr el objetivo se realizó una investigación bibliográfica sobre las características nutricionales del ARM y condiciones de cultivo de BAL, además se realizaron experimentos en laboratorio para estandarizar un medio, a través de acondicionamientos consistidos en la adición de fuente de carbono como suero de queso o microalga *Chlorella vulgaris* y el sometimiento a un tratamiento térmico o ultra sonido, con el fin de lograr una producción económica de biomasa y de biomoléculas a partir del agua residual.

De resultado se obtuvo que LP 47 puede crecer en el ARM sin acondicionamiento, pero el desarrollo no es óptimo debido a los microorganismos asentados y a la falta de carbono. Por otro lado, la mayor reducción de pH (7,5 a 3,88) se obtuvo con el tratamiento térmico y adición de suero de queso, mientras que la mayor producción de biomasa fue con el tratamiento ultra sonido y adición de suero de queso (1800 mg/L).

Finalmente se concluye que el ARM tiene potencial para ser valorizado como medio de cultivo para la cepa LP 47. Además, será interesante buscar medidas de gestión y tecnologías que permitan concentrar el contenido nutricional e inhibir el crecimiento de otros microorganismos que desestabilicen el proceso y así lograr una mayor producción de biomasa y en paralelo la generación de biomoléculas que promuevan una economía circular (como ácido láctico, exopolisacáridos, entre otros).

Keywords: Bacterias ácido lácticas, Agua residual de matadero, Valorización, Biomoléculas, Medio de cultivo

Tipo de presentación: Panel

**Isolation and characterization of native bacteria with the ability to utilize organic matter from aquaculture sewage sludge.**

**Aislamiento y caracterización de bacterias nativas con capacidad de utilizar la materia orgánica de lodos residuales de acuicultura.**

**Sara Farias Rios**<sup>1</sup>, Silvia Gómez Suarez<sup>2</sup>, René Espinoza Alvarado<sup>3</sup>, Roberto Bastías<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología, Laboratorio de Microbiología, Avenida Universidad 330, Valparaíso, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ciencias del Mar, Facultad de Ciencias del mar y Geografía, Avenida Universidad 330, Campus Curauma, Valparaíso, Chile

(3) Universidad de Los Lagos, Departamento de acuicultura y Recursos Agroalimentarios, Osorno, Chile

La industria acuícola es la segunda más importante del país a nivel económico, mostrando durante los últimos años un crecimiento de producción exponencial. Uno de los problemas de esta industria son sus desechos que generan un impacto negativo en el medioambiente. Estos desechos corresponden a lodo acuícola que se compone principalmente de alimento no consumido y heces de los peces cultivados. Como alternativa al tratamiento de estos residuos, en este proyecto hemos investigado el potencial uso de bacterias nativas de lodo acuícola para su degradación. Para esto aislamos y caracterizamos las bacterias provenientes del lodo generado en un sistema de recirculación acuícola de la industria Acuinor (Caldera, Chile). Inicialmente se obtuvo 9 cepas aisladas en Agar marino, 5 en AMS\_LB y 164 cepas en Medio marino mínimo suplementado con 0,5%, 1%, 1,5%, o 2% de lodo acuícola como única fuente de carbono y energía, obteniéndose un total de 178 cepas bacterianas aisladas. Se evaluó el crecimiento de estas cepas en medio marino mínimo con 1 % lodo acuícola a las 0, 24 y 72 h, seleccionándose 61 aislados que mostraron un aumento constante en su población. Posteriormente se evaluó el crecimiento de las cepas seleccionadas en lodo acuícola a las 0, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 h, seleccionando las cepas bacterianas que presentaron una mayor tasa de crecimiento para su posterior caracterización genómica. Este estudio muestra que existen bacterias capaces de utilizar lodo acuícola como fuente de energía y carbono, sentando las primeras bases de lo que podría ser una formulación para el tratamiento de los desechos orgánicos de la industria acuícola.

Keywords: Lodo acuícola, Bacterias nativas, Biorremediación, Industria acuícola, Sistema de recirculación acuícola

Financing: Fondecyt 1200521

Tipo de presentación: Panel

**Bioprospecting of bioactive compounds by metabolomic analysis produced by *Traustochitridia* isolated from Antarctic samples.**

**Bioprospección de compuestos bioactivos mediante análisis metabolómico producidos por *Traustoquitridios* aislados de muestras Antárticas.**

**Nicolás Fernández**<sup>1</sup>, Nicolás Vera<sup>2</sup>, Karen Vergara<sup>3</sup>, Eduardo Contreras<sup>2</sup>, Patricia Valdespino<sup>4,5</sup>, Hoi-Ying Holman<sup>5</sup>, Nancy Calisto<sup>6</sup>, Gino Corsini<sup>7</sup>, Mario Tello<sup>8</sup>, Alex R. Gonzalez<sup>2</sup>

(1) Ingeniería en Biotecnología, Universidad Tecnológica Metropolitana, Ñuñoa, Santiago, Chile

(2) Laboratorio de Microbiología Ambiental y Extremófilos, Departamento de Ciencias Biológicas y Biodiversidad, Universidad de los Lagos, Osorno, Chile

(3) Laboratorio de Genética, Acuicultura y Biodiversidad, Departamento de Ciencias Biológicas y Biodiversidad, Universidad de los Lagos, Osorno, Chile

(4) Escuela Nacional de Ciencias de la Tierra, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México

(5) BSISB, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA 94720, E.U

(6) Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Magallanes, Punta Arenas, Chile

(7) Laboratorio de Microbiología Molecular y Compuestos Bioactivos, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, Chile

(8) Centro de Biotecnología Acuícola, Universidad de Santiago de Chile, Alameda, Santiago, Chile

El entorno Antártico es una fuente de biodiversidad única y poco explorada, lo que podría ayudar a identificar nuevos e interesantes recursos biotecnológicos. Los *Traustoquitridios* son protistas unicelulares heterótrofos del Filum Heterokonta, clase Laberintomicetos. Estos microorganismos son reconocidos como fuentes comerciales de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs). Además, producen metabolitos que pueden ser de gran interés comercial y biomédico como pigmentos con actividad antioxidante, escualeno, exopolisacáridos (EPS) sulfatados y enzimas hidrolíticas. Actualmente la bioprospección de metabolitos producidos por *Traustoquitridios* es escasa. Por este motivo, el estudio tiene como objetivo explorar el potencial de *Traustoquitridios* como fuente de biomoléculas con aplicaciones biotecnológicas. Para su aislamiento las muestras fueron enriquecidas con polen de pino y posteriormente traspasadas a medio selectivo. Las colonias obtenidas fueron caracterizadas con microscopía óptica mediante tinción gram y Oil red para corroborar morfología y presencia de Ácidos grasos totales, otros componentes estructurales intracelulares fueron detectados y caracterizados mediante espectromicroscopía FTIR. Corroborado lo anterior, se realizó la extracción de DNA genómico, amplificación y secuenciación del gen ARNr 18S para su análisis filogenético. Paralelamente, a partir de sobrenadantes de los cultivos se realizó la caracterización e identificación de metabolitos de bajo peso molecular a través de LC-MC/MS y los datos obtenidos fueron analizados a través de metaboscape 4.0. Mediante microscopía se lograron identificar 3 aislamientos con morfología atribuible a *Traustoquitridios*. La identificación molecular del gen ARNr 18S y análisis filogenético indican que las cepas aisladas se ubican entre microorganismos pertenecientes a la familia Oblongichytriidae y Ochromonadaceae con similitudes del 99.51% para *Poterioochromonas malhamensis* y 88.33% para *Oblongichytrium* sp. A nivel metabolómico se reveló la presencia de metabolitos extracelulares de bajo peso molecular, incluyendo diversas subclases de ácidos grasos, como dicarboxílicos, ramificados, hidroxí, sulfónicos. Carotenoides como el  $\beta$ -caroteno y poliaminas como la spermidina, empleados como suplementos alimenticios con efectos positivos para la salud humana. Los metabolitos descritos podrían tener un papel importante en la adaptación de estos microorganismos en el medio ambiente antártico, y su utilización representa un vasto potencial de aplicaciones biotecnológicas tanto a nivel nutricional, biomédicas y de biocombustibles.

Keywords: *Thraustochytrium*, microbial metabolites, antarctic *thraustochytrids*, fatty acids, Marine ecosystem

Financing: Súbete, del Programa de Movilidad Estudiantil Nacional de Pregrado entre las 18 Universidades Estatales de Chile

Acknowledgments: Agradecimientos: Dirección de Investigación U. de los Lagos (AG), Programa de Movilidad Estudiantil de pregrado (NF) y Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Chile (GCA). Lawrence Berkeley National Laboratory, One Cyclotron Rd, Berkeley, CA (HH y PV).

Tipo de presentación: Panel

### Heterologous protein delivery by *S. Typhi*'s OMVs using a genetic fusion with an ompA signal peptide.

**Ignacio Fuentes Cáceres**<sup>1</sup>, Jan Nevermann<sup>1</sup>, Francisco Parra Lathrop<sup>1</sup>, Juan A. Fuentes<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Genética y Patogénesis Bacteriana, Facultad de Ciencias de la Vida, Av. República 330, Santiago, Chile

Outer membrane vesicles (OMVs) are proteoliposomes released from outer membrane of Gram-negative bacteria, which contain phospholipids, proteins and nucleic acids. Notably, OMVs have garnered substantial attention for their applications in biotechnology, particularly in delivery of factors and the creation of vaccines with heterologous antigen presentation.

Through genetic engineering, cellular machinery can be manipulated to enable heterologous expression of proteins, which can then be load and exported within OMVs. Genetic constructs have been developed to facilitate secretion of proteins within OMVs derived from *E. coli* using gene fusions with signal peptides (SP) which acts as a translocation signal. However not every SP are efficient to secrete heterologous proteins.

*Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. Typhi*) serves as the causative agent of typhoid fever in humans. Genes implicated in biogenesis of OMVs in *S. Typhi* have been identified, with notable candidates being *tolR* and *degS*. OMVs produced by  $\Delta tolR$  and  $\Delta degS$  mutants exhibit promising potential for biotechnological applications. These OMVs can be internalized by eukaryotic cells and exhibit low cytotoxicity. Nothing is known about *S. Typhi*'s OMVs capability to load and deliver heterologous antigens.

As a proof of concept, we hypothesized that SP<sub>ompA</sub> could be fused to *mcherry*, thereby directing mCherry into *S. Typhi* OMVs. Subsequently, OMVs containing mCherry could be delivered into cultured cells, and inoculation in mice with OMVs carrying mCherry would stimulate the production of antibodies against mCherry.

We employed overlap extension PCR to fuse SP<sub>ompA</sub> with *mcherry*. The loading of mCherry onto OMVs was quantified by measuring fluorescence within OMVs and confirmed by Western blot. Delivery of mCherry by OMVs into cultured cells was assessed via fluorescence microscopy. Additionally, we evaluated antibody production against mCherry in inoculated mice using Western blot.

We found that SP<sub>ompA</sub> effectively targets mCherry into *S. Typhi* OMVs, allowing the successful delivery of mCherry by OMVs into cultured cells. Furthermore, inoculation of mice with OMVs carrying mCherry induces the generation of specific antibodies against mCherry.

This study contributes to the improvement of OMVs as a biotechnological platform for delivery of heterologous proteins through OMVs to produce specific antibodies.

Keywords: OMVs, Heterologous protein, *Salmonella Typhi*

Financing: FONDECYT 1220584

Tipo de presentación: Panel

**Catalase activity in seedlings of *Lactuca sativa* var. Longifolia inoculated with thermophilic bacteria subjected to water stress**

**Actividad de catalasa en plántulas de *Lactuca sativa* var. Longifolia inoculadas con bacterias termófilas sometidas a estrés hídrico**

**Cristóbal Gajardo Alcayaga**<sup>1</sup>, Fabián Cuadros Segura<sup>1</sup>, Martha Hengst López<sup>2</sup>, Carolina Yáñez Prieto<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo Ecología Microbiana de la Rizósfera, Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Avenida Universidad 330, Valparaíso, Chile

(2) Universidad Católica del Norte, Laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada. Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Chile

Chile es considerado un país vulnerable a los efectos del cambio climático y su impacto se ha manifestado esencialmente por condiciones de sequía, afectando en gran parte a las zonas agrícolas productivas. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) son moléculas de desecho producidas en todos los organismos a través del metabolismo celular. En las plantas, la producción de ROS aumenta por el estrés hídrico, generando un exceso de estas moléculas y una posible muerte celular por toxicidad. Sin embargo, existen mecanismos para evitar este efecto como la producción de enzimas antioxidantes las que estabilizan a las especies reactivas para evitar daño en los tejidos. En este estudio, se determinó el efecto protector a estrés hídrico en plántulas de lechuga de tres bacterias termófilas aisladas del Sistema Hidrotermal de Lirima, Chile (*Bacillus licheniformis* LB7, *Streptomyces thermovulgaris* LB8 y *Bacillus paralicheniformis* NP42) productoras de EPS con capacidad higroscópica. Las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico a través de la adición de polientileglicol-6000 y se diseñaron cuatro tratamientos (con/sin bacteria y con/sin PEG-6000). Los resultados mostraron que existe variación en la actividad de catalasa entre los tratamientos. Esto sugiere que la inoculación con bacterias en las plántulas produce un cambio en la síntesis de enzimas antioxidantes. La mayor actividad enzimática se evidenció en los tratamientos inoculados con *B. licheniformis* LB7 (7,82 U/mg de proteína), seguido de *B. paralicheniformis* NP42 (6,23 U/mg de proteína) y finalmente la menor actividad fue evidenciada en los tratamientos inoculados con *S. thermovulgaris* LB8 (3,42 U/mg de proteína). Estos resultados permiten concluir que *Bacillus licheniformis* LB7 es una buena candidata para ser utilizada en la mitigación del estrés hídrico generado por el cambio climático, seguido del posible uso de NP42. Estudios futuros podrían centrarse en la cuantificación de otras enzimas antioxidantes involucradas en la respuesta al estrés hídrico.

Keywords: Bacterias termófilas, Actividad enzimática, Catalasa, Estrés hídrico, Cambio climático

Acknowledgments: FONDECYT Regular 1211515Proyecto DI REGULAR 039.325/2023 (PUCV)

Tipo de presentación: Panel

**Metagenomic Mining of Secondary Metabolites in Microbiomes Present in Antarctic Soils of Collins Glacier and Deception Island.**

**Minería Metagenómica de metabolitos secundarios en microbiomas presentes en suelos antárticos glaciar collins y isla Deception.**

**Matias Garcia**<sup>1,2,3</sup>, Paola Duran<sup>2,4</sup>, Michel Abanto<sup>1</sup>

(1) Unidad de Genómica y Bioinformática, Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Universidad de la Frontera, Avenida Francisco Salazar, 01145 Temuco, Chile.

(2) Laboratorio de Biocontrol, Instituto de Agroindustria, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

(3) Doctorado en Ciencias mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

(4) Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

Antarctica, the Earth's most remote continent, plays a crucial role in our global climate system and in understanding past, present, and future climate trends. Despite its isolation, Antarctica offers a unique opportunity for scientific research in one of the planet's purest and least characterized environments, shaped by extreme weather conditions that have influenced its biological diversity. In these harsh cold environments, prokaryotes represent a vast reservoir of undocumented biodiversity, holding potential for discovering novel biologically active natural products. Many of these microbial metabolites are produced through pathways encoded by biosynthetic gene clusters (BGCs). Since BGCs are expressed under specific environmental conditions, mining genomic data from bacteria found in extreme environments like Antarctica could unveil new BGCs with biotechnological potential. However, due to the ongoing climate change crisis, Antarctica is also experiencing global warming impacts, affecting its microbiota and habitat. This study presents a methodological approach to extract secondary metabolites for various biotechnological applications from metagenomic data obtained from Antarctic soil samples of the Collins Glacier and Deception Island. Taxonomic and functional pathway characterization was conducted using shotgun metagenomic sequencing reads, and the assembly of these reads led to the recovery of biosynthetic gene clusters. The goal was to identify promising BGCs in the Antarctic territories of Collins Glacier and Deception Island. Results indicate that actinobacteria were more abundant in 2017, but decreased by 2020, while pseudomonas increased in 2020 but decreased in 2017 on both islands. Functional pathways downregulated in 2017 included ABC transporters, while two-component systems were upregulated in 2020. Microorganisms in the Collins Glacier displayed biosynthetic clusters related to terpene and non-ribosomal peptide production, while Deception Island exhibited a promising quantity of biosynthetic gene clusters associated with ribosomal and non-ribosomal peptide production. These exploratory analyses are crucial for guiding field expeditions to extreme environments, ensuring the isolation of microorganisms with metabolites potentially valuable for applications such as cosmetics, antimicrobials, and anticancer agents. This holds the promise of driving future biotechnological innovations.

Keywords: bioinformatics, metagenomics, Climate Change, BGCs

Financing: Proyecto anillo ATT320038

Acknowledgments: Proyecto anillo ATT320038Beca Doctorado Nacional ANID 2023- 21231681

Tipo de presentación: Panel

***Limosilactobacillus fermentum* UCO-33, probiotic strain for lactose intolerant**

***Limosilactobacillus fermentum* UCO-33, cepa probiótica para intolerantes a la lactosa**

**Cristobal Goic**<sup>1</sup>, Claudia Ortega<sup>1</sup>, Cristian Parra-Sepúlveda<sup>1</sup>, Elena Uribe Pérez<sup>2</sup>, Apolinaria García-Cancino<sup>1</sup>

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile

(2) Universidad de Concepción, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile

La intolerancia a la lactosa es una condición con una incidencia de aproximadamente un 70% de la población mundial y que afecta la calidad de vida de las personas, generando diversos malestares gastrointestinales. En Chile, un 66% de la población sufre de esta condición; un 56% de la población hispana-chilena y un 88% de la población mapuche la presentan. Esto ocurre debido a la ausencia o al descenso en la producción de la enzima lactasa;  $\beta$ -galactosidasa producida normalmente en el borde en cepillo del enterocito en el intestino delgado. Una alternativa a este problema es el uso de probióticos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar a la cepa UCO-33 para ser utilizada como potencial probiótico para intolerantes a la lactosa, por su capacidad de producir la enzima lactasa. Se analizaron aspectos funcionales: resistencia a condiciones gástricas como ácido, sales biliares, agregación salina, ensayo de hidrofobicidad en superficie y de formación de biopelículas sobre superficie abiótica; aspectos de seguridad: resistencia antibiótica, potencial hemolítico y producción de ácido láctico; aspectos tecnológicos: crecimiento en condiciones de microaerobiosis y aerobiosis mediante recuento viable por microgota. Se cuantificó la actividad enzimática lactasa determinando la hidrólisis de o-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosido (ONPG) y finalmente mediante secuenciación del ADNr 16S se determinó la especie de la cepa UCO-33. Se clasificó a la cepa UCO-33 como no agregante y con hidrofobicidad alta. Además, la cepa mostró una buena adherencia en vidrio y es formadora de biopelícula, presentando su mayor producción a las 24 horas. En el recuento por microgota se observó que la cepa presenta un crecimiento similar tanto en aerobiosis como en microaerobiosis. La cepa no es productora de  $H_2O_2$ , presenta buena producción de ácido L-láctico, posee resistencia antibiótica a vancomicina y kanamicina, y la actividad de su enzima lactasa es de  $60,93 \pm 0,907 \mu\text{mol}/10\text{min}/\text{mg}$ . En conclusión, la cepa identificada como *Limosilactobacillus fermentum* UCO-33 presenta una alta actividad enzimática de lactasa, además de que se satura a bajas concentraciones de sustrato, lo que evidencia ser una cepa probiótica interesante para generar tratamientos a personas intolerantes a la lactosa.

Keywords: Probióticos, Intolerancia a la lactosa, Lactasa

Tipo de presentación: Panel

**Use of *Nannocloropsis gaditana* and its bioactive compounds for wastewater treatment in mining.**

**Uso de *Nannocloropsis gaditana* y sus compuestos bioactivos para el tratamiento de aguas residuales en minería.**

Katiuska Huapaya Mora<sup>1,2</sup>, **Jeferson Grisales Giraldo**<sup>1</sup>, Yannira Castillo<sup>1</sup>, Yesica Botero<sup>3</sup>, Luis Cisternas<sup>3</sup>, Ricardo Jeldres<sup>3</sup>, Mariella Rivas<sup>1</sup>

(1) Universidad de Antofagasta, Departamento de biotecnología, Facultad de ciencias del mar y recursos biológicos, Avenida Angamos 601, Antofagasta, Chile

(2) Universidad de Antofagasta, Programa de Doctorado en Ciencias Aplicadas mención Sistemas Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Avenida Angamos 601, Antofagasta, Chile

(3) Universidad de Antofagasta, Departamento de Ingeniería Química y Procesos de Minerales, Facultad de ingeniería, Avenida Angamos 601, Antofagasta, Chile

Producto de la actividad industrial y humana la contaminación del agua se ha convertido en una gran preocupación. Dichas aguas residuales se componen de diversos contaminantes como metales pesados, colorantes, partículas en suspensión, lodos, materia orgánica, entre otros, causando severos daños ambientales. El proceso de floculación ha sido durante muchos años una forma sencilla y eficaz de aglomerar y eliminar dichos contaminantes, sin embargo, los floculantes químicos usados actualmente también son tóxicos y persisten en el ambiente. Una alternativa sustentable es la utilización de procesos de biofloculación empleando un agente biológico como las microalgas. *Nannocloropsis gaditana* y sus compuestos bioactivos surgen como una alternativa para el mejoramiento de la calidad de aguas residuales. Para ello, se realizó una caracterización de *N. gaditana* mediante análisis de carbohidratos con el método de Dubois, proteínas mediante el método de Bradford, potencial Z de las células con el equipo Litesizer 500 y finalmente se determinaron los grupos funcionales presentes en la microalga mediante FTIR con el equipo JASCO FT/IR-4600. Posteriormente se evaluó la eficiencia y la remoción de pequeñas partículas en suspensión contenida en aguas residuales mediante ensayos de floculación empleando diferentes tratamientos de biomasa microalgal (cultivo vivo, hervido y liofilizado). Se evidenció una menor turbidez después de 2h en los tratamientos que contenían las células vivas (23 FNU), seguida de las células previamente hervidas (39 FNU) y las liofilizadas (154 FNU) con respecto al control sin microalgas (857 FNU). Los Cultivos de *N. gaditana* previamente hervidas, puede tener aplicaciones potenciales como biofloculante que puede disminuir la contaminación de las aguas residuales en los procesos minerales, permitiendo su recirculación.

Keywords: Aguas residuales, Floculación, Microalgas, Biofloculantes

Financing: Proyecto ANILLO ACT210027, Proyecto FONDECYT 1230885, ANID/DOCTORADO BECAS CHILE/2023- 21230218 y Proyecto ANT20992.



Tipo de presentación: Panel

**Generation of Nanobodies against Staphylococcus aureus with Potential Application in the Diagnosis of Bovine Clinical Mastitis.**

**Generación de Nanobodies contra Staphylococcus aureus con potencial aplicación en el diagnóstico de mastitis clínica bovina.**

Armin Mella<sup>1</sup>, Nivia Canales<sup>1</sup>, Guillermo Valenzuela<sup>2</sup>, Cathalina Caro<sup>3</sup>, Alejandro Rojas<sup>2</sup>, Luis Collado<sup>1</sup>, **Ronald Jara**<sup>1</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile

(2) Universidad Austral de Chile, Instituto de Medicina, Facultad de Medicina, Centro Interdisciplinario de Estudios del Sistema Nervioso, CISNE, Valdivia, Chile

(3) Universidad Austral de Chile, Programa de Magíster en Ciencias mención Microbiología, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile

Una de las enfermedades más frecuente y costosa, presente en todas las explotaciones lecheras es la mastitis. La inflamación de la glándula mamaria es causada, generalmente, por agentes infecciosos microbianos. *Staphylococcus aureus* sigue siendo uno de los patógenos mamarios más frecuentemente aislados y generalmente se realiza el diagnóstico mediante cultivo bacteriológico. El proceso de cultivar e identificar un patógeno mamario toma mucho tiempo y requiere de personal calificado. Por lo tanto, se necesitan con urgencia tecnologías de diagnóstico rápido y de fácil interpretación para las mastitis bovinas causadas por *S. aureus*. 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. El objetivo del presente trabajo es explorar la posibilidad de producir nanobodies con afinidad contra la proteína L7/L12 de *S. aureus* para ser utilizado como herramienta diagnóstica de mastitis clínicas producidas por *S. aureus*. Para este trabajo se generó una librería a partir de la inmunización de una alpaca "Pamelo" con la proteína ribosomal L7/L12 de *S. aureus*, utilizando el vector de expresión en bacterias pNeae2. A partir de la técnica "Bacterial display" se obtuvo una librería inmune de  $2.8 \times 10^8$  UFC en bacterias *Escherichia coli* DH10bT. La selección de clones se realizó mediante una nueva técnica basada en gradientes de densidad por Ficoll y posteriormente fueron confirmados por inmunofluorescencia. Los clones candidatos fueron sub-clonados en el vector de expresión en periplasma bacteriano pHen6 a partir de cortes enzimáticos y transformados en *E. coli* WK6, continuando con su purificación a partir de columnas de afinidad. De esta forma, se obtuvieron 3 clones candidatos (118, 140 y 206) con la capacidad de unirse a la proteína ribosomal L7/L12 de *S. aureus*, los que un futuro podrían ser utilizados como una herramienta en el diagnóstico de mastitis bovina producida por *S. aureus*.

Keywords: Nanobodies, Staphylococcus aureus, mastitis bovina, diagnóstico

Financing: FONDEF ID2110176 y Programa Ciencia para la Innovación 2030, Consorcio Sur-Subantártico, Ci2030.

Tipo de presentación: Panel

**Evaluation of pesticide degradation in a biopurification system inoculated with an immobilized fungal consortium of immobilized fungal consortium**

**Evaluación de la degradación de plaguicidas en un sistema de biopurificación inoculado con un consorcio de hongos inmovilizados**

**Catalina Jara**<sup>1</sup>, María Cristina Diez<sup>2,3</sup>, Marcela Levío-Raimán<sup>3</sup>

(1) Universidad de la frontera, Magister en ciencias de la ingeniería mención Biotecnología, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Universidad de la frontera, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Universidad de la frontera, Centro de Excelencia en Investigación Biotecnológica Aplicada al Medio Ambiente, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

Los plaguicidas son compuestos químicos o naturales, utilizados para prevenir y/o controlar plagas o enfermedades que pueden afectar los cultivos agrícolas. A pesar de su importancia, presentan un riesgo para la salud debido a su toxicidad y persistencia en el medio ambiente. Para evitar la contaminación puntual por plaguicidas surge el Sistema de Biopurificación (BPS) que es una alternativa biotecnológica para reducir los efectos de los plaguicidas en el medio ambiente. El BPS se basa en una biomezcla orgánica biológicamente activa que está compuesta por suelo, turba y paja de trigo (1:1:2 v v<sup>-1</sup>). Además, se ha reportado que esta biomezcla proporciona microorganismos capaces de degradar plaguicidas como bacterias y hongos. En este sentido, el presente trabajo propuso utilizar cepas de hongos inmovilizados *Verticillium* sp. H5 y *Metacordyceps* sp. H12, aislados de un BPS para formular un consorcio de hongos e inocular una biomezcla orgánica para mejorar la degradación de plaguicidas. Las cepas de hongos se cultivaron en medio Kirk modificado (MKM) durante 7 días a 27 ± 1 °C en un agitador orbital a 100 rpm en oscuridad. Luego, las cepas de hongos se inmovilizaron en perlas de alginato individualmente y se formuló un consorcio de hongos (H5+H12). Posteriormente, se realizó el ensayo de degradación de los plaguicidas en un BPS de 20x20 cm conteniendo 500 g de la biomezcla inoculada con el consorcio fúngico. Luego, se añadió a la biomezcla una solución de una mezcla de plaguicidas atrazina (ATZ), clorpirifos (CHL) e iprodiona (IPR) a una concentración de 50 mg kg<sup>-1</sup> de cada uno. El BPS se incubó a 25 ± 2°C durante 60 días. La concentración de plaguicidas y metabolitos se cuantificó mediante HPLC. Los resultados de este estudio demostraron que el consorcio fue eficiente, alcanzando una remoción >75% para los tres plaguicidas. Este estudio concluye que el consorcio de hongos inoculados sobre una biomezcla permite mejorar y potenciar los procesos de degradación de los plaguicidas ATZ, CHL e IPR.

Keywords: plaguicidas, sistema de biopurificación, biomezcla

Financing: FONDECYT 1211738 y Centro de Recursos Hídricos para la Agricultura y la Minería (CRHIAM) ANID/FONDAP/15130015.

Beca de arancel Universidad de La Frontera

Acknowledgments: FONDECYT 1211738 y Centro de Recursos Hídricos para la Agricultura y la Minería (CRHIAM) ANID/FONDAP/15130015.

Tipo de presentación: Panel

**Amino acid addition to improve chemically defined medium for production of a double mutant L-asparaginase ii from *Erwinia chrysantemi* expressed by *Escherichia coli* BL21 (DE3).**

**Adición de aminoácidos para la obtención de un medio químicamente definido mejorado para la producción de una l-asparaginasa ii doble mutante de *Erwinia chrysantemi* expresado por *Escherichia coli* BL21 (DE3).**

**Nicolás Lefin**<sup>1</sup>, Javiera Miranda<sup>1</sup>, Gisele Monteiro<sup>2</sup>, Iris Munhoz<sup>2</sup>, Mauricio Zamorano<sup>1</sup>, Adalberto Pessoa Jr.<sup>2</sup>, Jorge Gonzalo Farias<sup>1</sup>  
(1) Universidad de La Frontera, Chemical Engineering Department, Faculty of Engineering and Sciences, Avenida Francisco Salazar, 01145, Temuco, Chile  
(2) Universidade de São Paulo, Biochemical-Pharmaceutical Technology Department, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Av. Prof. Lineu Prestes, 580, São Paulo, Brazil

La L-asparaginasa (L-ASNasa) es una enzima ampliamente utilizada como biofármaco para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda y linfoma, y representa una parte significativa de la demanda terapéutica contra el cáncer en todo el mundo. Los avances en la producción de proteínas recombinantes han aumentado los rendimientos y reducido los costes, permitiendo la producción a gran escala de esta proteína. Por esta razón, la optimización de las condiciones de cultivo es esencial para maximizar la producción de proteínas recombinantes. Estudios recientes han puesto de manifiesto la importancia de los aminoácidos en la optimización de los medios químicamente definidos, pero la selección y concentración de aminoácidos debe ser económicamente viable. El objetivo de este estudio consistió en optimizar la producción de la L-ASNasa doble mutante de *Erwinia chrysanthemi* expresada en *E. coli* BL21 (DE3) suplementando el medio con aminoácidos. Se probaron cinco aminoácidos utilizando un diseño factorial 2<sup>5</sup> (cisteína, arginina, serina, glutamina y aspartato), siendo la arginina y el aspartato los que tuvieron los mayores efectos positivos y la cisteína la que tuvo un efecto inhibitorio sobre el crecimiento y la producción de L-asparaginasa. Sobre esta base, se llevó a cabo un modelo de metodología de superficie de respuesta (RSM, en sus siglas en inglés), obteniéndose las condiciones optimizadas de 14-15 mM de arginina y 12-13 mM de aspartato. El modelo de actividad alcanzó 12.500 U L<sup>-1</sup>, que se validó experimentalmente obteniendo una actividad de aproximadamente 10.000 U L<sup>-1</sup>. El cultivo optimizado mostró una tasa de crecimiento celular específica máxima de  $\mu_{x,max} = 0,74 \text{ h}^{-1}$ , un factor de conversión sustrato-biomasa de  $Y_{x/s} = 1,16 \text{ g/g}$  y un factor de conversión célula-producto de  $Y_{p/x} = 13.891 \text{ U/g célula}$ . La suplementación con aminoácidos en medios químicamente definidos dio lugar a un aumento de **DIEZ veces** la actividad de L-ASNasa en comparación con el medio convencional, lo que indica su potencial para la producción industrial como agente terapéutico.

Keywords: L-asparaginasa doble mutante, medio de cultivo, Diseño de experimentos, optimización, Suplementación con aminoácidos  
Financing: FAPESP UFRO 2020/06982-3

Acknowledgments: Agradecimientos a ANID (Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo) beca de magister nacional, numero 22220584.

Tipo de presentación: Panel

**Optimization of Lutein production in microalga *Muriellopsis* sp. (MCH-35) through a dual system of light-phytohormone.**

**Optimización de la producción de Luteína en la microalga *Muriellopsis* sp. (MCH-35) mediante sistema dual luz- fitohormona**

**Maria Teresa Mata**<sup>1,2</sup>, Henry Cameron<sup>2</sup>, Hernan Vera<sup>2</sup>, Vladimir Avalos<sup>2</sup>, Victoria Cruz<sup>2</sup>, Israel Olivo<sup>2</sup>, Carlos Riquelme<sup>2</sup>

(1) Universidad de Antofagasta, Biotecnología, Ciencias de mar y recursos biológicos, Avd. Universidad de Antofagasta, 02800, Antofagasta, Chile

(2) Universidad de Antofagasta, Centro de Bioinnovación de Antofagasta (CBIA), Ciencias del mar y recursos biológicos, Avd. Universidad de Antofagasta, 02800, Antofagasta, Chile

En los últimos años, las microalgas han emergido como una prometedora fuente alternativa de luteína, un carotenoide de interés en diversas industrias debido a sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Tanto la producción de biomasa microalgal como la de pigmentos pueden ser altamente influenciadas por factores diversos, como la aplicación de diferentes longitudes de onda de luz y, más recientemente, la exploración del uso de fitohormonas. *Muriellopsis* sp. (MCH-35), una microalga chlorofita aislada en la región de Antofagasta, destaca por su elevado contenido de luteína y se presenta como un modelo adecuado para optimizar la producción de este pigmento mediante la combinación de fitohormonas y luz en sistemas de dos etapas. En este estudio, *Muriellopsis* sp. se cultivó con ácido indol-3-butírico (IBA) durante 7 días en medio de cultivo UMA-5 (F/2 modificado) a 21°C, bajo un régimen continuo de luz blanca, azul y roja. Se evaluaron diversas concentraciones de IBA (10, 50, 100, 200, 500, 1000 y 5000 µM), analizando su impacto en el crecimiento, eficiencia fotosintética (Fv/fm), contenido de carotenoides, capacidad antioxidante y luteína. Los resultados demostraron mejoras en el crecimiento con la presencia de IBA, siendo 100 µM la concentración óptima para un inóculo inicial de 1x10<sup>5</sup> cel/ml y 1000 µM para 1x10<sup>6</sup> cel/ml, estableciendo una relación proporcional entre densidad celular y concentración de fitohormona. Los carotenoides y la capacidad antioxidante se vieron influenciados por la banda espectral, como se ha observado previamente, aumentando con IBA. Sin embargo, tanto la inhibición del DPPH como los valores de Fv/Fm indicaron que los efectos de IBA no alteraron la fotosíntesis, sino más bien la duplicación celular. El análisis por HPLC reveló cambios en la composición y concentración de pigmentos en respuesta a la fitohormona y a la banda espectral aplicada, afectando particularmente la concentración de luteína. En resumen, la aplicación de la fitohormona IBA junto con diferentes longitudes de onda de luz mejoró la productividad de biomasa y la producción de luteína en *Muriellopsis* sp., resaltando el potencial de estrategias combinadas para incrementar la producción de pigmentos beneficiosos en microalgas, con aplicaciones diversas en varias industrias.

Keywords: Lutein, Microalgae, Optimization, Dual System, Phytohormone-Light Interaction

Financing: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID), Subdirección de Investigación Aplicada/ID22I10317.

Acknowledgments: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID), Subdirección de Investigación Aplicada/ID22I10317.

**Optimization of the production of two chimeric proteins for the formulation of vaccines against Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC)**

**Optimización del proceso de producción de dos proteínas quiméricas para la formulación de vacunas contra la Escherichia coli productora de Shiga toxina (STEC)**

**Francisca Mery**<sup>1</sup>, Alhejandra Alvarez<sup>2</sup>, Irene Martinez<sup>1</sup>, Roberto Vidal<sup>2</sup>

(1) Universidad de Chile, Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB) Departamento de Ingeniería Civil Química Biotecnología y Materiales (IQBM), Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas (FCFM), Av. Beauchef 851, Santiago, Chile  
(2) Universidad de Chile, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile.

**Antecedentes:** STEC es un patógeno zoonótico transmitido por alimentos que causa gastroenteritis y Síndrome Hemolítico Urémico. Su reservorio animal principal es el bovino que excretan la bacteria en las heces, contaminando el ambiente. La vacunación de bovinos ha sido propuesta como método para controlar STEC (ISBN [FAO] 978-92-5-136984-5). Nuestro laboratorio ha formulado una vacuna que tiene como antígenos dos proteínas quiméricas que son reconocidas por IgG e IgA de bovinos. Asimismo, es fundamental determinar las condiciones óptimas para su posterior síntesis y escalamiento a nivel industrial. El objetivo de la presente investigación es definir las condiciones óptimas para maximizar la producción de las proteínas de interés, en función de los parámetros de cultivo más relevantes. **Métodos:** Se transformaron ambos vectores (PROT 1 y 4) en dos cepas de E.coli, BL21(DE3) y ClearColi BL21(DE3). Se realizaron pruebas de producción de ambos antígenos, donde, primeramente, crecieron a 37 °C hasta una OD 1.2 y 0.6 respectivamente, para ser inducidas con 1 mM de IPTG para la PROT 1 por 4h a 37°C y la PROT 4 por 16h a 16°C. Además, se modificaron las condiciones de producción, como temperatura (16°, 25° y 37°C), concentración de IPTG (0.1, 0.5 y 1 mM), OD de inducción (0.6 y 1.2) y medio de cultivo (LB Miller y Terrific Brot). **Resultados:** La cepa BL21 y ClearColi fueron capaces de sintetizar la PROT 1, pero para la PROT 4 sólo fue sintetizada por ClearColi, la cual logra expresarla en las mismas condiciones de crecimiento. Se destaca además que, en la cepa ClearColi la PROT 1 y 4 se expresan en cuerpos de inclusión. **Conclusión:** Los resultados obtenidos permiten definir un protocolo de crecimiento bacteriano óptimo, con la cepa ClearColi, que facilitó la mayor síntesis de ambas proteínas. Se determinó que, en las condiciones de crecimiento a 37 °C, ambas proteínas son sintetizadas por la cepa ClearColi, sin embargo, un porcentaje importante del producto va a cuerpos de inclusión. Actualmente, se realizan ensayos, a baja temperatura y menor concentración de IPTG, para evitar lo anterior y generar un protocolo que permita escalar la síntesis de ambas proteínas.

Keywords: STEC, E. coli, Producción, Optimización, Proteínas Quiméricas

Financing: Financiado por FONDECYT Regular 1211647, junto con el Proyecto Basal Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB) FB0001.

Acknowledgments: AFILIACIONES: Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB), Departamento de Ingeniería Química, Biotecnología y Materiales (IQBM), Facultad de ciencias físicas y matemáticas (FCFM), Universidad de Chile. Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Tipo de presentación: Panel

### Optimization of culture medium for extracellular production of L-asparaginase in *Escherichia coli* BL21 (DE3)

### Optimización del medio de cultivo para la producción extracelular de L-asparaginasa en *Escherichia coli* BL21 (DE3)

**Javiera Miranda**<sup>1</sup>, Nicolás Lefin<sup>1</sup>, Iris Munhoz<sup>2</sup>, Mauricio Zamorano<sup>1</sup>, Gisele Monteiro<sup>2</sup>, Adalberto Pessoa Jr.<sup>2</sup>, Jorge Farias<sup>1</sup>  
(1) Universidad de La Frontera, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 1145, Temuco, Chile  
(2) Universidad de São Paulo, Departamento de Tecnología Bioquímica-Farmacéutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Avenida Lineu Prestes, 580, Bloco 16, CEP 05508-000, São Paulo, Brasil

La L-asparaginasa (L-ASNasa) es una enzima de la familia de las amidohidrolasas, producida industrialmente en bacterias como *Escherichia coli* y *Erwinia chrysanthemi*. Su acción dual hidroliza la L-glutamina (GLN) y la L-asparagina (ASN) para generar ácido L-aspártico y amoníaco. Se emplea ampliamente como biofármaco, agente antiacrilamida y biosensores. La producción masiva de L-ASNasa utilizando *E. coli* como huésped enfrenta desafíos debido a su compleja estructura cuaternaria, lo que promueve su producción intracelular como cuerpo de inclusión o en el espacio periplasmático el cual otorga mayor estabilidad enzimática. Sin embargo, la capacidad limitada de este espacio conduce a una producción reducida de L-ASNasa. Por ello, es vital hallar estrategias para obtener la enzima extracelularmente. Una opción es usar aditivos en el medio de cultivo, aumentando la permeabilidad de la membrana celular y facilitando la liberación de L-ASNasa al espacio extracelular.

En este contexto, el trabajo se enfocó en optimizar un medio de cultivo para la producción extracelular de la L-ASNasa doble mutante de *E. chrysanthemi* en *E. coli* BL21 (DE3). Se eligieron aditivos que incrementaran la actividad enzimática de la L-ASNasa sin dañar el crecimiento bacteriano, y luego se determinaron las condiciones ideales de cultivo mediante un diseño factorial completo. Los cinco aditivos considerados (glicina, tritón X-100, sacarosa, n-dodecano y calcio) fueron evaluados según su impacto en la actividad enzimática y crecimiento bacteriano. Los resultados estadísticos revelaron la interacción e influencia significativa de la glicina y el calcio en ambas respuestas. Usando esta selección, se optimizaron las condiciones de cultivo y se evaluó su sinergia con el inductor Isopropil-β-D-1-tiogalactopiranosido (IPTG), mediante un modelo de superficie de respuesta, para maximizar la producción de L-ASNasa. Logrando obtener una actividad enzimática extracelular de 160.000 UL<sup>-1</sup> y una concentración de biomasa de 0.4 gL<sup>-1</sup>, lo que significó un aumento de casi 400 veces respecto a la producción intracelular.

En conclusión, este estudio contribuyó en el desarrollo de estrategias para la producción extracelular de L-ASNasa. El uso de aditivos y sinergia con IPTG aumentaron actividad enzimática sin dañar el crecimiento celular, abriendo posibilidades en la producción a gran escala de enzimas complejas en *E. coli*.

Keywords: L-asparaginasa, extracelular, optimización, diseño experimental

Financing: FAPESP-UFRO 2020/06982-3

Tipo de presentación: Comunicación oral

**Production of isopropanol from the methylotrophic bacterium *Methylobacterium extorquens* DSM 1338, a new platform for the use of methanol**

**Producción de isopropanol a partir de la bacteria metilotrófica *Methylobacterium extorquens* DSM 1338, una nueva plataforma para uso del metanol**

**Ignacia Molina<sup>1</sup>**, Luz Yañez<sup>1</sup>, Alberto Vergara-Fernández<sup>1</sup>, Felipe Scott<sup>1</sup>

(1) Universidad de los Andes, Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, San Carlos de Apoquindo 2200, Santiago, Chile

El isopropanol es un compuesto orgánico ampliamente utilizado a nivel industrial como disolvente, solvente de resinas y pinturas, precursor de materiales de alto rendimiento, desinfectante, además, puede mezclarse con la gasolina en diferentes proporciones y posee el potencial de ser usado como sustituto del combustible. Actualmente, es obtenido mediante procesos químicos como la hidratación del propileno o la hidrogenación de acetona. Estos al utilizar productos a base de petróleo, los convierten en procesos contaminantes generando emisiones de gases de efecto invernadero, contribuyendo al aumento de la contaminación, por lo que es de gran importancia la búsqueda de tecnologías alternativas y limpias que permitan reducir la dependencia del uso del petróleo y sus derivados.

En este contexto, el isopropanol puede ser obtenido mediante bacterias. Por lo que esta investigación, tiene como propósito implementar una ruta biosintética para la producción de isopropanol en la especie *Methylobacterium extorquens*, la cual tiene la capacidad de utilizar metanol como fuente de carbono y energía, que puede ser obtenido mediante procesos de origen renovable. Para ello, se construyeron vectores de expresión que contienen los genes acetoacetato decarboxilasa (*adc*) y alcohol deshidrogenasa (*adh*), provenientes de la especie *Clostridium*, que asimilan un metabolito intermediario de la ruta del PHB, el acetoacetato, el cual es transformado en acetona y posteriormente, en isopropanol. Estos vectores se construyeron mediante técnicas de biología molecular, para posteriormente ser incorporados en la bacteria mediante electroporación.

Se han realizado cultivos en matraces de las cepas modificadas en medio mineral con metanol, bajo limitación de nitrógeno con el fin de determinar velocidades de crecimiento, consumo de metanol, producción de isopropanol y subproductos. La biomasa se determinó mediante espectrofotometría, sustrato y productos mediante cromatografía líquida (HPLC).

Los resultados preliminares demuestran el potencial de producción de isopropanol en *M. extorquens*, conservando su viabilidad celular. Adicionalmente, se llevarán a cabo diversas modificaciones genéticas para lograr la optimización de la ruta metabólica para evaluar y mejorar su rendimiento y productividad en la obtención de isopropanol.

Keywords: Methylotrophy, isopropanol production, *Methylobacterium extorquens*, genetic modification

Financing: Fondecyt 1211434Anillo ATE220045

Tipo de presentación: Panel

**Isolation of native bacteria from Cauquenes tailing with potential plant-growth promoting (PGP) characteristics.**

**Aislamiento de bacterias nativas del relave Cauquenes con características potencialmente promotoras del crecimiento de plantas (PGP).**

**Jaime Ortega**<sup>1,2</sup>, Gabriel Gálvez<sup>1,2</sup>, Gladis Serrano Serrano<sup>1,2</sup>, Claudia Stange<sup>3</sup>, Mauricio Latorre<sup>1,2,4</sup>

(1) Laboratorio de Bioingeniería, Instituto de ciencias de la ingeniería, Universidad de O'Higgins, Rancagua, Chile

(2) Centro de biología de sistemas para el estudio de comunidades extremófilas de relaves mineros (SYSTEMIX), Universidad de O'Higgins, Rancagua, Chile

(3) Centro Biología Molecular Vegetal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile

(4) Laboratorio de bioinformática y expresión génica, INTA, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Los relaves, como resultado de las actividades mineras, constituyen un entorno extremo caracterizado por altas concentraciones de metales y un pH ácido. En particular, el relave Cauquenes, cuyo origen corresponde a los desechos de la mina El Teniente, se destaca como uno de los más grandes del país. En este contexto, nuestro grupo llevó a cabo un análisis previo de la abundancia y biodiversidad bacteriana dentro del relave Cauquenes, descubriendo especies reportadas por su capacidad para promover el crecimiento de las plantas (PGP).

En este estudio, se propuso aislar bacterias resistentes a Cu con características potencialmente PGP. Para ello, primero se generó una colección de aislados nativos del relave Cauquenes, evaluando su resistencia a 10 mM de  $\text{CuSO}_4$ . Posteriormente, se realizaron diversas pruebas para determinar sus características potencialmente PGP. En concreto, se evaluó la capacidad de producción de ácido indolacético (IAA), mediante un método colorimétrico basado en el uso del reactivo de Salkowski; la actividad ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) deaminasa, analizando el crecimiento de cada aislado en un medio de cultivo mínimo suplementado con ACC; y solubilización de fosfatos, determinando la aparición y tamaño de un halo de solubilización en el medio de cultivo Pikovskaya. Nuestros resultados mostraron que, del total de 25 aislados resistentes a 10 mM de Cu, 6 presentaron capacidad de producción de ACC deaminasa y solubilización de fosfato, y de éstos, 3 además lograron sintetizar IAA. Estos aislados corresponden a bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Paenarthrobacter*, y *Pseudoarthrobacter*, previamente reportados como bacterias PGP.

En conjunto, nuestras observaciones indican que en el relave Cauquenes existe presencia de bacterias cultivables con características potencialmente promotoras del crecimiento vegetal, las cuales, gracias a su resistencia a Cu, podrían resultar útiles para mejorar el desarrollo de plantas en suelos contaminados con este metal, situación en la que se encuentran numerosos terrenos agrícolas del país y el mundo. Este hallazgo representa un avance hacia una agricultura sustentable y ofrece la posibilidad de dar un uso económico a un pasivo ambiental como el relave minero, mediante su aplicación en la agroindustria.

Keywords: Relave, PGP, Bacteria, Cobre, Biotecnología

Financing: Centro de Modelamiento Matemático (CMM) BASAL ANID FB210005, ANID - Millennium Science Initiative Program - ICN2021\_044, Fondo Interdisciplinario Interno UOH, ANID FONDECYT 1230194, SYSTEMIX ANID ANILLO ACT210004. Beca ANID 21211367 y 21220593.



Tipo de presentación: Panel

### **Up-converting fluorescent nanoparticles biosynthesis by a *Shewanella* strain isolated from Antarctica**

#### **Biosíntesis de nanopartículas fluorescentes de metales raros del tipo "up-conversion" por *Shewanella* aislada de la Antártica**

Nía Oetiker<sup>1,2</sup>, Juan José Leon<sup>1,2</sup>, Paras Prasad<sup>2</sup>, Mark Swihart<sup>2</sup>, **Jota Pérez-Donoso**<sup>1</sup>

(1) Universidad Andres Bello, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa, Santiago, Chile

(2) Buffalo State University at New York, Buffalo, USA

Lanthanide (Ln) doped up-conversion nanoparticles (UCNPs) are a class of luminescent nanomaterials that emit light of higher energy than their excitation source. Their interesting fluorescent and magnetic properties come from the versatile energy level structure of their Ln<sup>3+</sup> doped ions. NaYF<sub>4</sub> NPs doped with Er<sup>3+</sup> and Yb<sup>3+</sup> emit high upconverting fluorescence, and have narrow luminescence peaks, huge anti-Stokes shift, long fluorescence lifetime, thermal stability against photosensitive blinking, and higher biocompatibility. For all these reasons have gotten considerable attention in biological applications.

Currently, the synthesis of UCPN is exclusively done through chemical synthesis. In this context, the transformation of metals and their salts into NPs through microorganisms has gained great interest during the last decade due to its lower impact on the environment and the unique properties conferred to these nanoelements. However, the development of methods using microorganisms to synthesize UCNPs has not been explored to date.

Metal-reducing bacteria from *Shewanella* genus are able to oxidate electron donors reducing a wide range of metal species, resulting in the biomineralization of a multitude of metal NPs. In this report, we developed a biological protocol to synthesize UCNPs by incubating Antarctic *Shewanella baltica* with NaF, Y(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, Yb(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, and Er(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> in slightly acidic conditions at 28 °C for 1 h. We observed electron-dense nanoelements composed of Na, Y, F, Yb, and Er preferentially in periplasmic space, adhered to the extracellular membrane, and dispersed in extracellular space. Electron-dense nanoparticles from the supernatant are amorphous nanoelements with sizes ranging between 30-70 nm. The upconverting properties of these NPs were improved by heating the reaction mixture produced after biosynthesis at 200 °C by 1 h, enhancing the Er<sup>+3</sup> emission possibly because of the organic matter carbonization. TEM images obtained from 1 h cells heated, showed the crystalline phase of NPs composed of Na, Y, F, Yb, and Er with sizes ranging from 3 to 14 nm.

This is the first approach to Er<sup>3+</sup> emitting NPs synthesis using bacteria, constituting the first report of a greener protocol for UCNPs biosynthesis.

Keywords: Metales raros, nanopartículas, Antártica, *Shewanella*, Bionanotecnología

Financing: This work was founded by DARPA-SN-22-02 and Fondecyt 1200870

Tipo de presentación: Panel

**Overexpression of Dihydroxyacetone Synthase 1 in Mut+ *Komagataella phaffii* (*Pichia pastoris*) Improves the Tolerance to Methanol and the Productivity of Recombinant Proteins**

**Sobreexpresión de la enzima dihidroxiacetona sintasa 1 en *Komagataella phaffii* (*Pichia pastoris*) Mut+, mejora la tolerancia al metanol y la productividad de proteínas recombinantes**

**Johan Quezada Olguín<sup>1</sup>**, Karlo Guerrero<sup>1</sup>, Claudia Altamirano<sup>1</sup>, Patrick Fickers<sup>2</sup>, Julio Berríos<sup>1</sup>

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

(2) University of Liege, Microbial Processes and Interactions, TERRA Teaching and Research Centre, Gembloux Agro Bio Tech, Gembloux, Belgium

*Komagataella phaffii* is a methanol-inducible expression system used for the production of recombinant proteins (rProt). However, the utilization of methanol as a carbon source leads to a reduction in growth rate ( $\mu$ ) and the intracellular accumulation of formaldehyde, a toxic intermediate. To address these challenges and potentially enhance rProt productivity, the assimilative metabolism of methanol was modified through the overexpression of dihydroxyacetone synthetase 1 (DAS1).

A strain of *K. phaffii* has been modified to overexpresses DAS1 and co-express a *Candida antarctica* lipase B (CalB) as a model protein (+DAS strain), the control was a strain that produces CalB but without the DAS overexpression. The gene expression level of this gene was verified by qPCR. To determine methanol tolerance of the +DAS strain, a kinetic characterization was made using variable concentrations of methanol as carbon and energy source (5 to 18 g·L<sup>-1</sup>) using flask-batch culture. To determine CalB production capacity, batch culture in laboratory bioreactor was made under controlled conditions.

The results showed an overexpression of the *das1* transcript, but same expression level of CalB respect to the control. +DAS strain has greater tolerance to methanol, the specific growth rate ( $\mu_{max}$ ) and the specific rate of methanol consumption ( $q_S$ ) were higher than the control, while the yield of methanol in biomass ( $Y_{s/x}$ ) was lower in flask culture. In bioreactor,  $\mu_{max}$  and  $Y_{s/x}$  calculated for the +DAS strain is lower than control strain, but  $q_S$  is higher. Respect of CalB production, +DAS showed an improve of 3-fold-change compared to the control strain.

Keywords: *Komagataella Phaffii*, Recombinant Protein Production, Metabolic modification, Process Optimization, Metabolic Characterization

Financing: - Proyecto FONDECYT N°1191196.- Beca de Doctorado Nacional N° 21191422.- Fondecyt Postdoctorado N° 3220826- Proyecto ANILLO Regular de Ciencia y Tecnología N° ACT210068- Wallonie-Bruxelles International through the Cooperation bilateral Belgique-Chili project SUB/ 2019/435787

Tipo de presentación: Panel

**Antioxidant and enzymatic activity of pigmented bacteria isolated from Laguna de los Cisnes, Region de Magallanes.**

**Actividad antioxidante y enzimática de bacterianas pigmentadas aisladas de la Laguna de los Cisnes, Región de Magallanes.**

**Javiera Rojas**<sup>1</sup>, Catherine Lizama<sup>2</sup>, Alexandra Galetovic<sup>3</sup>, Gabriel Peña<sup>3</sup>, Mario Simirgiotis<sup>1</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Farmacia, Ciencias, Independencia 631, Valdivia, Chile

(2) Universidad de Antofagasta, Tecnología Médica, Ciencias de la Salud, Angamos 601, Antofagasta, Chile

(3) Universidad de Antofagasta, Biomédico, Ciencias de la Salud, Angamos 601, Antofagasta, Chile

En la última década la atención hacia los ambientes extremos se ha incrementado debido a la presencia de microorganismos extremófilos los cuales son capaces de producir bioproductos como metabolitos secundarios y pigmentos con potenciales aplicaciones farmacológicas e industriales. En este contexto, las bacterias pigmentadas poliextremas aisladas de la Laguna de Los Cisnes representan una fuente poco explorada de biocompuestos que pueden convertirse en potenciales productores de pigmentos y principios activos. Se estudiaron los componentes químicos, pigmentos carotenoides, propiedades antioxidantes e inhibición enzimática de extractos metanólicos de seis cepas identificadas en el género *Dietzia*.

La clasificación filogenética se realizó por secuenciación metagenómica utilizando tecnología por nanoporo. Los extractos se realizaron usando metanol, se complementó con ultrasonido y se concentró con nitrógeno gaseoso. La actividad antioxidante (DPPH, FRAP), Polifenoles totales y el potencial inhibidor enzimático contra las enzimas colinesterasas (AChE, BChE) y digestivas ( $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática), se evaluó por primera vez en estas cepas mediante métodos colorimétricos, mientras que la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) se realizó a través de la medición de la pérdida de fluorescencia. En cuanto a la identificación preliminar de biocompuestos en extractos de biomasa bacteriana, se realizó un perfil de metabolitos secundarios mediante UHPLC-QTOF MS.

Dentro de los resultados obtenidos, destaca el ensayo DPPH donde se observa la capacidad de los extractos para captar radicales libres, siendo M7 la cepa con mayor actividad con un IC<sub>50</sub> de  $151,17 \pm 0,15$ . Por otro lado, esta cepa también destacó en el ensayo de inhibición enzimática para enzimas colinesterasas, reportando una IC<sub>50</sub> de  $13,88 \pm 0,03$  mg/mL para AChE y  $57,39 \pm 0,05$  mg/mL para BuChE. La identificación preliminar de biocompuestos en los extractos metanólicos resultó en la identificación de cantaxantina, un keto carotenoide de amplio interés en la industria alimentaria. Los resultados sugieren que las nuevas cepas de *Dietzia* son una rica fuente de carotenoides y compuestos bioactivos con potencial antioxidante e inhibidor para enzimas colinesterasas.

Keywords: Antioxidantes, *Dietzia*, cantaxantina, Actividad enzimática, UHPLC-QTOF MS

Financing: FONDECYT 1220075. Network for Extreme environments Research project 808 (NEXER Project (ANT1756), Universidad de Antofagasta, Chile. Centre for Biotechnology and Bioengineering, CeBiB and Millennium Institute Center for Genome Regulation, MI-CRG.

Tipo de presentación: Panel

**Role of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* on cognitive functions in Sprague-Dawley rats, possible function as a probiotic**

**Rol de *Lactobacillus plantarum* microencapsulado sobre las funciones cognitivas en ratas Sprague-Dawley, posible función como probiótico**

**Daniel Rojas<sup>1</sup>**, Nicole Urriola<sup>2</sup>, Floria Pancetti<sup>2</sup>, Vilbett Briones<sup>1</sup>

(1) Universidad de La Serena, Departamento de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ingeniería, Raul Bitran 1305, La Serena, Chile

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

El aumento en la esperanza de vida debido a los avances tecnológicos y médicos, han producido un aumento en la cantidad de adultos mayores. Dentro de los cambios ocurridos durante el envejecimiento, la pérdida de funciones cognitivas, como la memoria y el aprendizaje es uno de los signos más frecuentes produciendo un deterioro en la calidad de vida en esta población. Una posible solución a este problema es el uso de probióticos, debido a los beneficios que estos confieren a la salud. Las cepas probióticas pueden ser encapsuladas e incorporadas como ingredientes en una matriz alimentaria generando un alimento funcional, que puedan ser utilizados para la mejora cognitiva debido a las propiedades beneficiosas sobre la salud mental.

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto sobre la ansiedad, la memoria y el aprendizaje, que presenta una cepa de *Lactiplantibacillus plantarum* microencapsulada en una matriz polimérica en ratas Sprague-Dawley. Para la fabricación de los microencapsulados se utilizó la metodología de superficie de respuesta, para optimizar el proceso de encapsulación utilizando como variables independientes la concentración de Cloruro de Calcio, Quitosano y de Inulina. Los grupos experimentales fueron tres, el primer control alimentado con alimento comercial, dos grupos con alimento comercial reconstituido, de estos uno recibió las microcápsulas sin bacteria y el tercer grupo recibió las bacterias microencapsuladas. Las ratas fueron alimentadas con esta dieta durante dos meses. Para evaluar los cambios en la función cognitiva se realizó el test de *Water Morris* y de *Open Field*. Los resultados obtenidos en el test de *Water Morris* mostraron cambios significativos sobre el aprendizaje durante el segundo y tercer día del ensayo, disminuyendo la latencia en un 30% y 50% respectivamente, mientras que el ensayo de memoria mejoró un 30% su desempeño. En el test de *Open Field* los efectos ansiolíticos también aumentaron significativamente un 30% .

Como conclusión se puede señalar que la cepa de *Lactiplantibacillus plantarum* utilizada en este experimento mejora las funciones cognitivas en animales adultos, lo que permite avanzar en la comprensión y en el posible uso de estas bacterias como potenciadores cognitivos en tratamientos preventivos sobre enfermedades neurodegenerativas

Keywords: Encapsulación, probióticos, Metodología de superficie de respuesta

Financing: Proyecto Fondecyt N°: 1220845

Acknowledgments: Agradecimientos especiales a la Doctora Antonia Covarrubias por su aporte en el conocimiento

Tipo de presentación: Panel

**MICP mediated by indigenous bacteria isolated from tailings for biocementation.**

**MICP mediada por bacterias autóctonas aisladas desde relaves para su biocementación**

Alejandro Maureira<sup>1</sup>, **Alexandra Ivonne Salamanca Montero**<sup>1</sup>, Manuel Zapata<sup>1</sup>, Liey-si Wong<sup>2</sup>, Luis Cisternas<sup>3</sup>, David Jeison<sup>4</sup>, Mariella Rivas<sup>1</sup>

(1) Universidad de Antofagasta, Laboratorio de Biotecnología Ambiental Aplicada BIOAL, Dpto. de Biotecnología, Facultad de Cs. del Mar y Recursos Biológicos, Av. Angamos 601, Antofagasta, Chile

(2) Universidad Católica del Norte, Dpto. de Geología, Av. Angamos 610, Antofagasta, Chile

(3) Universidad de Antofagasta, Departamento de Ingeniería Química y Procesos de Minerales, Facultad de Ingeniería, Av. Angamos 601, Antofagasta, Chile

(4) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Av. Brasil 2085, Valparaíso, Chile

En este estudio se aislaron bacterias ureolíticas nativas desde tierras de relave de cobre para realizar ensayos de precipitación de carbonato inducida por microorganismos (MICP) y evaluar su potencial en la formación de biocemento. Utilizando medios de enriquecimiento en agua de mar y agua dulce fue posible aislar un total de 46 bacterias, de estas solo tres presentaron actividad ureolítica, *Priestia megaterium* cepa T130-1, *Paenibacillus* sp. cepa T130-13 y *Staphylococcus* sp. cepa T130-14. Todas las cepas presentaron mayor actividad ureasa a las 48 hrs en un rango de pH entre 9,9 a 10,5. Se realizaron testigos de biocemento mezclando relave y cultivos con las bacterias aisladas en presencia de urea. Mediante FE-SEM-EDS y DRX, se evidenció el desarrollo de biopelículas con abundancia de Ca, C y O entre aglomeraciones de partículas microscópicas del suelo. Se realizaron pruebas en túnel de viento a 26 km/h para someter los testigos a erosión eólica, donde la pérdida de masa de los tratamientos MICP fue 5 veces menor al control. Finalmente, en ensayos de compresión, el biocemento preparado con *P. megaterium* cepa T130-1 y *Paenibacillus* sp. cepa T130-13 registraron valores similares a los obtenidos en *Sporosarcina pasteurii*. De acuerdo con los resultados obtenidos, el biocemento generado con las cepas nativas demostró mejoras en las propiedades mecánicas del suelo similar a la bacteria modelo *S. pasteurii*, sustentando ser potenciales candidatas en aplicaciones para la estabilización de pasivos mineros.

Keywords: relaves, biocementación, MICP

Financing: Proyecto Anillo ACT21007; Proyecto FONDECYT 1190664; Proyecto FONDECYT 1230885

Tipo de presentación: Panel

**Outer Membrane Vesicles (OMVs) in *Salmonella enterica* Serovar Typhi: A Novel Rat Model for Sepsis Syndrome**

**Andrés Silva**<sup>1</sup>, Felipe M. Llancahuén<sup>2,3</sup>, Cristóbal Aravena<sup>2</sup>, Ignacio Fuentes Cáceres<sup>1</sup>, Juan A. Fuentes<sup>1</sup>

(1) Universidad Nacional Andrés Bello, Laboratorio de Genética y Patogénesis Bacteriana, Facultad de Ciencias de la Vida, República 330, Santiago, Chile

(2) Universidad Nacional Andrés Bello, Laboratorio de Fisiopatología Integrativa, Facultad de Ciencias de la Vida, República 330, Santiago, Chile

(3) Instituto de Inmunología e Inmunoterapia, Santiago, Chile

Sepsis represents a grave and potentially lethal condition characterized by an aberrant host response to infection, resulting in organ dysfunction. Clinical manifestations of sepsis and endotoxemia encompass thrombocytopenia, hypotension, and the development of multiple organ dysfunction syndrome (MODS). These symptoms stem from the acute reaction to the presence of pathogen-associated molecular patterns (PAMPs), specifically bacterial components, circulating in the bloodstream. These components are recognized by toll-like receptors (TLRs), initiating an inflammatory and dysregulated response to the infection. While lipopolysaccharide (LPS) has been widely employed in most studies as a sepsis-inducing agent, its recognition by toll-like receptor 4 (TLR4) triggers an inflammatory response. However, it is worth noting that at the onset of sepsis in patients, there exists a broader array of PAMPs capable of activating inflammatory pathways in parallel and converging with TLR4. On the other hand, outer membrane vesicles (OMVs) are nano-sized proteoliposomes (20-500 nm) that are released from the cell envelope of Gram-negative bacteria via a process that does not involve cell lysis or death. Comprehensive analyses have revealed that native OMVs primarily comprise components derived from the outer membrane and periplasm, including LPS, lipoproteins, and flagellin. These constituents are known triggers of the innate immune response. Consequently, our hypothesis posited that OMVs produced by *S. Typhi*  $\Delta zzz$ , a hypervesiculating mutant, might induce sepsis more faithfully to real-life scenarios, as these vesicles encapsulate the same surface components as a complete bacterium's membrane. To evaluate this hypothesis, we administered OMVs to rats via infusion. Four hours post-infusion, we observed that the rats exhibited responses closely resembling those seen during an infection, including fever and alterations in respiratory and heart rates. Furthermore, our analyses of the animals' blood revealed disturbances in coagulation parameters, as well as dysfunction in the pulmonary, hepatic, and renal systems. These results were obtained with a much lower dose of OMVs than that used with LPS. In conclusion, our study demonstrates that OMVs produced by *S. Typhi*  $\Delta zzz$  induce a sepsis syndrome in rats. This research not only sheds new light on the study of OMVs but also holds promise for future biotechnological applications.

Keywords: OMVs, Sepsis

Financing: FONDECYT REGULAR 1220584

Tipo de presentación: Panel

**Cuerpos de inclusión de péptidos antimicrobianos para el control de *Piscirickettsia salmonis* en salmón del Atlántico (*Salmo salar*)**

**Débora Torrealba<sup>1</sup>**, Daniela López<sup>1</sup>, José Gallardo<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ciencias del Mar, Universidad 330, Valparaíso, Valparaíso, Chile

Los cuerpos de inclusión (CI) son agregados de proteínas solubles e insolubles producidos en sistemas heterólogos bacterianos. En los últimos años se ha descrito que estas proteínas nanoestructuradas mantienen su funcionalidad, son altamente estables, liofilizables y económicas de producir. Este nuevo nanomaterial se presenta como una potencial alternativa para ser utilizado como tratamiento contra patógenos en animales. En peces, se ha demostrado que pueden activar la respuesta inmune, ser endocitados por macrófagos y aumentan la sobrevivencia del pez cebra frente a desafíos letales con bacterias. Esta aplicación es especialmente atractiva en Chile por poseer una importante industria acuícola, no exenta de enfermedades infecciosas. El principal patógeno es la bacteria *Piscirickettsia salmonis*, que causa 700 millones de dólares en pérdidas anualmente en nuestro país. En este contexto, nosotros proponemos el uso de CI de péptidos antimicrobianos del salmón del Atlántico como inmunoestimulante para el tratamiento de *P. salmonis*. Para ello, se produjeron dos proteínas recombinantes como CI de péptidos antimicrobianos de salmón del Atlántico. La morfología y tamaño de estas proteínas fueron caracterizadas por FESEM. La capacidad de estimulación de la respuesta inmune de las proteínas fue evaluada *in vitro* en la línea celular RTS-11 a través de RT-PCR. Posteriormente, la capacidad de los CI de conferir protección frente a *P. salmonis* fue evaluado *in vivo*. Los CI fueron administrados por inyección intraperitoneal en salmón del Atlántico 10 días antes del desafío evaluándose la mortalidad durante 30 días. Se produjeron exitosamente dos péptidos antimicrobianos en forma de CI con una eficiencia de producción de 25g/L para la proteína 1 y 36g/L para la proteína 2, con un tamaño de 345nm y 280nm, respectivamente. El ensayo *in vitro* muestra que los CI son capaces de activar una respuesta inmune en las células a través de la sobreexpresión de il-1beta, il-10, tnfalpha. El ensayo *in vivo* muestra que los CI aumentan la sobrevivencia de salmón del Atlántico frente al desafío con *P. salmonis*. Los péptidos antimicrobianos como CI se presentan como una novel alternativa para el tratamiento de *P. salmonis* en salmónidos, mayores estudios son necesarios para comprender el mecanismo de protección de estas proteínas.

Keywords: SRS, Acuicultura, Proteínas insolubles, inmunoestimulantes

Financing: ANID FONDECYT Postdoctorado N° 3210502.

Tipo de presentación: Panel

**Changes in the protein profile of *Achromobacter spanius* exposed to the organophosphate pesticide chlorpyrifos.**

**Cambios en el perfil proteico de *Achromobacter spanius* expuesto al plaguicida organofosforado clorpirifos**

**Francisco Torres**<sup>1,2</sup>, Claudio Lamilla<sup>2</sup>, María Cristina Diez<sup>2,3</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Magister en Biotecnología Bioquímica, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile

(2) Universidad de la Frontera, Centro de Excelencia en Investigación Biotecnológica Aplicada al Medio Ambiente (CIBAMA), Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Universidad de la Frontera, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Temuco, Chile

El clorpirifos (CHL) es un plaguicida organofosforado que actúa inhibiendo la acetilcolinesterasa, provocando el colapso del sistema nervioso central. Este plaguicida posee poca solubilidad en agua, generando una alta persistencia en el medioambiente, además ha demostrado poseer alta toxicidad, lo que ha causado su restricción y/o prohibición en muchos países. Para evitar la contaminación puntal generada por CHL, se han desarrollado tecnologías de tratamientos para aguas contaminadas, denominados sistemas de biopurificación, los cuales retienen estos compuestos para su posterior biodegradación mediante la acción de microorganismos tales como bacterias y hongos que se desarrollan en la matriz orgánica del sistema. Bacterias con actividad degradadora de CHL han sido aisladas e identificadas en el laboratorio CIBAMA de la Universidad de la Frontera, destacando entre ellas una cepa de *Achromobacter spanius* (C1). El objetivo de este trabajo fue la determinación de cambios en el perfil proteico de C1 expuesto a clorpirifós.

Para esto se cultivó la cepa C1 en caldo Luria-Bertani, en presencia y ausencia del plaguicida CHL (20ppm), a 28 °C y 150 rpm durante 96 horas. Se obtuvo el sobrenadante libre de células y se realizó una precipitación con Sulfato de amonio al 50% de saturación. Luego, el precipitado se resuspendió en buffer Tris-HCl (50mM pH 7,4). Para eliminar las sales presentes en la muestra se realizó una diálisis con tubos de membrana de celulosa, dializando contra buffer Tris-HCl en agitación constante durante 24 horas. Finalmente, los extractos de proteína fueron liofilizados y resuspendidos en agua destilada, obteniendo concentraciones cercanas a 1mg/L. Para obtener los perfiles proteicos se utilizó la espectrometría de masas MALDI-TOF. Los análisis se realizaron en el modo lineal con polaridad positiva, voltaje de aceleración de 20 kV y extracción con retardo de 220 ns, obteniendo espectros en el rango de m/z de 8.000 a 60.000Da.

Los espectros resultantes indican variaciones en los perfiles proteicos de C1 en presencia y ausencia de CHL, apareciendo peaks diferenciados entre 10.000 y 14.000 m/z. Esto permite concluir que C1, al ser expuesta al plaguicida, expresaría pequeñas proteínas que podrían ser asociados tanto a la resistencia como a la degradación de CHL.

Keywords: Pesticidas, proteínas, enzimas, bacterias, clorpirifos

Financing: FONDECYT 1211738 Centro de Recursos Hídricos para la Agricultura y la Minería CRHIAM ANID/FONDAP/15130015

Acknowledgments: FONDECYT 1211738 Centro de Recursos Hídricos para la Agricultura y la Minería CRHIAM ANID/FONDAP/15130015



Tipo de presentación: Panel

**Effect of the presence of plants on the use of different carbon sources in microbial communities from the Cauquenes Tailing.**

**Efecto de la presencia de plantas sobre el uso de diferentes fuentes de carbono en comunidades microbianas provenientes del Relave de Cobre Cauquenes.**

**Tamara Valenzuela Navarrete**<sup>1,2</sup>, Gladis Serrano Serrano<sup>1,2</sup>, Jaime Ortega<sup>1,2</sup>, Gabriel Galvez<sup>1,2</sup>, Mauricio Latorre<sup>1,2,3</sup>

(1) Laboratorio de Bioingeniería, Instituto de ciencias de la ingeniería, Universidad de O'Higgins, Rancagua, Chile.

(2) Centro de biología de sistemas para el estudio de comunidades extremófilas de relaves mineros (SYSTEMIX), Universidad de O'Higgins, Rancagua, Chile.

(3) Laboratorio de bioinformática y expresión génica, INTA, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Los relaves mineros de cobre son depósitos de mina, cuyas características del suelo son principalmente un pH ácido, alto contenido de metales pesados, condicionando un bajo contenido de nutrientes y materia orgánica. Bajo este contexto los microorganismos que habitan este suelo desempeñan un rol importante en el mantenimiento de la calidad del suelo, viéndose afectados por alteraciones o condiciones generadas no solo por los metales pesados, sino también por la acción de otros organismos, como plantas. Este trabajo presenta por objetivo analizar la diversidad metabólica de comunidades microbianas del relave Cauquenes utilizando como sustrato diferentes fuentes de carbono con y sin la presencia de plantas. El análisis se realizó mediante un método bioquímico basado en el uso de Ecoplacas comerciales ("Biolog™ EcoPlate", catálogo #1506), el cual proporciona información sobre la diversidad metabólica de las comunidades analizando el perfil fisiológico a nivel comunitario (CLPP). Las Ecoplacas utilizadas contienen diferentes fuentes de carbono (31 en total + 1 blanco), las cuales contienen principalmente diferentes carbohidratos, aminoácidos, polímeros de azúcares, ácidos carboxílicos y aminas. Las muestras de suelo pertenecieron al relave Cauquenes de 4 zonas diferentes, 2 de ellas muestreadas desde suelo cercano a la raíz de plantas de Pino y Sauce (Cerca), y otras 2 muestras desde zonas del relave denominadas Torre y Muro (Lejos, sin presencia de plantas). Se esperó obtener cambios en la coloración de las muestras depositadas en los pocillos de las Ecoplacas (desde transparente a morado) como indicador del uso de la fuente de carbono. Según los resultados obtenidos, se determinó que los sectores Torre y Muro presentan una mayor capacidad de metabolización de polímeros de azúcar, a diferencia de los sectores Pino y Sauce, los cuales se observó una metabolización de moléculas simples como carbohidratos, ácidos carboxílicos, aminoácidos, además de los polímeros. Estos datos sugieren que la presencia de plantas dentro de un ambiente de relave estaría condicionando la capacidad metabólica de la comunidad microbiana hacia un aumento en la diversidad del uso de fuentes de carbono, siendo el sector donde crecen árboles de Pino el que presenta mayor diversidad metabólica en relación con los otros sectores.

Keywords: Metabolismo, Bacterias, Relave, Plantas

Financing: Minera Valle Central, Centro de Modelamiento Matemático (CMM) BASAL ANID FB210005, ANID – Millennium Science Initiative Program – ICN2021\_044, Fondo Interdisciplinario Interno UOH, ANID FONDECYT 1230194, SYSTEMIX ANID ANILLO ACT210004.

Tipo de presentación: Panel

**Understanding the mechanism of explosives degradation from *Pseudomonas putida*: Kinetic study of the XenB enzyme**

**Entendiendo el mecanismo de degradación de explosivos de *Pseudomonas putida*: Estudio cinético de la enzima XenB**

**Felipe Valenzuela-Ibaceta**<sup>1</sup>, Matías Vargas-Reyes<sup>1</sup>, Nicolás Bruna<sup>1</sup>, Manuel I. Osorio<sup>2</sup>, José M. Pérez-Donoso<sup>1</sup>

(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

(2) Universidad Andrés Bello, Facultad de Odontología, Santiago, Chile

La enzima xenobiótico reductasa B (XenB) de *Pseudomonas putida* cataliza la transferencia de un ion hidruro de su cofactor FMN a varios sustratos de importancia clínica, industrial y biotecnológica. Una actividad altamente estudiada de esta enzima corresponde a la reducción de grupos nitro o el anillo aromático del compuesto explosivo recalcitrante 2,4,6-trinitrotolueno (TNT), para su biodegradación. Previamente, un análisis *in silico* de nuestro grupo identificó los residuos Y66, L130 y Y336 como determinantes importantes en la localización estructural del sustrato hacia el sitio activo para promover la catálisis. Para profundizar el entendimiento de la actividad de XenB, estudiamos el rol de estos residuos en la actividad nitroreductasa de la enzima.

La secuencia codificante para XenB fue clonada en el vector pMAL-c5X. Mediante la técnica de *reverse PCR*, se realizó la sustitución de los residuos por alanina (Y66A, L130A e Y336A) y fenilalanina (Y336F). Los vectores fueron transformados en cepas de *E. coli* BL21(DE3) para la purificación de las enzimas y se realizaron ensayos *in vitro* de degradación de TNT. Las curvas de Michaelis-Menten extrapoladas a partir de los ensayos cinéticos realizados indican que el cambio aminoacídico de los residuos estudiados por alanina elimina la actividad nitroreductasa de XenB, resaltando su importancia en promover la catálisis. En contraste, la enzima Y336F mantiene parcialmente la actividad, lo que sugiere un rol estructural del anillo aromático de los residuos de tirosina para la ubicación del TNT en el sitio catalítico de la enzima. Se realizaron perfiles de absorbancia, lo que revelaron que las enzimas WT, Y66A e Y336F presentan el pico característico del cofactor FMN, mientras que este no se observa en las enzimas L130A e Y336A. Esto sugiere que los residuos L130 e Y336 tienen un rol crítico en la interacción de la enzima con el cofactor FMN, mientras que el residuo Y66 estaría involucrado en la localización estructural del sustrato TNT.

Nuestros resultados demuestran la importancia de los residuos lejanos al sitio activo en la actividad nitroreductasa de XenB para promover la catálisis ya sea por la correcta localización del sustrato o por su interacción con el grupo FMN.

Keywords: Enzyme activity, *Pseudomonas putida*, TNT, Xenobiotic reductase B

Financing: Este trabajo fue financiado por la beca FONDECYT POSTDOCTORADO 3201013 y el proyecto FONDECYT REGULAR 1200870

Tipo de presentación: Panel

**Semi-artificial photosynthesis in *Clostridium acetobutylicum*: biofactories for biological H<sub>2</sub> production based on fluorescent CdS nanoparticles**

**Fotosíntesis semi-artificial en *Clostridium acetobutylicum*: biofábricas para la producción de H<sub>2</sub> biológico en base a nanopartículas fluorescentes de CdS**

**Matías Vargas-Reyes<sup>1</sup>**, Andrés Suazo<sup>2</sup>, Pamela Cortés-Mayne<sup>2</sup>, Germán Aroca<sup>2</sup>, José M. Pérez-Donoso<sup>1</sup>

(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) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Laboratorio de Cultivos Celulares, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Av. Brasil 2085, Valparaíso, Chile

Recientemente, el avance de la investigación ha promovido el desarrollo de sistemas biohíbridos fotosintéticos para la producción de H<sub>2</sub>, molécula que se espera sea el reemplazo de los combustibles fósiles. Los sistemas biohíbridos fotosintéticos, también denominados nanohíbridos, consisten en microorganismos que tienen la capacidad de biosintetizar nanoestructuras fotoactivas como los *Quantum Dots* (QDs) que contribuyen a la catálisis de algunas de sus enzimas. Durante la irradiación de los nanohíbridos, se promueve la transferencia de electrones desde los QDs hacia las hidrogenasas, enzimas que catalizan la reacción de evolución de H<sub>2</sub> ( $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{H}_2$ ), generando un incremento en la producción de H<sub>2</sub> basal. En este contexto, la bacteria *Clostridium acetobutylicum* constituyó un excelente candidato para ser utilizada como nanohíbrido, ya que produce grandes niveles de H<sub>2</sub> como producto metabólico.

EL objetivo de este trabajo fue evaluar el uso de *C. acetobutylicum* como nanohíbrido para la producción de H<sub>2</sub>. En primer lugar, se evaluó la biosíntesis de QDs de CdS en fase exponencial temprana del crecimiento de *C. acetobutylicum*, con el objetivo de obtener QDs en células metabólicamente activas. La adición de CdCl<sub>2</sub> a concentraciones de 0,5 mM y 1 mM provocó la biosíntesis intracelular de QDs de CdS desde los 30 min. Además, la adición de CdCl<sub>2</sub> a concentraciones de 0,5 mM y 1 mM no resultó letal para *C. acetobutylicum*, ya que se observó un aumento en la OD<sub>600</sub> en el tiempo. Luego, se evaluó el efecto de la radiación UV-A sobre el nanohíbrido *C. acetobutylicum*. Durante la primera hora de irradiación, se determinó un 90 % de incremento en la producción de H<sub>2</sub> con respecto a las células no irradiadas, lo que indica que los QDs irradiados transfieren sus electrones a las hidrogenasas para la producción de H<sub>2</sub>.

Este proyecto constituyó un aporte significativo al desarrollo de una nueva e innovadora estrategia de producción de H<sub>2</sub> utilizando a las bacterias como biofabbricas para la producción de productos de interés energético industrial.

Keywords: H<sub>2</sub> biológico, *Clostridium acetobutylicum*, Hidrogenasas, Nanopartículas fluorescentes

Financing: Este trabajo fue financiado por los proyectos Fondecyt 1200870 y Anillo ANID ATE220045.

Tipo de presentación: Panel

### Production of (R)-3-hydroxybutyric acid by alternative metabolic pathways in PHB producing bacteria

### Producción de ácido hidroxibutírico mediante rutas metabólicas alternativas en bacterias productoras de PHB

Luz Yañez-Meneses<sup>1</sup>, Raúl Muñoz-Torre<sup>2</sup>, Alberto Vergara-Fernandez<sup>1</sup>, Felipe Scott<sup>1</sup>

(1) Universidad de Los Andes, Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Santiago, Chile

(2) Universidad de Valladolid, Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente, Valladolid, Spain

The PHB monomeric unit, (R)-3-hydroxybutyric acid (R3HBA) has found uses at the biomedical, chemical and supplement industries. The literature shows that two main process engineering and metabolic engineering strategies have been identified aimed at the production of chiral R3HBA: (i) production from the accumulated polymer; (ii) by bypassing the accumulation of PHB using metabolically engineered bacteria. The later includes the use of thioesterases that removes CoA from R3HBA-CoA. This work aims at broadening the understanding of the genetic and operational factors leading the R3HBA production in *Methylocystis parvus* OBBP and *Cupriavidus necator* H16. Results showed the feasibility of producing R3HBA through *in-vivo* depolymerization of the intracellularly accumulated PHB in *M. parvus* and can be attained in a mineral medium containing 1.0 g L<sup>-1</sup> KNO<sub>3</sub> at 30 °C with shaking at 200 rpm and a constant pH of 11 for 72 hours. A PHB to R3HBA conversion of 77.2 ± 0.9% (R3HBA titer of 0.153 ± 0.002 g L<sup>-1</sup>) and the reduction of O<sub>2</sub> supply affected negatively the R3HBA yield, reducing it to 73% under microaerobic conditions. Similarly, increasing concentrations of exogenous R3HBA added to the broth at the beginning of the depolymerization process hindered the initial R3HBA release rate and the R3HBA yield, but not the PHB depolymerization yield. Finally, cells exposed to a reduced depolymerization time of 3 hours at pH 11 were able to grow in the presence of nitrogen and CH<sub>4</sub>. However, the long times required at pH 11 for full PHB depolymerization (up to 72 h) limit the applicability of cell recycling. The production of R3HBA by redirecting fluxes in the PHB metabolic pathway was investigated in *C. necator*; two mutant strains were constructed: *C. necator* Δ*phaC* and *C. necator* Δ*phaC*Δ*hbd*, both unable to polymerize PHB and the last one incapable to transform R3HBA into acetoacetate. Both strains released pyruvate and R3HBA, suggesting that a native thioesterase of *C. necator* may play a role in the release of R3HBA. A protein homology on the genome of *C. necator* showed an enzyme encoded as WP\_037025319.1 with a percent identity of 44 % in comparison with Ycia that may trigger R3HBA release.

Keywords: 3-hydroxybutyrate, Thioesterase, Methanotrophs, *Ralstonia eutropha*, PHB depolymerization

Financing: Special acknowledgments for the financial support to this work from the National Agency for Research and Development (ANID Chile), projects ANID/CONICYT ANILLO ATE220045 and Fondecyt Regular 1211434.

Tipo de presentación: Panel

**Oxygen Transfer Rate (OTR) and Momentum determine growth, metabolism, virulence, and pathogenicity of *Piscirickettsia salmonis* in shake flasks**

**La velocidad de transferencia de oxígeno (OTR) y cantidad de movimiento, determinan, en matraces agitados, el crecimiento, metabolismo, virulencia y patogenicidad de *Piscirickettsia salmonis*.**

**Patricio Zelada Cordero<sup>1,2</sup>**, Mauricio Trujillo Roldán<sup>1</sup>, Claudia Altamirano Gómez<sup>2</sup>

(1) Universidad Nacional Autónoma de México, Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Circuito Centro Cultural, Ciudad Universitaria. Coyoacán. C.P.04510, Ciudad de México, México  
(2) Pontífice Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Avenida Brasil, 2085, Valparaíso, Chile

*Piscirickettsia salmonis* es la principal responsable de las muertes infecciosas en la industria del salmón en Chile, alcanzando pérdidas anuales de USD 700 MM. Por esta razón, se han desarrollado diversas estrategias para su control, resaltando el uso de antibióticos y vacunas. Se ha descrito que el uso de antibióticos causa un impacto ambiental negativo debido al aumento de las resistencias bacterianas. Por tanto resulta interesante enfocarse en la formulación y preparación de vacunas contra piscirickettsiosis, ya que las vacunas comerciales no han logrado reducir la tasa de mortalidad asociada a piscirickettsiosis en un ambiente real. En este contexto, y considerando la escasez de investigación evidenciada en la caracterización cinética de *P. salmonis*, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de las condiciones operacionales asociadas a los fenómenos de transferencia de masa y momento sobre el crecimiento, metabolismo, actividad respirométrica, virulencia y patogenicidad de *P. Salmonis*, para ser utilizada como materia prima en el desarrollo de las vacunas contra piscirickettsiosis.

Se caracterizó cinética, estequiométrica y respirométricamente el crecimiento de cultivos de *P. salmonis* en matraces agitados con dos configuraciones: convencional y con deflectores (asociados a diferentes niveles de transferencia de masa y momento), adicionalmente se determinaron los perfiles de acumulación de extra-polisacáridos y la expresión diferencial de genes asociados a virulencia y patogenicidad.

Se evidenció que aunque la configuración del matraz no tiene un efecto sobre la biomasa máxima alcanzada ( $\approx 1$  g/L), en el matraz convencional se obtuvo una mayor velocidad de crecimiento, consumo de aminoácidos, y producción de amonio, mientras que en el matraz con deflectores se alcanzó una mayor producción de extra-polisacáridos. Además se observaron perfiles respirométricos diametralmente opuestos entre ambos matraces. Finalmente se observaron diferencias en la expresión de los genes asociados a virulencia y patogenicidad evaluados, los cuales podrían indicar distintas capacidades inmunogénicas de la biomasa generada. La relevancia de este trabajo está dada en que los parámetros operacionales, asociados a los fenómenos de transferencia, tienen un efecto sobre la biomasa obtenida, en términos de cantidad y calidad, para la producción de vacunas eficientes contra *P. salmonis*.

Keywords: *Piscirickettsia salmonis*, Transferencia de oxígeno

Financing: Fondo Anillos de Investigación en Ciencia y Tecnología (ACT210068) - ANIDFinanciamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia (IMPACT #FB210024) - ANIDPrograma de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, UNAM" (PAPIIT-UNAM IN210822, IN211422, IV201220).Beca CONACYT CVU: 1007069

Acknowledgments: Agradecemos: Fondo Anillos de Investigación en Ciencia y Tecnología (ACT210068), Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia (IMPACT #FB210024), Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, UNAM" (PAPIIT-UNAM IN210822, IN211422, IV201220), Beca CONACYT CVU: 1007069

Tipo de presentación: Panel

### **Occurrence of microplastics in marine sediments of the Northern Patagonia of Chile**

### **Ocurrencia de microplásticos en sedimentos marinos de la Patagonia Norte de Chile**

**Patricia Aguila -Torres**<sup>5</sup>, Javiera Serrano<sup>4</sup>, Richard Miranda<sup>1</sup>, Mauricio González<sup>3</sup>, Carolina Aguirre<sup>2</sup>, Vladimir Murillo<sup>2</sup>  
(1) Universidad Austral de Chile, Escuela de Ingeniería Civil Industrial, Instituto de Gestión e Industria, Puerto Montt, Chile  
(2) Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), Chile  
(3) INTA-Universidad de Chile, Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, Santiago, Chile  
(4) Universidad Andrés Bello, Departamento de Ecología y Biodiversidad, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile  
(5) Universidad Austral de Chile, Laboratorio de Microbiología Molecular, Escuela de Tecnología Médica, Puerto Montt, Chile

En la última década se ha acumulado una gran cantidad de residuos plásticos en los sedimentos bentónicos de todo el mundo y en las costas del mundo, y Chile no es la excepción. El 85% de todos los desechos marinos son de origen plástico y pueden fragmentarse, generando un tremendo impacto en el medio ambiente. Este problema afecta a la fauna marina, la pesca y el bienestar de las personas, así como a la salud pública y la economía. Los microplásticos son partículas plásticas pequeñas, insolubles en agua, generalmente de menos de 5 mm de tamaño. Se trata del tipo de plástico más abundante en los océanos y se han detectado en columnas de agua, aguas superficiales y sedimentos marinos. El objetivo de nuestro estudio fue caracterizar la ocurrencia de microplásticos en sedimentos de ambientes costeros que varían en el grado de intervención humana y evaluar su efecto sobre la composición, estructura y función de las comunidades microbianas sedimentarias. Se recolectaron muestras de sedimentos de cuatro estaciones de muestreo ((sitios de acuicultura intensa, salmones y mejillones) y (sin ninguna actividad de acuicultura)). En base a las condiciones sedimentológicas, hidrográficas y oceanográficas de los sitios de muestreo, se caracterizaron los sitios de muestreo. En relación con los tipos de microplásticos encontrados, estos fueron caracterizados física y químicamente a través de espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FT-IR). Los microplásticos fueron encontrados en todas las muestras de sedimentos de los sitios de estudio. Los polímeros identificados fueron principalmente polipropileno y polietileno. Por otra parte, evaluamos a través de experimentos de microcosmos si los microplásticos facilitan el reclutamiento y la persistencia de taxones y qué impactos tienen en las comunidades microbianas presentes en el sedimento marino en comparación con los controles. Desde un punto de vista molecular, utilizamos enfoques metagenómicos que realizan la secuenciación del ARNr 16S para estudiar la composición y la estructura de las comunidades microbianas (en proceso). Esperamos que todos los datos recopilados en este estudio nos ayuden a reducir la brecha de conocimiento sobre el impacto de los microplásticos en comunidades microbianas de sedimentos en el ecosistema marino.

Keywords: microplastics, plastisphere, plastics, microbiome, Patagonia

Financing: Proyecto Dirección de Investigación, Universidad Austral, Sede Puerto Montt

Acknowledgments: Dirección de Investigación, Universidad Austral, Sede Puerto Montt

Tipo de presentación: Panel

**Surface soil microbiome in a three-depth gradient on the northern and southern slopes of La Campana National Park**

**Microbioma del suelo superficial en un gradiente de tres profundidades en las laderas norte y sur del Parque Nacional La Campana**

Carolina Quinteros-Urquieta<sup>1,3</sup>, Jean Pierre Francois<sup>2,3</sup>, **Polette Aguilar-Muñoz<sup>3</sup>**, Roberto Orellana<sup>2,3</sup>, Freddy Saavedra<sup>2,3</sup>, Yael Aguirre<sup>2,3</sup>, Paulina Hernández<sup>2,4</sup>, Pamela Ramírez<sup>2,3</sup>, Verónica Molina<sup>2,3,5</sup>

(1) Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, 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), "hotspot" de biodiversidad, es reconocido mundialmente por su flora y fauna, pero en menor medida por su riqueza microbiana. Este estudio tuvo por objetivo caracterizar la estructura y composición de las comunidades microbianas (Bacterias, Arqueas y Hongos) y su relación con las comunidades vegetacionales características de dos laderas del PNLC de exposición solar opuesta: i) Bosque esclerófilo (sur), y ii) Matorral esclerófilo (norte), distribuidos en función de variables como la profundidad, elevación y la pendiente. Se realizó una caracterización de los ecosistemas vegetacionales, características fisicoquímicas de la materia orgánica y composición microbiana del suelo, utilizando secuenciación masiva (iTag-16S rRNA, V4 e ITS1-5F) a partir del ADN extraído desde la superficie del suelo en tres profundidades (5 cm; 10 cm; 15 cm). La alfa diversidad muestra mayor diversidad, riqueza y uniformidad en el bosque esclerófilo (5 cm) para procariontes. Los hongos mostraron una mayor riqueza, diversidad y equidad en el bosque esclerófilo en las tres profundidades. La beta-diversidad (70% en sus ejes) indica que las bacterias y arqueas se asocian a sus categorías vegetacionales, lo que no se repite en el caso de los hongos. Los resultados indican que las Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, los hongos Ascomycota y Basidiomycota fueron los phylum más abundantes. La familia Gaiellaceae (Actinobacteria), aumenta con la profundidad en el bosque y matorral, lo que se repite con la familia Chthoniobacteraceae (Verrucomicrobia) en el matorral; la familia Chaetomiaceae (Ascomycota) presenta un gradiente disminuyendo (de 5 a 15 cm) en el bosque, y una distribución inversa en el matorral esclerófilo. En conclusión, los consorcios microbianos presentes en el PNLC muestran una estructura y composición que están influenciadas por la profundidad del suelo y condiciones fisicoquímicas. Esto sugiere una fuerte conexión entre el microbioma del suelo y las características ambientales/sitios circundantes en el PNLC.

Keywords: La Campana, suelo superficial, composición microbiana, Bosque esclerófilo, Matorral esclerófilo

Financing: Proyecto FONDECYT 11170566, Proyecto FONDECYT 1211977, Universidad de Playa Ancha por el Concurso Regular de Investigación 2019 (proyecto clave CNE 23-20) y Beca Doctorado Nacional ANID (Folio N°21221130) año 2022

Acknowledgments: Corporación Nacional Forestal (CONAF), a la Administración del Parque Nacional La Campana y a sus guardaparques.

Tipo de presentación: Panel

**Unveiling bacterial communities and biotechnological potential in the Lauca River of the Chilean Andean plateau**

**Descubriendo comunidades bacterianas y potencial biotecnológico en el río Lauca del altiplano chileno**

**Gabriel Segundo Alfaro Vergara**<sup>1</sup>, Ruben Sommaruga<sup>2</sup>, Pablo Manuel Aguilar Espinosa<sup>1,2</sup>

(1) Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Ciencias del mar y recursos biológicos, Angamos 601, Antofagasta, Chile

(2) University of Innsbruck, Department of Ecology, Technikerstrasse 25, Innsbruck, Austria

The Andean plateau (Altiplano) stands as one of the world's highest plateaus, boasting an average elevation of almost 4,000 meters a.s.l. Spanning from the Arica and Parinacota to Atacama regions, this area features diverse ecosystems, including lakes, rivers, and salt flats. Despite extensive research into microbial ecology in lakes and salt flats, a significant research gap remains concerning high elevation rivers within this geographic zone. In this context, the Lauca River, located in the XV Arica and Parinacota Region, traverses approximately 75 km across Chilean terrain before merging into Bolivia's Lake Coipasa. Here, our focus lies on identifying bacterial communities within the Lauca River and exploring potential biological applications of these communities. Water samples were collected from five distinct locations along the Chilean stretch of the Lauca River. The study employed sequences of the gene ribosomal 16S rDNA using the MiSeq Illumina platform. The results revealed variations in both diversity and bacterial composition along the river, shedding light on the prevalence of key phyla including Proteobacteria, Actinobacteroidota, Bacteroidota, and Verrucomicrobiota. Biopredictions further underscored the presence of significant biomolecules within this river, particularly those with biomedical relevance, highlighting its multifaceted biotechnological potential. Consequently, this research not only enhances our understanding of the diversity and composition of these unique high-altitude aquatic ecosystems but also uncovers promising biotechnological applications that they may offer.

Keywords: Bioprospecting, Ecology, Lauca River, Biotechnology, Bacterial Communities

Financing: CeBiB FB0001

Acknowledgments: Austrian Science Fund [FWF, P24442-B25]. and Centre for Biotechnology and Bioengineering (CeBiB)



Tipo de presentación: Panel

**Impactos de un incendio forestal en la composición de comunidades microbianas asociadas a *Nothofagus pumilio* (Lenga) en la región de La Araucanía.**

**Leonardo Almonacid**<sup>1</sup>, Héctor Herrera<sup>1</sup>, Andrés Fuentes-Ramírez<sup>1,2</sup>, Rodrigo Vargas-Gaete<sup>1,2</sup>, Octavio Toy-Opazo<sup>1,2,3</sup>

(1) Laboratorio de Ecosistemas y Bosques (EcoBos), Departamento de Ciencias Forestales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medioambiente,, Universidad de La Frontera, Casilla 54-D, Francisco Salazar 01145, Temuco 4811230, Chile.

(2) Centro Nacional de Excelencia para la Industria de la Madera (CENAMAD), Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

(3) Programa de Magíster en Manejo de Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, , Universidad de La Frontera, Casilla 54-D, Temuco, Chile.

Los incendios forestales pueden alterar drásticamente los bosques, su biodiversidad y los bienes y servicios que proporcionan a la sociedad. Pese a que los efectos del fuego en los bosques son bien conocidos, existe poca información sobre sus efectos sobre los microorganismos del suelo y el papel que éstos pueden tener para la restauración de la vegetación post incendio, especialmente en la Cordillera de los Andes. En estos ecosistemas, *Nothofagus pumilio* (Lenga) es una especie arbórea sensible al fuego que está completamente excluida de las áreas severamente quemadas. Nuestro objetivo fue determinar la diversidad de bacterias y hongos del suelo asociados al árbol nativo *Nothofagus pumilio* en bosques adultos afectados por un incendio en la Cordillera de los Andes del centro-sur de Chile en el año 2015. Ocho años después del incendio, se recolectaron muestras de suelo de la rizósfera de árboles seleccionados de *N. pumilio* y suelo bulk en áreas afectadas por el fuego y se compararon con las de áreas no quemadas mediante metabarcoding. Encontramos que microorganismos beneficiosos como hongos saprófitos, ectomicorrízicos, taxones micorrícicos ericoides y bacterias fijadoras de N estaban presentes abundantemente en la zona quemada. Los géneros bacterianos más abundantes fueron *Mycobacterium*, *Rhodoplanes* y *Bryobacter*. Mientras que *Cortinarius* y *Penicillium* fueron los géneros fúngicos más comunes identificados en los sitios quemados y no quemados. El tiempo transcurrido desde el incendio probablemente ha hecho que las comunidades microbianas del suelo sean bastante comparables a las condiciones previas al incendio. La mayor abundancia relativa de microorganismos beneficiosos en suelos quemados es el resultado más significativo, que podría ser determinante para el establecimiento y supervivencia de *N. pumilio* en sitios quemados. La identificación de la diversidad microbiana asociada a los árboles autóctonos es esencial para conocer los microorganismos beneficiosos que apoyan la recuperación de los bosques afectados por incendios.

Keywords: Bosques de Araucaria-Nothofagus, Bacterias, Incendios forestales, Hongos, Simbiosis

Financing: Proyecto DIUFRO DI22-0027, Dirección de Investigación Universidad de La Frontera. AFR agradece a ANID/Basal FB210015 (CENAMAD), a SCIA-Anillo ACT210052 y a DIUFRO PP23-0016. RVG agradece a ANID/Basal FB210015 (CENAMAD) y a DIUFRO DI22-0042

Tipo de presentación: Panel

### **Development of Computational Methods for Predicting Metabolic Interactions in Microbial Consortia of the Human Intestinal Tract.**

#### **Desarrollo de métodos computacionales para la predicción de interacciones metabólicas en consorcios microbianos del intestino humano.**

**Álvaro Sebastián Altamirano Muñoz**<sup>1</sup>, Pedro Saa<sup>1</sup>, Daniel Garrido<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Facultad de Ingeniería, Benito Rebolledo 1710, 7821093 Macul, Región Metropolitana, Santiago de Chile, Chile

The human gut microbiota plays a vital role in human health and one such important function is the production of **short-chain fatty acids (SCFAs)** from the fermentation of complex polysaccharides. SCFAs are of interest due to their anti-inflammatory properties and immune system regulation. Their production is influenced by the metabolic interactions (such as cross-feeding) occurring among members of the microbiota, yet the understanding of this complex interaction network remains limited.

**Genome-scaled metabolic models (GEMs)**, which have innumerable applications including the prediction of growth rates and metabolic phenotypes, can help in comprehending microbial interactions via *in silico* exploration of a MO's metabolism. From a GEM, we can extract the Conversions Cone (CC), a set of vectors that includes all feasible mass-balanced substance-to-product conversions under given metabolic conditions for the model. Since the CC is a concise and simplified representation of all metabolic capabilities of a MO, it offers a convenient framework for analyzing interaction networks.

Here, a scalable optimization algorithm, named *setCCon*, was developed with MATLAB to quickly calculate a basis that acts as a proxy for the CC of a certain GEM. With the bases obtained from the GEMs of ***Lachnoclostridium symbiosum*** and ***Phocaeicola dorei***, two bacteria that are known to interact and to produce SCFAs *in vitro*, a simplified constraint-based model (a community model) was built.

Assuming a steady-state, no restriction for metabolites uptake, and the production of SCFA as an objective function in the community model, a directed graph that is able to capture interactions among different conversions was obtained. It is shown that in this setting, the two bacteria always establish mutualism among different metabolic states (three different states or conversions of ***L. symbiosum*** and eight states for ***P. dorei***). The most important exchange is given by leucine and glutamate, produced by ***P. dorei*** and ***L. symbiosum***, respectively. Competition for amino acids like arginine, asparagine, lysine, serine, threonine and valine was also observed.

When the graph is made without an objective function, around 27% of all possible metabolic states can establish an interaction between the two bacteria.

Keywords: Metabolic interactions, Metabolic Models, Conversions Cone, Microbiota, Optimization algorithms

Financing: Este trabajo fue principalmente financiado por ANID BECAS/DOCTORADO NACIONAL 21191194

Acknowledgments: A mi tutor Pedro Saa, a mi Cotutor Daniel Garrido, a Vicente Acuña, y a Diego Oyarzún, por contribuir enormemente al desarrollo de este trabajo, que es parte de mi Tesis Doctoral.

Tipo de presentación: Panel

**Identification and potential application of *Shewanella halifaxensis* 0YLH exudate as an antagonist against harmful algal blooms (HABs)**

**Identificación y potencial aplicación de exudado de *Shewanella halifaxensis* 0YLH como antagonista contra floraciones algales nocivas (FANs)**

**Vladimir Avalos**<sup>1</sup>, Victoria Cruz-Balladares<sup>1</sup>, Henry Cameron<sup>1</sup>, Hernan Vera-Villalobos<sup>1</sup>, Leonel Gonzalez<sup>1</sup>, Yanett Leyton<sup>1</sup>, Carlos Riquelme<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Antofagasta, Centro de Bioinnovación Antofagasta (CBIA), Av Universidad de Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile  
(2) Universidad de Antofagasta, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Av Universidad de Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile

*Prorocentrum triestinum* is a dinoflagellate species that causes massive algal blooms and is considered a serious threat to marine biological security. In this study, we studied the algaecidal effect of a bacterial strain 0YLH, classified to the genus *Shewanella*, against *P. triestinum*. The algaecidal effect was observed when a cell-free supernatant (CFS) from the 0YLH strain in the stationary growth phase was applied to *P. triestinum*. After 24 hours, a remarkable reduction of 55.9% was achieved, suggesting the presence of extracellular substances produced by the bacteria with algaecidal activity. The algaecidal activity was assessed by quantifying photosynthetic efficiency and observing changes in the morphology of *P. triestinum* when exposed to the CFS. Furthermore, the CFS exhibited stability across a wide range of temperatures (20 – 120 °C) and pH (3 – 11), maintaining its activity. Fourier-transform infrared (FTIR) analysis revealed the presence of functional groups such as hydroxyl, amino, and carbonyl, which likely contribute to the algaecidal activity. These findings highlight the algaecidal potential of the bacterium *Shewanella halifaxensis* 0YLH strain as a promising agent for controlling *P. triestinum* blooms. The use of this bacterium could provide an effective and environmentally friendly approach on mitigating the damaging effects caused by *P. triestinum* in marine ecosystems, specifically focused on the use on biomass saturation issues within desalination treatment plants.

Keywords: Harmful algal blooms, Prorocentrum, Antagonist, Algaecidal  
Financing: IDeA ID20I10085 (ANID)

Tipo de presentación: Panel

### **Antibiotic disturbance on microbial communities in the Comau Fjord, Los Lagos Region, Chile**

#### **Perturbación con antibióticos sobre las comunidades microbianas del fiordo Comau, región de Los Lagos, Chile**

**Felipe Bermudez**<sup>1,2</sup>, Sergio Guajardo-Leiva<sup>2</sup>, Valentin Berríos-Farías<sup>2</sup>, Jaime Alarcón<sup>1,2</sup>, Eduardo Castro-Nallar<sup>1,2</sup>

(1) Centro de bioinformática y Biología integrativa, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile

(2) Centro de Ecología Integrativa, Departamento de microbiología, Universidad de Talca, Talca, Chile

El fiordo Comau en la región de Los Lagos, Chile, es conocido como una zona oceanográfica compleja y altamente productiva en los procesos del ecosistema, se encuentra rodeado de parques nacionales y constituye un punto álgido de biodiversidad. Estudios previos han demostrado que perturbar los sistemas acuáticos impacta sobre las comunidades microbianas, provocando cambios en la tasa productiva de los procesos funcionales del ecosistema, asimismo los microorganismos se tornan resistentes y/o resilientes posterior a una perturbación, y en la mayoría de los casos las comunidades microbianas logran mantener la funcionalidad de los procesos del ecosistema. Sin embargo, existen limitados estudios a gran escala sobre el impacto causado por antibióticos provenientes de la salmonicultura en las comunidades microbianas de sistemas acuáticos. En la presente investigación evaluamos a través de secuenciación por 16S, 18S e ITS los cambios en la composición de las comunidades microbianas del fiordo Comau impactados por concentraciones conocidas de florfenicol (F) y oxitetraciclina (O). Se montaron cuatro mesocosmos de 3500L cada uno aproximadamente en el fiordo Comau, teniendo 4 condiciones diferentes, y tomando muestras 7 veces en un período de 10 días. Condición 1 como control negativo, condición 2 como control del alimento (+600 g de pellet para salmónidos), condición 3 (+ 600 g de pellet y +120 g de florfenicol), mientras que en la condición 4 se añadieron 600 g de pellet y 60 g de oxitetraciclina. Mediante un análisis de componentes principales (PCA) se evidencia que, 10 días posterior al tratamiento las muestras perturbadas con florfenicol u oxitetraciclina (C3 y C4), se agrupan en función de parámetros fisicoquímicos como salinidad y turbidez, a diferencia de estadios iniciales de las muestras, donde en general se agrupan las 4 condiciones en función de los mismos parámetros fisicoquímicos, como pH y oxígeno disuelto. En este estudio, mostramos los cambios en composición y estructura de las comunidades microbianas y su variación a través del tiempo según cada tratamiento.

Keywords: Ecología microbiana, Resistencia antibioticos, Genomica

Financing: Proyecto Fondecyt regular 1200834 a cargo del Dr. Eduardo Castro-Nallar

Acknowledgments: A la estación científica San Carlos del Huinay a cargo de la PUCV - ENEL.A la Dra María Stockenreiter y Dr. Herwig Stibor de Ludwig Maximilian Universitat MunichEquipo del Centro de Ecología Integrativa de la Universidad de Talca.

Tipo de presentación: Panel

### **Exploring the removal of the neonicotinoid pesticide imidacloprid and its effect on soil microbial properties**

**Gabriela Briceño**<sup>1,2</sup>, Graciela Palma<sup>1,2</sup>, Heidi Schalchli<sup>2</sup>, María Cristina Diez<sup>2</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Av. Francisco Salazar N° 01145, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Centro de Excelencia en Investigación Biotecnológica Aplicada al Medio Ambiente (CIBAMA), Departamento de Ingeniería y Ciencias, Av. Francisco Salazar N°01145, Temuco, Chile

Pesticides play an important role in plant protection and improve yields under the concept of integrated pest management. Unfortunately, the widespread use and selected agricultural practices may have unexpected effects on the environment and on crop yields. Neonicotinoids (NNIs) are a group of new-generation of systemic insecticides widely applied in crops. However, after use of NNIs around 20% is rapidly taken up by the plants, while a substantial portion of NNIs may accumulate in the soil affecting soil microbiome. In this study, we evaluated the removal of the insecticide imidacloprid from soil and its effect on some microbiological parameters, such as acid phosphatase activity, urease activity, nitrification potential, among others. The study was conducted in the laboratory using soil microcosms in triplicate for a period of 45 days. The removal results showed that 70 % of imidacloprid was eliminated after 45 days, with no differences in application rates. In relation to soil microbial activity, the acid phosphatase activity was not significantly affected by the application of the pesticide, with the exception of day 30 where higher activity was observed in imidacloprid-treated soil. In contrast, the urease activity was modified after imidacloprid application with a less activity during the first 10 days, being recovery after that. Imidacloprid is an insecticide widely used and characterized to persist in the soil environment. Imidacloprid could affect soil microorganisms related with nitrogen cycle. However, the assays in development will permit to confirm us.

Keywords: Pesticide removal, Imidacloprid, Acid phosphatase activity, Urease activity

Financing: DIUFRO Project code N° DI22-0029 and ANID- Fondecyt Regular Project N° 1230965

Tipo de presentación: Panel

**Rapid and sensitive detection of *Escherichia coli* by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) in wastewater treated with microalgal consortium.**

**Rápido y sensitiva detección de *Escherichia coli* mediante amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) en aguas residuales tratadas con consorcio microalgal.**

**Henry Cameron<sup>1</sup>**, Carlos Riquelme<sup>1</sup>

(1) Universidad de Antofagasta, CBIA, FACIMAR, Av. Universidad Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile

Enterobacterias son reconocidas por ser bacterias indicadoras, utilizadas para evaluar las cualidades microbiológicas de aguas y alimentos. Actualmente el centro CBIA presenta una planta de tratamiento de aguas servidas asociado a un conjunto remediador microalgal, lo que permite generar aguas con calidad de riego. Sin embargo es necesario el desarrollo de una herramienta de cualificación del estado del agua resultante a nivel de la carga de enterobacterias. En este estudio, se aisló e identificó 8 enterobacterias presentes en las aguas de tratamientos y se desarrolló una amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) para la detección de *E. coli* mediante el diseño de cebadores en base a los genes Mcr y KPC. La técnica LAMP fue capaz de detectar *E. coli* en una unidad formadora de colonia (UFC)/100 mL respectivamente. De 15 muestras de aguas tratadas, la detección de coliformes obtenida por el método LAMP acompañado por UFC fue exitoso para la totalidad de los ensayos. Nuestro hallazgo reveló que la técnica LAMP es más rápido y altamente sensible que los métodos de detección como número más probable (NMP) para enterobacterias. Por lo tanto, este método podría considerarse para la detección de *E. coli* y otros indicadores microbiológico de calidad en la industria de tratamiento de aguas.

Keywords: LAMP, Enterobacterias, Microalgae

Financing: Desarrollo de un proceso de biorremediación de aguas residuales mediante el uso de consorcios microalgales para la reutilización del agua en regadío, un aporte a la economía circular en comunas costeros-desérticas; código ID22I10227. FONDEF, ANID.

Tipo de presentación: Panel

**Exploring Microbial Diversity and Eco-Functionality: Metagenomic Insights from Gypsum Structures in Salar de Llamara's Andean Ecosystems**

**Exploración de la diversidad microbiana y la ecofuncionalidad: conocimientos metagenómicos de las estructuras de yeso en los ecosistemas andinos del Salar de Llamara**

Mauricio Acosta Grinok<sup>1</sup>, **Maria Campos**<sup>1</sup>, Cecilia Demergasso<sup>1</sup>

(1) Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Av. Angamos 0610, Antofagasta, Chile

The Andean ecosystems of Northern Chile host a variety of saline lakes, with Salar de Llamara being the sole active salar within the confines of the Atacama Desert in the strict sense. The present study involves periodic and multi-site metagenomic examinations of microbial communities inhabiting the gypsum structures, or domes, in each of the four main Puquios within Salar de Llamara. The aim is to establish a foundational understanding, enabling genome reconstruction and acquiring insights into the eco-functionality of the taxa inhabiting such environments. An emphasis is placed on *Planctomycetes* due to their distinct cell biology attributes and prevalence within these ecosystems despite their relatively unexplored eco-functionality.

The methodology involved the extraction and sequencing of DNA from gypsum deposition structures, followed by processing using the SqueezeMeta tool. This procedure yielded ten metagenome-assembled genomes (MAGs) affiliated with the *Planctomycetes* phylum, satisfying completeness (>80%) and contamination (<2%) criteria. These MAGs were derived from diverse sites during both the 2018 and 2019 summer and winter campaigns, and their average nucleotide identities (ANI) allowed their categorization into four clades. Clades with 100% similarity were detected in the less saline Puquios. Comparative analyses with reference genomes via a phylogenomic tree unveiled pivotal characteristics of the *Planctomycetes* phylum and notable metabolisms relevant to this specific environment. Taxonomic insights were also reached. Additionally, the replication index and abundance analyses indicated a preference for underwater environments, with growth predominantly observed in deeper strata (S2-S3-S4) exhibiting a replication rate variance of 1.29 to 1.63, signifying a modest growth pace. Moreover, a secondary metabolite in group 1 was similar to the 1-heptadecene biosynthetic gene cluster from *Cyanothece* sp. PCC 7822 which encodes the polyketide synthase (PKS) enzyme with promising biotechnological potential.

This investigation yielded discernible disparities in the functional gene content linked to diverse metabolisms and processes, encompassing facets like the cell cycle. Consequently, a more comprehensive understanding of the role of *Planctomycetes* within Salar de Llamara was achieved.

Keywords: salt flat, wetland, *Planctomycetes*, metagenome-assembled genomes, microbial ecology

Financing: Project NC-9500007084 from Sociedad Química y Minera de Chile S.A.

Acknowledgments: The authors acknowledge Sociedad Química y Minera de Chile S.A. (SQM) for the financial support and, Javier Tamames and Fernando Puente-Sánchez from the Department of System Biology of the CSIC in Madrid, Spain, for their scientific assistance.

Tipo de presentación: Panel

**Bacterial diversity and functional genes of resistance to arsenic, present in the microbial community of aquatic systems, rich in arsenic, of the Atacama desert.**

**Diversidad bacteriana y de genes funcionales de resistencia a arsénico, presentes en la comunidad microbiana de sistemas acuáticos ricos en arsénico, del desierto de Atacama.**

Paulina Aguayo<sup>1,2,3</sup>, Catalina Carrasco<sup>2</sup>, Cristian Valenzuela<sup>2</sup>, Claudia Vilo<sup>5</sup>, Ruben Moraga<sup>4</sup>, Carlos Smith<sup>2</sup>, Victor Campos<sup>2</sup>

(1) Universidad de las Americas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Chacabuco 539, Concepción, Chile

(2) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Barrio Universitario S/N, Concepción, Chile

(3) Universidad de Concepcion, Facultad de Ciencias Ambientales/EULA-CHILE, Concepción, Chile

(4) Universidad Arturo Prat, Facultad de Recursos Naturales Renovables, Iquique, Chile

(5) Universidad Catolica del Norte, Coquimbo, Chile

La presencia de compuestos tóxicos en el ambiente tiene un impacto sobre la abundancia y diversidad de las comunidades bacterianas. En particular, arsénico es un metaloide altamente tóxico comúnmente presente en los ríos y salares del Desierto de Atacama. As(III) y As(V) son las especies más estables en los sistemas acuáticos, donde muchas bacterias han desarrollado sistemas genéticos de resistencia al metaloide. El objetivo fue analizar la diversidad de las poblaciones bacterianas de asociada a sedimentos de tres sistemas acuáticos, y relacionar la frecuencia de genes de resistencia con la especiación y concentración de arsénico. Las muestras fueron obtenidas desde el Salar Llamará (SL), Rio Loa (RL) y Rio Camarones (RC), sistemas acuáticos con alta concentración de arsénico, con patrones geomorfológicos diferentes y condiciones climáticas extremas. Parámetros fisicoquímicos fueron medidos in-situ y la concentración y especiación de arsénico (agua y sedimentos) medida por HPLC-AAS. La abundancia se determinó mediante citometría de flujo. La diversidad bacteriana fue estudiada mediante secuenciación masiva usando la plataforma Illumina MiSeq. Adicionalmente, para la diversidad genética se implementó una secuenciación por shotgun (illumina Nextera XT). Los análisis bioinformáticos fueron realizados mediante el programa Mothur y Picrust usando la base de datos SILVA. Los resultados revelaron diferencias en la diversidad y composición bacteriana entre los tres sistemas acuáticos, siendo *Proteobacteria* el filo más abundante, seguido de *Firmicutes*. *Gammaproteobacteria* presentó las frecuencias relativas más alta en RC y *Deltaproteobacteria* en RL y SL, respectivamente. Los géneros *Aeromonas*, *Shewanella*, *Pseudomonas* y *Acinetobacter*, descritas como bacterias resistentes al arsénico, fueron las más abundantes en los tres sistemas. Los genes *arsB* y *arsC* fueron los más abundantes en todos los sistemas, lo que se debe alta concentración de As(V) en los tres sistemas acuáticos. La alta concentración de arsénico en los sedimentos se atribuyó a las características geológicas y climáticas únicas de la región. El estudio reveló que las propiedades fisicoquímicas del agua y sedimentos, así como la concentración de arsénico son factores significativos en la configuración de la composición de la comunidad microbiana de los sedimentos y la diversidad de los genes funcionales relacionado con el As.

Keywords: Arsenico, metagenomica, rios, Salares, Genes-resistencia-arsenico

Financing: Proyecto N| PI2022029, Universidad de las Américas (UDLA), Chile



Tipo de presentación: Panel

**Potential airborne human pathogens: A relevant inhabitant in built environments but not considered in indoor air quality standards**

**Potenciales patógenos humanos aerotransportados: habitantes relevantes en ambientes construidos escasamente considerado en los estándares de calidad del aire interior.**

**Elizabeth Carrazana**<sup>1,2</sup>, Tay Ruiz-Gil<sup>2,3</sup>, So Fujiyoshi<sup>4,5</sup>, Daisuke Tanaka<sup>8</sup>, Jun Noda<sup>7</sup>, Fumito Maruyama<sup>4,5</sup>, Milko A. Jorquera<sup>2,6</sup>

(1) Programa de Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

(2) Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

(3) Programa de Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

(4) Center for Holobiome and Built Environment (CHOBE), Hiroshima University, Japan

(5) Microbial Genomics and Ecology, PHIS, The IDEC institute, Hiroshima University, Hiroshima, Japan

(6) Network for Extreme Environment Research (NEXER), Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

(7) Graduate School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, Hokkaido, Japan

(8) School of Science Academic Assembly, University of Toyama, Toyama, Japan

Potential airborne human pathogens (PAHPs) may be a relevant component of the air microbiome in built environments. Despite that PAHPs can cause infections, particularly in immunosuppressed patients at medical centers, they are scarcely considered in standards of indoor air quality (IAQ) worldwide. Here, we reviewed the current information on microbial aerosols (bacteria, fungal and viruses) and PAHPs in different types of built environments (*e.g.*, medical center, industrial and non-industrial), including the main factors involved in their dispersion, the methodologies used in their study and their associated biological risks. Our analysis identified the human occupancy and ventilation systems as the primary sources of dispersal of microbial aerosols indoors. We also observed temperature and relative humidity as relevant physicochemical factors regulating the dispersion and viability of some PAHPs. Our analysis revealed that some PAHPs can survive and coexist in different environments while other PAHPs are limited or specific for an environment. In relation to the methodologies (conventional or molecular) the nature of PAHPs and sampling type are pivotal. In this context, indoors air-borne viruses are the less studied because their small size, environmental lability, and absence of efficient sampling techniques and universal molecular markers for their study. Finally, it is noteworthy that PAHPs are not commonly considered and included in IAQ standards worldwide, and when they are included, the total abundance is the single parameter considered and biological risks is excluded. Therefore, we propose a revision, design and establishment of public health policies, regulations and IAQ standards, considering the interactions of diverse factors, such as nature of PAHPs, human occupancy and type of built environments where they develop.

Keywords: Potential airborne human pathogens, Air microbiome, Built environments, Bioaerosol, Indoor air quality

Financing: UFRO Scholarship and Programa Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada from Universidad de La Frontera.

Acknowledgments: To the editor of Science of The Total Environment and the anonymous reviewers for their helpful and constructive criticisms, which have contributed significantly to improving the quality of the review. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165879>

Tipo de presentación: Panel

**Comparative genomics of plant growth promoting phosphobacteria isolated from rhizosphere soils with low P-availability**

**Genómica comparativa de fosfobacterias promotoras del crecimiento de plantas, aisladas desde suelos rizosféricos con baja disponibilidad de fósforo.**

**Carlos Cortés-Albayay**<sup>1,2</sup>, Paola Duran<sup>1,2,3</sup>, Mabel Delgado<sup>1</sup>, Giovanni Larama<sup>1,2</sup>, Evelyn Briones<sup>1,2</sup>, Josefa Mendoza<sup>1,2</sup>, Ninozhka Becerra<sup>1,2</sup>, María de la Luz Mora<sup>1</sup>, Patricio Javier Barra<sup>1,2</sup>

(1) Center of Plant, Soil Interaction and Natural Resources Biotechnology, Scientific and Technological Bioresource Nucleus, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

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

(3) Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, Departamento de Producción Agropecuaria, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

Despite the phosphorous in one of the most abundant ions in soils, its bioavailability converts it on one of the most limiting macronutrients for plants because it is mainly found as insoluble organic and inorganic phosphates. Several studies have tried to solve this problem isolating and applying novel phosphate solubilizing rhizobacteria as biofertilizers, capable to turn these insoluble forms into available phosphates which can then be absorbed by plants. Many of these bacteria harbours in their genomes not only the enzymatic machinery for phosphate solubilization but also the genes associated to the synthesis of key plant growth promotion (PGP) factors such as plant hormones, siderophores and natural products which make them attractive solution for agricultural applications. The phosphobacterial strains *Serratia* sp. RJAL6, *Klebsiella* sp. RCJ4 and *Enterobacter* sp. B198, were previously described as growth promoters of wheat, ryegrass and avocado in soils submitted to diverse abiotic stresses and P-deficiency. Comparative genomic analysis of the draft genome sequences for these strains evidenced the presence of genes encoding for alkaline phosphatases, isonitrile secondary metabolites, enterobactin biosynthesis and genes associated to the production of indole-3-acetic acid (IAA) and gluconic acid. Additionally, overall genome relatedness indexes (OGRI) between *Serratia* sp. RJAL6 and its closest phylogenetic neighbours *Serratia nematodiphila* and *Serratia bockelmanii* suggested this strain would merits to be affiliated to a novel species. The *in silico* genome analysis performed here provided insights into the PGP capabilities of these strains and their provenance, obtaining a novel species candidate which can be applied as a potential bioinoculant in future applications.

Keywords: Rhizobacteria, Phosphorous, Abiotic stress, Genomics

Financing: FONDECYT de iniciación No. 11200377; FONDECYT regular No. 1210684, 1230084, 1201196; Anillos de Investigación en Áreas Temáticas Específicas ATE220038; DiUFRO. Proyectos de Investigación Vinculados a la Red Nexer No. DNX22-0009

Tipo de presentación: Panel

### **Heavy metal resistance in rhizobia isolated from native Fabaceae from the Valparaíso Region in Chile**

#### **Resistencia a metales pesados en rizobios aislados de Fabáceas nativas de la Región de Valparaíso, Chile**

**Camila Cos**<sup>1</sup>, Mariam Charifeh<sup>1</sup>, Carolina Yáñez<sup>1</sup>

(1) Grupo de Ecología Microbiana de la Rizosfera, Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Debido a la actividad antropogénica, las concentraciones de metales pesados en suelos son cada vez mayores, presentando un problema para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Muchas especies de Leguminosas son capaces de colonizar suelos con altas concentraciones de metales pesados, donde su estrecha relación con rizobios podría influir en su capacidad de tolerancia. Años de selección natural podrían permitir encontrar rizobios resistentes a metales pesados incluso en suelos no contaminados. Por esta razón, en este estudio se buscó evaluar si cepas de rizobios previamente aisladas desde nódulos de leguminosas nativas de la Región de Valparaíso (Chile) poseen tolerancia y resistencia a metales pesados. En primer lugar, se realizó una búsqueda bioinformática de genes de resistencia a metales pesados en genomas de rizobios disponibles en bases de datos. Se buscó la presencia de genes *copA* (resistencia a cobre), *czcD* (cadmio, zinc y cromo), y *chrB* (cromo) en genomas de rizobios en NCBI y Uniprot. Luego, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) para cobre, cromo y zinc en rizobios aislados. De la Reserva Nacional Lago Peñuelas se aislaron 2 cepas de *Vicia Vicia* (Rhizobium) y 2 de *Psoralea glandulosa* (Mesorhizobium), y del Bioparque Puquén se aisló 1 cepa de *Lupinus* sp. (Mesorhizobium), utilizando los medios LPTMS (low-phosphate Tris-buffered mineral salts) con manitol y BSM (Bergersen's synthetic medium). En el genoma de *Sinorhizobium melioli* se encontraron genes asociados a la resistencia a mercurio (*merA1* y *merA2*) y cobre (*copC*, *copD*, *copG*). En la búsqueda de genes de resistencia en rizobios se identificaron 15 rizobios con *copA*, 7 *czcD* y 26 *chrB*. Al evaluar la CMI se encontraron cepas con alta tolerancia a zinc (>2 mM Zn<sup>2+</sup>), las que podrían presentar genes de resistencia como *czcD*. También, algunas cepas crecieron sobre 0,5 mM de CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup> y Cu<sup>2+</sup>. En conclusión, los rizobios aislados de Leguminosas nativas de la Región de Valparaíso muestran cierta tolerancia a metales pesados, sobre todo a zinc, lo que podría influir en el asentamiento de Leguminosas en tierras marginales, teniendo potenciales aplicaciones en planes de biorremediación. Futuros estudios podrían evaluar el efecto de los metales en la nodulación.

Keywords: resistencia a metales pesados, rizobios, Fabáceas, genes de resistencia a metales pesados

Financing: Proyecto DI regular 039.325/2023 PUCV.

Tipo de presentación: Panel

**Application of bacterial supernatant for the control of microfouling and its extracellular polymeric substances (EPS) in small-scale seawater filtration systems.**

**Aplicación de sobrenadante bacteriano para el control del microfouling y sus sustancias poliméricas extracelulares (EPS) en sistemas de filtración de agua de mar a pequeña escala.**

**Victoria Cruz-Balladares<sup>1</sup>**, Hernán Vera-Villalobos<sup>1</sup>, Alvaro Gonzalez<sup>1</sup>, Fernando Silva Aciaras<sup>1,2</sup>, Carlos Riquelme Salamanca<sup>1,2</sup>  
(1) Universidad de Antofagasta, Centro de Bioinnovación Antofagasta (CBIA), Av. Universidad de Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile  
(2) Universidad de Antofagasta, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Av. Universidad de Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile

En la actualidad Chile enfrenta una de las peores sequías, incentivando el uso de nuevas tecnologías para la obtención de agua potable. Antofagasta es una ciudad que posee más de 400 km de costa, siendo el agua de mar un recurso muy valioso utilizado por desaladoras para combatir la escasez hídrica, tanto a nivel industrial como a nivel de producción de agua para consumo humano. La problemática que presentan las desaladoras es la formación de biofouling o bioincrustaciones en sus sistemas de filtración, presentando acumulación de microorganismos, algas, plantas o pequeños animales en superficies o estructuras acuáticas causando daños o perturbación de dicha superficie, provocando un impacto económico negativo. Para combatir el biofouling se realizan limpiezas a base de productos químicos generando daños en los sistemas de filtración a largo plazo. Por eso la necesidad de buscar una alternativa ecoamigable, de fácil aplicación y bajo costo que permita mejorar la permeabilidad del agua de mar y aumentar la vida útil de las membranas. Este trabajo propone el uso de sobrenadantes bacterianos provenientes de cepas aisladas desde sistemas de ultrafiltración (UF) y membranas de ósmosis inversa (MOIs) con alto potencial biotecnológico. Más de 20 cepas fueron aisladas, de las cuales dos, ULV11 y Macro12, destacan dada la diversidad de actividades exoenzimáticas que poseen tales como proteasa, lipasa y amilasa. Se evaluó el sobrenadante sobre cepas bacterianas que comúnmente colonizan MOIs y se observó que ambos aislados fueron capaces de inhibir el crecimiento bacteriano, resultado que quedó en evidencia con la formación de un halo de inhibición. Los sobrenadantes también fueron evaluados sobre microfouling y sustancias poliméricas extracelulares (EPS) asociados en MOIs a pequeña escala, mediante microscopía confocal se observó que las membranas tratadas con sobrenadante no presentaron asentamiento microbiano, observándose similar al control negativo, sugiriendo que las cepas ULV11 y Macro12 poseen potencial actividad antimicrobiana y antifouling.

Keywords: Biofouling, Antimicrobiano, Antifouling, Bacterias marinas

Financing: Esta investigación fue apoyada por la subvención Fondef IDeA ID21I10044

Tipo de presentación: Panel

### Diversity of flagellar cluster in ecotypes of *thiooxidans* clade and the effect of pH on its motility phenotypes

**Juan Duarte-Ramírez**<sup>1,2</sup>, Francisco Issotta<sup>1,3</sup>, Camila Rojas-Villalobos<sup>1,4</sup>, Ana Moya-Beltrán<sup>1,4,5</sup>, Dilanaz Arizan<sup>1,2</sup>, Yasna Gallardo<sup>1</sup>, Matías Castro-González<sup>1,6</sup>, Raquel Quatrini<sup>1,2</sup>

(1) Fundación Ciencia y Vida, CCTE Ciencia y Vida, Av. Del Valle Norte 725, Huechuraba, Santiago, Chile

(2) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Santiago, Chile

(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Alameda 340, Santiago, Chile

(4) Universidad San Sebastián, Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño, Santiago, Chile

(5) Universidad Tecnológica Metropolitana, Departamento de Informática y Computación, Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño, Santiago 7800002, Chile

(6) Instituto Milenio de Oceanografía (IMO), 4070386, Concepción, Chile

Species and strains of the *thiooxidans* clade are members of the genus *Acidithiobacillus*, ranked within the class *Acidithiobacillia*. These bacteria are extremely acidophilic, mesophilic, chemolithoautotrophic sulfur-oxidizers that grow under aerobic conditions. Their motility and biofilm forming capacities endow them with the ability to colonize sulfide minerals surfaces, and thus they play a key role in bioleaching of such ores. Currently, the five specific lineages that conform the *thiooxidans* clade, are *A. thiooxidans* (ATH), *A. albertensis* (AAL), *A. sulfurivorans* (ASU), *A. concretivorus* (ACO), *A. monserratiensis* (AMO), and *A. marinus* (AMA), with *A. thiooxidans* ATCC 19377 as the type strain of the genus and the clade. These five species have been isolated from widely different habitats and harbor significant genetic diversity, suggesting that adaptive diversification and active speciation processes are ongoing. Our working hypothesis is that motility phenotypes in this clade are a key trait on their adaptive response. In this study, we investigated the variability of flagellar cluster among *thiooxidans* clade strains, and local populations occurring at the Copahue-Caviahue-ChanchoCó (CCC) natural extreme acidic system. These populations were sampled along a natural physicochemical and pH gradient. To achieve this, we performed a comparative genomic analysis, using reference genomes, genomes from isolates, and Metagenome-Assembled Genomes (MAGs) recovered from the CCC system. Analyses of the variability at the amino acid and nucleotide level of the annotated and curated flagellar gene clusters, revealed divergence between species and local ecotypes in the filament, basal body and regulator proteins required for assembly of a functional flagella. To assess the effect of pH on the adaptive response of the native CCC ecotypes, we performed swarming motility assays in semisolid media at different pHs. According to the *in vitro* tests performed, isolates pertaining to different ecotypes showed different patterns in swarming phenotype, and low motility at pH above 4. These results support the view that pH-dependent motility could in fact be a key trait in mineral substrate colonization along the CCC gradient, and a defining trait in *thiooxidans* clade species adaptive differentiation.

Keywords: Acidophiles, *thiooxidans* clade, Adaptive response, Motility, CCC gradient

Financing: Fondecyt 1221035; Fondecyt 11201114; Fondecyt 3230527; Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia de ANID Centro Ciencia & Vida - FB210008; VRID de la USS - Proyecto USS-FIN-23-PASD-02, Proyecto VRID\_INTER22/19, Proyecto USS-FIN-23-PDOC-03 and PhD scholarship (J.D-R.10202956/C.R-V.10218491/D.A.10241368).

Tipo de presentación: Panel

**Exploring the biogeochemical cycle of iron in an extremely acidic natural environmental gradient.**

**Fernando Díaz-González**<sup>1,2</sup>, Camila Rojas-Villalobos<sup>1,3</sup>, Francisco Issotta<sup>1,4</sup>, Ana Moya Beltrán<sup>1,3,5</sup>, Yasna Gallardo<sup>1</sup>, Hector Carrasco<sup>1</sup>, Alejandra Giaveno<sup>6</sup>, Pedro Temporetti<sup>7</sup>, Raquel Quatrini<sup>1,2</sup>

(1) CCTE Ciencia y Vida, Fundación Ciencia y Vida, Av. Del Valle Norte 725, Huechuraba, Santiago, Chile.

(2) Facultad de Medicina y Ciencia, Universidad San Sebastián, Santiago, Chile.

(3) Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño, Universidad San Sebastián, Santiago, Chile.

(4) Departamento Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica, Alameda 340, Santiago, Chile.

(5) Departamento de Informática y Computación, Facultad de Ingeniería, Universidad Tecnológica Metropolitana, Santiago 7800002, Chile.

(6) PROBIEN (CCT Patagonia Confluencia-CONICET, UNCo), Departamento de Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Comahue, Neuquén, Argentina.

(7) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA), Centro Regional Universitario Bariloche-UNComahue, CCT-Patagonia Norte, CONICET, San Carlos de Bariloche 8400, Argentina.

Iron (Fe) is the most abundant element on the planet, accounting for 32.1% of its total mass. The solubility and bioavailable concentration of the redox species of Fe, ferrous [Fe(II)] and ferric ions [Fe(III)], vary with the environmental pH. Thus, pH is a determining factor in the biogeochemical cycling of the metal. In acidic-oxic environments, Fe(II) serves as an electron donor for acidophilic Fe-oxidizing microorganisms, while in microaerobic or anoxic environments, Fe(III) acts as an electron acceptor for both acidophilic and acid-tolerant Fe-reducing microorganisms. The Fe biogeochemical cycle has been extensively studied in aquatic systems where vertical redox and pH gradients form in the water-sediment interphase. However, little is known about the diversity and distribution patterns of Fe-cycling microorganisms in longitudinal transitional environments (pH gradient) under variant community contexts. The Agrio River, located in the acidic geothermal system of Copahue-Caviahue-ChanchoCó, serves as an ideal natural model to study the microbial Fe-cycle under such conditions. The river's waters, volcanic-glacial in origin, exhibit ample changes along its course in total metal concentration, temperature and pH. Using metagenomic strategies, we have studied the microbial communities in the water column at 15 points along the physicochemical gradient of the river. Based on a meta-analysis of the known universe of Fe-cycling microorganisms, we analyzed the presence and abundance of taxa associated with the Fe-cycle at each site, establishing their occurrence ranges in the system and correlating their distribution with the collected abiotic/biotic metadata. The results demonstrate that the system harbors a great diversity of Fe-oxidizing and Fe-reducing microorganisms, which distribute differentially along the gradient, with a higher presence of Fe-oxidizers in sites closer to the source. There is a clear transition towards metabolisms related to Fe respiration from the midpoint of the system onwards, linked to the input of organic matter into the system. This work discusses the findings in an eco-physiological context, aiming to understand the role of pH in shaping the microbiota assembly in this extreme system.

Keywords: Agrio River, Acidic pH, Iron cycle, Iron microbiota

Financing: Fondecyt 1221035; Fondecyt 3230527; Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia de ANID Ciencia & Vida - FB210008; Vicerrectoría de Investigación y Doctorados de la Universidad San Sebastián Project USS-FIN-23-PDOC-03, Proyecto USS-FIN-23-PASD-02, PhD Scholarship (F.D-G. 10202955 /C.R-V. 10218491).

Tipo de presentación: Panel

### **Cascading effects of the loss of native herbivores in the Chilean semi-arid region**

#### **Efectos en cascada de la pérdida de herbívoros nativos en el semiárido chileno**

**María del Pilar Fernandez Murillo**<sup>1,2,8</sup>, Ignacio Gutierrez<sup>8</sup>, Alejandra Troncoso<sup>2,5</sup>, Dylan Craven<sup>4</sup>, Douglas Kelt<sup>6</sup>, Peter Meserve<sup>7</sup>, Fernando Alfaro<sup>3,8</sup>

(1) Doctorado de Ecología Integrativa, Universidad Mayor, Santiago, Chile

(2) Instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB), Casilla 653, Santiago, Chile

(3) GEMA Center for Genomics, Ecology & Environment, Universidad Mayor, Santiago, Chile.

(4) Centro de Modelación y Monitoreo de Ecosistemas, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, Chile.

(5) Departamento de Biología, Universidad de La Serena, Casilla 554, La Serena, Chile.

(6) Department of Wildlife Fish and Conservation Biology, University of California, One Shields Avenue, Davis, California 95616 USA.

(7) Department of Biological Sciences, University of Idaho, Moscow, Idaho 8384 USA.

(8) Laboratorio de Ambientes extremos, Universidad Mayor, Santiago, Chile.

Los herbívoros son cruciales para la regulación de energía y nutrientes en los ecosistemas, debido a su influencia sobre la producción y descomposición de la biomasa vegetal, la materia orgánica y la remoción del suelo. Sin embargo, pocos trabajos evalúan de qué manera la ausencia de pequeños herbívoros nativos, afectaría el funcionamiento del ecosistema. En un estudio realizado en Chile central, se excluyeron herbívoros nativos y exóticos durante 13 años en el sitio de Investigación Ecológica a Largo Plazo (LTSER) del Bosque Fray Jorge. La ausencia de herbívoros causó cambios significativos en la biogeoquímica del suelo, con una reducción en el pH y un aumento en el contenido de materia orgánica. Las comunidades de bacterias y hongos fueron significativamente distintas entre tratamientos. Asimismo, se registró una reducción en la producción de CO<sub>2</sub> debido a la respiración heterótrofa, y una menor cantidad de la enzima AP, relacionada con la liberación de fósforo inorgánico. En contraste, hubo un aumento en las enzimas LAP y DOPA, que indican mayor liberación de nitrógeno y oxidación de lignina y taninos, respectivamente. Estos resultados demuestran que los pequeños herbívoros también afectan la funcionalidad del ecosistema, aunque de manera menos drástica que el ganado. Comprender este impacto es crucial para entender cómo los ecosistemas pueden responder ante la pérdida de herbívoros nativos, especialmente frente a escenarios de cambio global. El estudio integrado de los ecosistemas y su funcionamiento en relación con los herbívoros es esencial para abordar futuras pérdidas de gremios y enfrentar los desafíos ambientales que puedan surgir.

Keywords: Microbiota del suelo, herbivoros, LTSER Fray Jorge

Financing: Universidad Mayor FONDECYT 1220358

Acknowledgments: Agradecemos al LTSER Fray Jorge el habernos proporcionado entrada para la toma de muestras de suelo en sus instalaciones, A la universidad Mayor por financiara este trabajo y al laboratorio de Ecología de ecosistemas extremos.

**Deciphering the microbiota of *Cryptopygus antarcticus* and its relationship to the bacterial community of the surrounding soil**

**Descifrando la microbiota de *Cryptopygus antarcticus* y su relación con la comunidad bacteriana del suelo circundante**

**Alexis Gaete**<sup>1,2</sup>, Daniel E. Palma<sup>1,2</sup>, Cristián Arenas<sup>1</sup>, Samuel E. Jara<sup>1</sup>, Mauricio González<sup>1,2</sup>, Jacqueline J. Acuña<sup>3</sup>, Francisco P. Chávez<sup>4</sup>, Andrés E. Marcoleta<sup>5</sup>, Milko A. Jorquera<sup>3</sup>, Verónica Cambiazo<sup>1,2</sup>

(1) Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, INTA-Universidad de Chile

(2) Millennium Institute Center for Genome Regulation (CGR)

(3) Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada (EMALAB), Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera

(4) Laboratorio de Microbiología de Sistemas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

(5) Grupo de Microbiología Integrativa, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

*Cryptopygus antarcticus* es una especie nativa en la península Antártica con relevancia ecológica debido que promueve la descomposición orgánica y el ciclo de nutrientes en el suelo. *C. antarcticus* podría contribuir a la dispersión de microorganismos en el suelo y las bacterias de su microbiota podrían ser las primeras en colonizar los suelos descongelados. En este trabajo, caracterizamos la diversidad y el potencial funcional de la microbiota de *C. antarcticus* y su relación con el suelo circundante y con suelos no colonizados. Se definieron tres cuadrantes en la Isla Rey Jorge y se colectaron 12 muestras de colémbolos y suelo circundante. Además, se colectó suelo no colonizado cercano al glaciar Ecology. Se analizó la diversidad taxonómica mediante secuenciación Illumina de la región V4 del gen 16S rRNA y su asignación taxonómica mediante secuenciación Nanopore de la región V1-V9. Se realizó la caracterización funcional de las comunidades bacterianas con la herramienta FAPROTAX. El número *amplicon sequence variants* (ASVs) observados y la riqueza estimada para la microbiota de los suelos fueron significativamente superiores en comparación con la microbiota de los colémbolos. Un número reducido de ASVs, asignados a Proteobacteria, Bacteroidota y Actinobacteriota, fueron compartidos entre la microbiota de colémbolos y el suelo circundante o suelo no colonizado. Sin embargo, los taxones dominantes asociados con *C. antarcticus* difieren de la microbiota de los suelos y entre las muestras de colémbolos. Los ASVs más abundantes correspondieron a representantes de los géneros *Rickettsia*, *Alistipes* y *Akkermansia*. En la microbiota de los colémbolos destacan funciones intestinales, oxidación de manganeso, reducción de fumarato, degradación de plástico e hidrocarburos, mientras que en el suelo circundante y en el no colonizado, funciones vinculadas a la oxidación de amonio, nitrificación y oxidación de compuestos orgánicos son predominantes. Las funciones de reducción de nitrito, fijación de nitrógeno y otros procesos del ciclo del nitrógeno fueron compartidas en todas las muestras. La microbiota de colémbolos que habitan isla Rey Jorge difiere en cuanto a taxonomía, diversidad alfa, beta y predicción metabólica con respecto a la microbiota del suelo circundante, sin embargo, suelos circundantes y suelos no colonizados no presentan diferencias significativas.

Keywords: *Cryptopygus antarcticus*, Microbiota, Suelo Antártico

Financing: Proyecto Anillo ACT210044 mBioClim: Antarctic microbiology of climate change ANID – Programa de la Iniciativa Científica Milenio CRG ICN2021\_044



Tipo de presentación: Panel

**Detection of bacterial genes involved in the biodegradation of polyethylene microplastics and DDT in a coastal Antarctic soil microbiome influenced by marine animals**

**Detección de genes bacterianos implicados en la biodegradación de microplásticos de polietileno y DDT en un microbioma de suelo costero antártico influenciado por animales marinos**

**Daniela Garrido Jara**<sup>1</sup>, María Papale<sup>2</sup>, Angelina Lo Giudice<sup>2</sup>, Lía Ramírez Fernández<sup>3</sup>, Julieta Orlando<sup>3</sup>, Vincenzo Zammuto<sup>2</sup>, Concetta Gugliandolo<sup>2</sup>, Miguel Martínez Poblete<sup>1</sup>

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Barrio Universitario sin número, Concepción, Región del Biobío, Chile.

(2) Università degli Studi di Messina, Dipartimento di Scienze chimiche, biologiche, farmaceutiche e ambientali, Contrada Papardo Sperone, #31, 98100 Messina ME, Sicilia, Italia.

(3) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Las Palmeras #3425, Ñuñoa, Santiago, Región Metropolitana, Chile.

El continente antártico es vulnerable a la contaminación por agentes químicos y residuos plásticos, transportados por diversas vías (actividad humana, marina, aérea). Los residuos que principalmente llegan a la costa antártica están constituidos principalmente por microplásticos de polietileno (PE) los que pueden absorber pesticidas tóxicos e hidrofóbicos como el diclorodifeniltricloroetano (DDT).

El objetivo de este trabajo fue detectar genes bacterianos implicados en la ruta de degradación del PE y DDT. Para esto, se buscaron secuencias de genes previamente descritos de la metabolización de PE ( $\alpha/\beta$  hidrolasas y *alkB*) y DDT (*xylE*, *catA*, *linA* y *linB*), y se construyó una biblioteca de datos para generar los modelos de Markov (HMM). Estos HMM fueron confrontados en 100 genomas ensamblados desde metagenomas (MAGs) provenientes de muestras de suelo costero antártico de las Islas Shetland del Sur, con y sin presencia de animales marinos. Los resultados de este estudio permitieron detectar la presencia de genes  $\alpha/\beta$  hidrolasas en todas las muestras (100 MAGs). Se detectó el gen de la alcano monooxigenasa (*alkB*) en suelos con influencia animal, pero no en suelos sin presencia de animales marinos. Esto sugiere que aves y pinípedos pueden ser vectores de microplásticos o bien de bacterias portadoras de genes *alkB*. En todos los MAGs se detectó la presencia de los genes involucrados en el metabolismo de DDT (como el de catecol 2,3-dioxigenasa (*XylE*), gamma-hexaclorociclohexano deshidroclorinasa (*linA*), haloalcano deshalogenasa (*linB*) y catecol 1,2-dioxygenasa (*catA*)). Los resultados sugieren que, aves y pinípedos podrían participar en el transporte de microplásticos de PE contaminados con DDT o de bacterias con estos genes. Entre las bacterias en las que se detectó la presencia de los genes de todas las rutas degradativas tanto de PE como de DDT destacan *Rhodanobacter spathiphylli* y *Pseudolysobacter antarcticus*, las que podrían participar en estrategias para la remoción de estos contaminantes. Los resultados, en su conjunto, indican que en los suelos antárticos existen genes bacterianos que están relacionados con la degradación de PE y DDT, por lo que existirían bacterias antárticas que potencialmente participarían en la remoción de estos contaminantes.

Keywords: Antártica, Biodegradación, Genes Bacterianos, Microplásticos de Polietileno, DDT

Financing: ANID – Programa Iniciativa Científica Milenio – ICN2021\_002.

Acknowledgments: Agradecimientos: Facultad de Cs. Biológicas y Dirección de relaciones internacionales, Universidad de Concepción, Chile. Università degli Studi di Messina, Italia. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Chile.

Tipo de presentación: Panel

**Rhizobia associated to *Sophora* spp. in Chile and their potential role in reestablishment and survival of some endangered species**

**Rizobios asociados a *Sophora* spp. en Chile continental e insular y su potencial rol en el restablecimiento y sobrevivencia de estas especies en peligro de extinción**

**Macarena Gerding González<sup>1</sup>**, Tamara Quezada D'angelo<sup>1</sup>, Jaime Espejo Cardemil<sup>2</sup>, Indalicio Olave<sup>1</sup>, Maria Susana Soto Ramirez<sup>1</sup>, Paola Hernandez<sup>1</sup>

(1) Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chillán, Chile

(2) NeoArbor SpA, Los Angeles, Chile

*Sophora* es un género que pertenece a la familia Fabaceae, dentro del cual existen cinco especies endémicas de Chile: *Sophora toromiro*, representante emblemática de la flora nativa y actualmente declarada extinta en Rapa Nui, *S. fernandeziana* y *S. masafuerana*, especies en peligro de extinción del Archipiélago Juan Fernández; y *S. cassioides* y *S. macrocarpa* en Chile continental. Las fabáceas se caracterizan por asociarse simbióticamente a bacterias del suelo conocidas como rizobios. A partir de esta interacción, la planta obtiene nitrógeno desde la bacteria a través de la fijación de nitrógeno, y la planta provee protección y energía a la bacteria. La simbiosis rizobio-leguminosa es muy específica y es clave para la sobrevivencia de la planta y en particular para el establecimiento de esta en condiciones adversas. El objetivo de esta investigación fue identificar y caracterizar rizobios asociados a *Sophora* spp. en Chile continental e insular y evaluar su efecto en las especies *S. cassioides*, *S.fernandeziana* y *S.toromiro*. Para ello, se recolectaron nódulos radiculares desde *Sophora* spp. desde siete sitios, obteniéndose 29 aislados bacterianos. Se identificaron 27 cepas distintas mediante huella genética por RAPD-PCR y por secuenciación del gen parcial 16S rRNA, se determinó que 13 cepas pertenecieron a los géneros *Mesorhizobium*, *Paraburkholderia*, *Bradyrhizobium* y *Rhizobium*. Se realizaron ensayos bajo condiciones controladas en *S. toromiro*, *S. cassioides* y *S. masafuerana* con los rizobios más 10 cepas aisladas de Nueva Zelanda, donde se determinó materia seca y nodulación transcurridos 90 días.

Veinte de las 23 cepas evaluadas lograron inducir nodulación en *S.toromiro*, 15 en *S.cassioides* y cinco en *S.fernandeziana*. De éstas, 12 lograron aumentar biomasa en toromiro, siendo principalmente *Mesorhizobium* spp. y aisladas de *S.macrocarpa* y *S.microphylla* (Nueva Zelanda). En *S.cassioides* hubo 6 cepas efectivas, aisladas predominantemente desde *S.microphylla* y *S.macrocarpa*. En *S. fernandeziana* no se logró aumentar biomasa con ninguna de las bacterias. Se concluye que *S.toromiro* y *S.cassioides* se asocian efectivamente con bacterias del género *Mesorhizobium* y comparten simbioses con *S.macrocarpa* y *S. microphylla*. *S. fernandeziana* es más estricta en su nodulación, y se asocia preferentemente con bacterias aisladas de *S.fernandeziana* aunque sin un efecto significativo en crecimiento.

Keywords: *Mesorhizobium*, *Paraburkholderia*, *Sophora toromiro*, *Sophora cassioides*, *Sophora fernandeziana*

Financing: VRID UDEC proyecto 2021000333MUL

Acknowledgments: The authors would like to thank Mitchell Andrews from Lincoln University, New Zealand for providing some rhizobial strains

Tipo de presentación: Panel

### **Native Yeasts Bioprospecting: Bosque Fray Jorge National Park**

#### **Bioprospección de Levaduras Nativas: Parque Nacional Bosque Fray Jorge**

**Darío González**<sup>1,2,3</sup>, Macarena Araya<sup>2,4</sup>, Francisco Cubillos<sup>2,3,4</sup>

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

(2) Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), Santiago, Chile

(3) Millennium Nucleus of Patagonian Limit of Life (LiLi), Valdivia, Chile

(4) Universidad de Santiago de Chile, Laboratorio de Genética Molecular, Facultad de Química y Biología, Avenida Libertador Bernardo O'Higgins 3363, Santiago, Chile

Las levaduras abundan en la naturaleza y habitan una amplia gama de entornos que van desde regiones tropicales a árticas. Chile, en particular, posee una gran riqueza de ecosistemas, que van desde desiertos altamente áridos hasta bosques templados y ambientes fríos, como la Antártida. Un ecosistema excepcional, es el que encontramos en el Parque Nacional Bosque Fray Jorge. Este parque corresponde a un relicto climático, ecosistema único de bosques valdivianos con gran diversidad de flora y fauna, convirtiéndolo en un escenario ideal para realizar estudios de biodiversidad de levaduras en ambientes naturales con potencial biotecnológico. En este contexto, nuestra propuesta corresponde a realizar una bioprospección de levaduras presentes en árboles de la zona. Para esto, se seleccionaron cinco especies de árboles característicos del bosque (*Aextoxicon punctatum*, *Drymis winteri*, *Myrceugenia correifolia*, *Luma apiculata* y *Azara celastrina*). Con el propósito de aislar levaduras presentes en corteza y suelo de estos árboles, se seleccionaron 30 individuos. Las muestras de suelo fueron recolectadas en seco, mientras que las de corteza fueron recolectadas en seco y en tubos con medio de selección (YNB, glucosa 2%, etanol 4%). Estas muestras fueron plaqueadas en YPD/cloranfenicol e YNB/glucosa/etanol, y se seleccionaron aquellas colonias que presentaron diferencias morfológicas. Se obtuvieron 113 tipos de colonias, 43 de estas correspondientes a la recolección de corteza en seco, siendo el método más eficaz de aislamiento. Posterior a esto se realizó una selección en 3 medios líquidos de YNB, glucosa 2% con etanol, cloranfenicol o ampicilina, obteniéndose 20 individuos que crecieron en por lo menos 2 de estos medios. De estos, *Aextoxicon punctatum* aportó 6 individuos, siendo la especie con mayor número de individuos aislados. Con el propósito de identificar estas levaduras, se realizó la genotipificación basados en la amplificación de la región ITS y dominio D1/D2 de la subunidad mayor del gen rRNA. De esta manera, se identificó la presencia de especies pertenecientes a géneros tales como *Metschnikowia*, *Candida*, *Cyberlindnera* y *Piskurozyma*. El conocimiento generado en este estudio contribuirá a comprender la biodiversidad microbiana de este valioso ecosistema y a futuras investigaciones en temas de microbiología ambiental y ciencia aplicada.

Keywords: Levaduras Nativas, Diversidad Microbiana, Relicto Climático, Bioprospección

Tipo de presentación: Panel

**Comparison of the "Gut microbiota" in adolescents with Autism Spectrum Disorder (ASD) and without the condition in the metropolitan region of Chile.**

**Comparación de la Microbiota Intestinal en Adolescentes con Trastorno del Espectro Autista (TEA) y sin la condición, en la región metropolitana de Chile.**

Ivania Cortés Cortés<sup>1</sup>, Paola González Rodríguez<sup>1</sup>, Scarlett Merino Contreras<sup>1</sup>, Andrea Ortiz Barahona<sup>1</sup>, Vayttiare Solar González<sup>1,2</sup>

(1) Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello, Sazié 2212, Santiago, Chile

(2) Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Sazié 2212, Santiago, Chile

La microbiota intestinal es un conjunto de microorganismos que habitan en el tracto gastrointestinal cumpliendo funciones esenciales en el organismo humano que ayudan a mantener la homeostasis del cuerpo. Para que dichas funciones se puedan llevar a cabo debe existir un equilibrio entre estos microbios, la alteración de este equilibrio se conoce como disbiosis en donde hay una proliferación de microorganismos que se encuentran en menor cantidad y/o una disminución de los más prevalentes, todo esto debido a factores internos y/o externos. Este desequilibrio en la microbiota se puede presentar en algunos trastornos de la conducta como los Trastornos del Espectro Autista (TEA), donde el problema en el neurodesarrollo y los síntomas gastrointestinales que padecen estas personas tienen una estrecha relación con la disbiosis intestinal. El objetivo principal fue comparar la microbiota intestinal en adolescentes con trastornos del espectro autista (TEA) y sin la condición. Para su desarrollo se analizaron muestras de coprocultivo, de los dos grupos, las muestras fueron cultivadas en medios de cultivo selectivos y diferenciales, luego se realizaron pruebas bioquímicas para su identificación microbiológica y análisis mediante MALDI-ToF MS. Los resultados de este estudio evidenciaron una diferencia entre las microbiotas de ambos grupos con la presencia de *Escherichia coli* y *Enterococcus faecium* en el grupo control (sin la condición de TEA), mientras que las personas con TEA presentaron una mayor diversidad bacteriana con el desarrollo de *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*. Los investigadores describen una composición diferente de bacterias intestinales en pacientes con TEA encontrándose especies no descritas anteriormente para ésta condición.

Keywords: Trastorno del Espectro Autista, TEA, Microbiota intestinal, Enterobacterales, Adolescentes

Financing: Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello

Acknowledgments: Escuela de Tecnología Médica, Universidad Andrés Bello

Tipo de presentación: Panel

**Effect of altitude and seasonality on the genotypic and phenotypic richness of non-conventional yeast isolates from Nevados de Chillán**

**Efecto de la altitud y la estacionalidad sobre la riqueza genotípica y fenotípica de aislados de levaduras no-conventionales de Nevados de Chillán**

**Francisca Grene<sup>1,2</sup>**, Christian Oporto<sup>1,2</sup>, Francisco Cubillos Riffo<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Avenida Libertador Bernardo O'Higgins n° 3363, Santiago, Chile.

(2) Núcleo Milenio Límite de la Vida Patagónica

Las levaduras se distribuyen ampliamente en diferentes ambientes naturales, principalmente en bosques, de las cuales existe un gran interés tanto científico como biotecnológico debido a su alta diversidad. En este sentido, las levaduras no-conventionales han ganado relevancia en la investigación científica y en la industria por sus características innovadoras y prometedoras para aplicaciones biotecnológicas. Sin embargo, la información acumulada sobre estas levaduras es limitada, principalmente porque la mayoría de estudios se han enfocado en el género *Saccharomyces*, esencialmente de cepas de laboratorios, limitando la comprensión sobre su rol en ambientes naturales, y a la vez, cómo la distribución y presencia de estas levaduras se ven afectadas por variables ambientales, como lo son la altitud y el ciclo estacional, las cuales pueden tener un impacto significativo en nuestra comprensión de la biodiversidad de levaduras en hábitats naturales, especialmente en los bosques. En Chile, los bosques del género *Nothofagus* de la Patagonia se han descrito como laboratorios naturales únicos, sin embargo, se desconoce la diversidad y riqueza de levaduras que los habitan, así como también los factores climáticos y geográficos que puedan afectar su presencia y distribución. En este sentido, se analizaron 648 aislados de levaduras obtenidos de muestras de corteza de *N. pumilio* de Nevados de Chillán a dos elevaciones diferentes a través de las cuatro estaciones del año. De los cuales se identificaron los aislados no-conventionales según el tamaño del amplicón de la región ITS. De esta forma, se observó que la frecuencia de aislamiento de levaduras no-conventionales por estación fue de 70,01%, 75,98%, 78,72%, 82,13% en verano, otoño, invierno y primavera, respectivamente. Mientras que altitudinalmente la frecuencia de aislamiento fue de 73,33% y 82,25% para el punto de menor y mayor elevación definidos, respectivamente. Esto último indica que la elevación podría jugar un papel en la distribución y presencia de levaduras no-conventionales. Sin embargo, aunque la frecuencia de aislamiento es mayor en el punto de mayor elevación, la riqueza de levaduras no-conventionales es mayor en el punto de menor elevación. Por lo cual, factores como la estacionalidad y altitud influyen en la presencia, distribución y riqueza de levaduras no-conventionales.

Keywords: non-conventional yeast, altitude, seasonality, genotypic richness, phenotypic richness

Financing: Laboratorio de Genética Molecular, Universidad de Santiago de Chile.

Acknowledgments: Universidad de Santiago de Chile y Núcleo Milenio Límite de la vida Patagónica.

Tipo de presentación: Panel

**Gut bacterial metabolite *p*-cresol, effects on neuronal functionality, behavior and gut microbiota of rats: new perspectives in Autism Spectrum Disorder (ASD)**

**Metabolito bacteriano intestinal *p*-cresol, efectos sobre funcionalidad neuronal, comportamiento y microbiota intestinal de ratas: nuevas perspectivas en el Trastorno de Espectro Autista (TEA)**

**Sheyla Guzmán**<sup>1,3,6</sup>, Pedro Zamorano<sup>1,5</sup>, Cristina Dorador<sup>5</sup>, Rodrigo Herrera-Molina<sup>4</sup>, Waldo Cerpa<sup>2</sup>, André Weber<sup>4</sup>, Ayse Malci<sup>4</sup>, Xiao Lin<sup>4</sup>

(1) Universidad de Antofagasta, Ciencias de la Salud, Antofagasta, Chile

(2) Universidad Pontificia Católica, Departamento de Biología Celular y Molecular, Ciencias Biológicas, Santiago, Chile

(3) Centre for Biotechnology and Bioengineering CeBiB, Antofagasta, Chile

(4) Leibniz Institute for Neurobiology, Magdeburgo, Alemania

(5) Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile

(6) Universidad Católica del Norte, Ciencias Farmacéuticas, Química y Farmacia, Antofagasta, Chile

**Introducción:** El Trastorno del Espectro Autista (TEA) es un trastorno del neurodesarrollo que afecta a 1 de cada 100 niños a nivel mundial (OMS). Se desconoce la causa exacta del TEA, pero se caracteriza por dificultades en la interacción social, problemas de comunicación y conductas repetitivas. Existe una correlación entre TEA y trastornos intestinales crónicos, relacionados con cambios en la microbiota intestinal y la presencia de un metabolito bacteriano llamado *p*-cresol, en niños/as TEA entre 2 y 8 años, por lo que ha sido propuesto como posible biomarcador temprano.

Existe evidencia limitada sobre los efectos de *p*-cresol sobre el sistema nervioso central (SNC) y la microbiota intestinal, es por esto que este trabajo evaluó el efecto de *p*-cresol sobre SNC *in vitro* e *in vivo* en ratas, y en la microbiota intestinal de estas.

**Métodos:** Se analizó el efecto del *p*-cresol sobre la morfología y función sináptica *in vitro*. Cultivos primarios de neuronas hipocámpales de ratas se expusieron a *p*-cresol, se evaluó funcionalidad neuronal a través de la respuesta eléctrica medida con multi-electrodo y señales de calcio. Además, se administró *p*-cresol a ratas durante 12 días y se evaluó el comportamiento de tipo social con la prueba de socialidad de tres cámaras. Se realizó un análisis de microbiota intestinal en base al gen 16S rRNA (Illumina) de las heces de las ratas.

**Resultados:** Los resultados demuestran que el *p*-cresol modula el desarrollo morfo-dendrítico y la función sináptica. Por otro lado, la administración intraperitoneal de *p*-cresol en ratas, mostró una inhibición del comportamiento tipo social. Este hallazgo sugiere que el *p*-cresol podría contribuir durante la formación del SNC, aunque los cambios en la función sináptica inducidos por *p*-cresol podrían explicar el empeoramiento de los síntomas observado en algunos individuos con TEA.

La evaluación de los efectos de *p*-cresol sobre la microbiota intestinal, demostró que las comunidades microbianas son sensibles a *p*-cresol, disminuyendo su diversidad y modificando su estructura comunitaria; además de favorecer el crecimiento de *Akkermansia* y *Lachnospiraceae*-NK4A-group. Estos géneros han sido ampliamente descritos en individuos y modelos animales TEA.

Keywords: Microbiota, Gut, Autism, ASD, *p*-cresol

Tipo de presentación: Panel

**Microbial microdiversification of the Acidithiobacillia class members in a natural acidic watershed**

**Francisco Issotta**<sup>1,2</sup>, Dilanaz Arisan<sup>1,3</sup>, Camila Rojas-Villalobos<sup>1,4</sup>, Fernando Diaz-Gonzalez<sup>1,3</sup>, Ana Moya-Beltrán<sup>1,3</sup>, Pedro Temporetti<sup>7</sup>, Alejandra Giaveno<sup>8</sup>, Beatriz Díez<sup>2,5,6</sup>, Raquel Quatrini<sup>9</sup>

(1) Fundación Ciencia y Vida, Santiago, Chile

(2) P. Universidad Católica, Departamento Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Santiago, Chile.

(3) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Santiago, Chile

(4) Universidad San Sebastián, Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño, Santiago, Chile.

(5) Center for Climate and Resilience Research (CR), Santiago, Chile

(6) Millennium Institute Center for Genome Regulation (CGR), Santiago, Chile

(7) Centro Regional Universitario Bariloche-UNComahue, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA), CCT-Patagonia Norte, CONICET, Argentina

(8) Universidad Nacional del Comahue, PROBIEN CCT Patagonia Confluencia-CONICET UNCo, Departamento de Química, Facultad de Ingeniería, Neuquén, Argentina

(9) Centro Científico y Tecnológico de Excelencia Ciencia & Vida, Santiago, Chile

Rio Agrio (RA) is a unique natural extreme acidic watercourse of glacio-volcanic origin, located in the Andes mountain range of northern Patagonia. This river features an ample gradient of pH (pH 0.5–8.5), temperature (10–80°C) and conductivity (0.5–500 mS/cm), and hosts a rich diversity of acidophilic prokaryotes, including representatives of the *Acidithiobacillia* class. In this study, we analyzed the occurrence, distribution, and microdiversity of *Acidithiobacillia* populations inhabiting the RA, using culture-dependent and independent strategies. For this, we recovered genomes from isolates and MAGs from metagenomes sampled along the RA physicochemical gradient. De novo and reference-based binning methods were applied to the datasets to recover population-specific reads, using both local and global reference genomes and MAGs. This allowed us to assess population structure and diversity along the gradient. According to our results, the acidithiobacilli showed a differential distribution along the gradient, being highly abundant in the Upper RA, and at the springs that source the river, yet rarely further downstream. Up to 10 lineages of the class co-exist in a number of these sites, some with differential distribution and varying relative abundances per site, while other lineages show an ample and even distributions across sites. Clear evidence of local diversification was uncovered in certain lineages, including the *Igneacidithiobacillus* and iron oxidizing lineages of *Acidithiobacillus*. The correlation between the emerging population structure and the physicochemical gradient parameters was analyzed to gain insights into the ecological and evolutionary processes that structure and maintain the microbial diversity in this ecosystem. Emerging results indicate that *Acidithiobacillia* class species use different strategies to adapt to the local characteristics of the habitats along RA.

Keywords: Acidithiobacillia, microdiversity, Metagenomics, low pH

Financing: Fondecyt 1221035; Fondecyt 3230527; Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia de ANID, Centro Ciencia & Vida FB210008;

Acknowledgments: Vicerrectoría de Investigación y Doctorados de la Universidad San Sebastián - Proyecto USS-FIN-23-PASD-02 & Proyecto VRID\_INTER22/19; USS PhD scholarship (Folio: 0010241368, 10202955, 10218491); Project USS-FIN-23-PDOC-03.

Tipo de presentación: Panel

**Cambios en la composición y funcionalidad de las comunidades bacterianas endófitas en semillas y semillas germinadas de cuatro familias de hortalizas**

**Changes in the composition and functionality of endophytic bacterial communities in seeds and germinated seeds of four families of vegetables**

**Milko Jorquera**<sup>1</sup>, Jacqueline Acuña<sup>1</sup>, Qian Zhang<sup>2</sup>, Nitza Inostroza<sup>1</sup>, Jing Ming<sup>2</sup>, Tamara Valenzuela<sup>1,3</sup>, Pablo Perez<sup>1,3</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada (EMALAB), Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Xiamen University, College of the Environment and Ecology, Xiamen 361102, China

(3) Universidad de La Frontera, Programa de Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

Chile es uno de los principales exportadores de semillas del hemisferio sur, de las cuales el 46% corresponden a semillas de hortalizas. Sin embargo, hasta el momento no se ha explorado el microbioma endófito de semillas de hortalizas comercializadas y su contribución a la microbiota de las primeras etapas del desarrollo de las plantas. En condiciones de laboratorio, utilizamos Metabarcoding (gen 16S ARNr) para explorar los cambios en composición y funcionalidad de la comunidad bacteriana endofítica en semillas (S) y semillas germinadas de 2 semanas (GS), en etapa de cotiledón (o brotes), de cuatro familias vegetales: *Apiaceae* (perejil y zanahoria), *Asteraceae* (lechuga), *Brassicaceae* (coliflor y brócoli) y *Solanaceae* (tomate). Los resultados mostraron recuentos desde  $10^4$  (coliflor; *Brassica oleracea*) a  $10^8$  (zanahoria; *Daucus carota*) de copias del gen 16S ARNr  $g^{-1}$  en S y GS. El análisis de diversidad alfa (índices de Chao1, Shannon y Simpson) no mostró diferencias significativas ( $p < 0.05$ , t-test) entre S y GS, excepto en miembros de *Solanaceae*. En contraste, el análisis de diversidad beta (PCoA) reveló diferencias significativas (adonis,  $p < 0.05$ ) entre S y GS, excepto en *Apiaceae*. En general, Proteobacteria (Pseudomonadota) y Firmicutes (Bacillota) fueron los taxones dominantes en S y GS, de los cuales quimioheterotrofia fue la principal función microbiana predicha. La presencia de rasgos promotores del crecimiento vegetal (PCV) en 143 bacterias endófitas aisladas de S y GS fue también investigados y observados en todas las familias de hortalizas. En particular, 10 a 64 % de las cepas endófitas mostraron rasgos PCV, y 74 % a 82 actividad de biocontrol contra patógenos de plantas (*Xanthomonas* sp. RGM 2955, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* RGM 3354 y *Pseudomonas viridiflava* RGM 3342). Este estudio muestra los cambios en las bacterias endófitas en S y GS, incluidas cepas bacterianas con potencial como promotoras de crecimiento vegetal y biocontroladores, identificadas principalmente como *Bacillus* y *Microbacterium*.

Keywords: biocontrol, bacterias endófitas, bacterias promotoras del crecimiento vegetal, microbioma de semillas, hortalizas

Financing: FONDECYT no. 1201386 y 1221228.



Tipo de presentación: Panel

**SYSTEMIX: Systems Biology Center for the study of extremophile communities from mining tailings**

**SYSTEMIX: Centro de Biología de Sistemas para el estudio de comunidades de extremófilas de relaves mineros**

**Mauricio Latorre**<sup>1,2,3</sup>, Lorena Pizarro<sup>2,4</sup>, Angélica Reyes<sup>2,5</sup>, Alex Di Genova<sup>2,6</sup>, Vinicius Maracaja-Coutinho<sup>2,7</sup>, Valentina Parra<sup>2,7</sup>, Emilio Vilches<sup>2,8</sup>

(1) Universidad de O'Higgins., Laboratorio de Bioingeniería, Instituto de Ciencias de la Ingeniería, Rancagua, Chile

(2) Universidad de O'Higgins, Centro de biología de sistemas para el estudio de comunidades extremófilas de relaves mineros (SYSTEMIX), Chile

(3) Universidad de Chile, Laboratorio de bioinformática y expresión génica, INTA, Santiago, Chile

(4) Universidad de O'Higgins, Laboratory of Plant Immunity, Instituto de Ciencias Agroalimentarias, Animales y Ambientales, San Fernando, Chile

(5) Universidad de Chile, Laboratory of Microbiology and Probiotics, INTA, Santiago, Chile

(6) Universidad de O'Higgins, Laboratory of Computational Biology (Di Genoma Lab), Instituto de Ciencias de la Ingeniería, Rancagua, Chile

(7) Universidad de Chile, Advanced Center of Chronic Diseases (ACCDiS), Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Santiago, Chile

(8) Universidad de O'Higgins, Laboratory of Mathematical Biology, Instituto de Ciencias de la Ingeniería, Rancagua, Chile

El relave Cauquenes ubicado en la Región de O'Higgins es, a la fecha, el depósito de relaves de cobre más antiguo del mundo. En este contexto, la identificación y caracterización de las comunidades de microorganismos extremófilos que habitan en el relave Cauquenes brindará información valiosa sobre la estructura de estas comunidades y cómo se han mantenido o cambiado a lo largo del tiempo. Por estas razones, a través de la integración de diversas capacidades de investigadores nacionales e internacionales, este proyecto busca sentar las bases para la creación de un Centro de Biología de Sistemas para el estudio de las comunidades que habitan los relaves mineros, denominado SYSTEMIX. Como objetivos de investigación buscamos: i) Caracterización de la estructura de las comunidades extremófilas; ii) Identificación y validación de los potenciales metabólicos de las comunidades y sus miembros; iii) Catalogar y clasificar la información obtenida mediante el desarrollo de una base de datos genómicos de las cepas colectadas y; iv) Aplicaciones en el campo de la biotecnología. Con un fuerte compromiso regional y desde una perspectiva multidisciplinaria e integral, nuestro proyecto generará valiosa información molecular, genómica y fenotípica sobre microorganismos de ambientes extremos, datos que estarán totalmente disponibles para la comunidad científica chilena para promover nuevos puentes de colaboración y desarrollo nacional e internacional.

Keywords: Biología de sistemas, Biotecnología, Minería, Microbiomas, Relaves

Financing: ANID ANILLO ACT210004.

Tipo de presentación: Panel

**Study of air microbial communities associated with particulate matter in the Metropolitan Region of Chile**

**Estudio de comunidades microbianas del aire asociadas al material particulado en la Región Metropolitana de Chile**

**Romina Madrid**<sup>1</sup>, Madelaine Mejías<sup>1,2</sup>, Karina Díaz<sup>1</sup>, Rodrigo Pulgar<sup>2</sup>, Dinka Mandakovic<sup>1</sup>

(1) Universidad Mayor, GEMA, Center for Genomics, Ecology and Environment, Camino La Piramide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Laboratorio de Genómica y Genética de Interacciones Biológicas (LG2IB), Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, El Líbano 5524, Macul, Santiago, Chile

Se denomina aerobioma a los microorganismos presentes en el aire, los cuales pueden causar distintos efectos a nivel ambiental, salud humana y hacia otras especies. Los microorganismos del aerobioma pueden ser transportados por el material particulado (MP), al cual se adhieren. Asimismo, estudios previos han demostrado que el MP impacta en la diversidad y composición taxonómica del aerobioma. A pesar de ser una de las regiones más contaminadas del mundo, especialmente durante invierno debido al fenómeno de inversión térmica, no existe evidencia de estudios sobre microorganismos que se encuentren asociados al MP de la Región Metropolitana (RM) de Chile. Mediante secuenciación masiva y análisis bioinformáticos de colectas pasivas de MP (gradilla de 25 tubos falcón de 50 mL estériles incluyendo un tubo vacío y cerrado, correspondiente a un control negativo), analizamos la correlación de la composición taxonómica y diversidad del aerobioma bacteriano y fúngico presente en la RM en invierno con variaciones del MP en tres comunas (Las Condes, Santiago y Pudahuel) con un gradiente ascendente de MP en esta estación del año. Observamos diferencias significativas en el orden bacteriano Rickettsiales y los órdenes de hongos Erythrobasidiales, Filobasidiales, Gloeophyllales, Pleosporales y Xylariales entre las tres comunas. En los análisis de alfa diversidad bacteriano, no hubo diferencias significativas entre las comunas, mientras que sí hubo diferencias significativas en la diversidad de los hongos. Los análisis de beta diversidad de bacterias y hongos mostraron agrupamientos significativos por comuna en la mayoría de las muestras. Las correlaciones de la abundancia de los microorganismos del aire con el MP indicaron que, en los casos que hubo correlación significativa, esta fue generalmente negativa en hongos y en algunas taxas bacterianas. Finalmente, al analizar los parámetros ambientales junto con la abundancia de los microorganismos, observamos que algunas muestras de Pudahuel se distribuyen en el espacio por el gradiente del MP<sub>2,5</sub>, mientras que, en otras, el viento fue la variable de mayor impacto. Podemos concluir que las variaciones del MP entre las comunas de Las Condes, Santiago y Pudahuel de la RM durante invierno, correlacionan con la diversidad y composición taxonómica del aerobioma.

Keywords: Aerobioma, Material Particulado, Bacterias, Hongos, Región Metropolitana de Chile

Financing: ANID FONDECYT Iniciación 11200319 y FONDECYT Regular 1221848

Tipo de presentación: Panel

### **Microbial degradation potential of microplastics in Antarctic soils impacted by penguins**

#### **Potencial de degradación microbiana de microplásticos en suelos antárticos impactados por pingüinos**

**Alexander Marin González**<sup>1,2</sup>, Claudio Valenzuela<sup>1,2</sup>, Lía Ramirez Fernández<sup>3,4</sup>, Julieta Orlando<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Chile, Ciencias Ecológicas, Ciencias, Santiago, Chile

(2) Instituto Milenio Biodiversidad de Ecosistemas Antárticos y Subantárticos

(3) Centro de Desarrollo de Biotecnología Industrial y Bioproductos SR 245, Domolif SpA, Antofagasta, Chile

(4) Universidad Arturo Prat, Recursos Naturales Renovables

Cada año crece exponencialmente la producción de plásticos a nivel mundial, ocasionando así un aumento de contaminación por estos polímeros. La degradación de plásticos puede generar microplásticos, los cuales están distribuidos globalmente contaminando aguas, suelos y aire. Sitios remotos como el continente antártico no están exentos de esta contaminación y su presencia afecta diferentes entornos, incluyendo suelos impactados por pingüinos del género *Pygoscelis*. El propósito de este estudio es determinar la abundancia de genes que codifican para enzimas que degradan plásticos en metagenomas asociados a muestras de suelo impactado por pingüinos *Pygoscelis* en la Península Antártica y las islas aledañas.

Para la detección de los genes que codifican para estas enzimas en las lecturas metagenómicas se utilizó una base de datos curada de creación propia, incluyendo secuencias que codifican enzimas para la degradación del Tereftalato de Polietileno (PET) y del Poliuretano (PUR), entre otras. Para cada enzima, se creó un modelo oculto de Markov (HMM), seleccionando secuencias con 95% de identidad.

Los resultados muestran que hay una mayor cantidad de genes que codifican enzimas que degradan el PET en comparación con los genes que codifican enzimas para descomponer el PUR, con una diferencia de alrededor del 30%. Esto se podría relacionar con una mayor abundancia del PET en las muestras de suelo o con una mayor susceptibilidad a la degradación microbiana en comparación con el PUR. Además, se encontró que los sitios que contienen una mayor cantidad de genes que podrían degradar estos plásticos están ubicadas cerca de asentamientos humanos, como bases científicas, lo que sugiere que las actividades humanas en Antártica están relacionadas con la presencia de estos contaminantes, estimulando a los microorganismos capaces de degradar estos plásticos.

La presencia de genes que codifican para enzimas que potencialmente degradan plásticos en metagenomas de suelos impactados por pingüinos ayuda a ampliar el conocimiento sobre estas enzimas para futuras aplicaciones biotecnológicas. En resumen, este estudio resalta la importancia de investigar la degradación de plásticos en sitios remotos y proporciona información valiosa para el desarrollo de soluciones sostenibles para la gestión de residuos plásticos.

Keywords: degradación, microplásticos, Suelos Antárticos

Financing: ANID – Programa Iniciativa Científica Milenio – ICN2021\_002.

Tipo de presentación: Panel

**Detection and characterization of prophages of the probiotic strain *Limosilactobacillus fermentum* UCO-979C**

**Detección y caracterización de profagos de la cepa probiótica *Limosilactobacillus fermentum* UCO-979C**

**Sebastian Molina-Gallardo**<sup>1</sup>, Francisco Fuentes-Villalobos<sup>2</sup>, Cristian Parra-Sepúlveda<sup>1</sup>, Romina I. Carvajal<sup>1</sup>, Apolinaria Garcia-Cancino<sup>1</sup>

(1) Universidad de Concepción, Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile

(2) Universidad de Concepción, Laboratorio de Inmunovirología, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile

Los bacteriófagos, virus que infectan bacterias, son entes relevantes para la diversidad bacteriana existente en los ecosistemas. Los profagos (fagos en estado lisogénico) son frecuentes en bacterias, pueden llegar a representar hasta un 16% de su genoma, participan en fenómenos de transducción y pueden conferir fenotipos que otorgan una ventaja competitiva a su hospedador. El objetivo de este estudio fue caracterizar los profagos de la cepa probiótica *Limosilactobacillus fermentum* UCO-979C, aislada desde el estómago humano, que posee actividad inhibitoria contra *Helicobacter pylori*, un patógeno asociado al cáncer gástrico con alta prevalencia en Chile.

Usando la herramienta PHASTER, se analizó cada *contig* del *draft* del genoma completo de la cepa UCO-979C, para detectar secuencias candidatas a profagos. También, se indujo la liberación de fagos desde la cepa UCO-979C con radiación ultravioleta (UV), exponiendo cultivos en caldo MRS al inicio de la etapa de crecimiento exponencial ( $DO_{600}=0.2$ ) entre 20 y 1200 segundos, para luego cultivarse durante 8 horas a 37°C con agitación (150 rpm) en una jarra de anaerobiosis protegidos de la luz. Los cultivos se centrifugaron a 5000 × g por 12 minutos, se filtraron los sobrenadantes con un filtro de poro de 0,22 µm. Se realizaron curvas de crecimiento a 600 nm por Densidad óptica en un lector de microplacas Infinite M200 PRO (Tecan Trading AG, Suiza) en paralelo. De los filtrados se depositaron gotas de 10 µL sobre placas de doble agar MRS.

Los resultados muestran que, de los 108 *contigs* analizados con PHASTER, uno tiene un profago intacto y 4 poseen profagos incompletos. En la secuencia del profago intacto se detectaron 58 regiones codificantes homólogas con secuencias en las bases de datos de fagos, además de los sitios attR y attL. También se observó una disminución de las velocidades de crecimiento proporcional al tiempo de exposición a radiación UV, con etapas estacionarias similares. En el ensayo de agar doble no se observó la formación de placas de fagos. En conclusión, el análisis bioinformático indicó que la cepa UCO-979C contiene al menos un profago intacto en su genoma; sin embargo, ninguno fue inducido mediante luz ultravioleta.

Keywords: Profagos, Secuenciación de Genoma Completo, PHASTER, Inducción de profagos, Placa viral

Tipo de presentación: Panel

### Desing of cooperative bacterial consortia based on their ability to enhance their growht and PGP traits

### Diseño de consorcios bacterianos cooperativos basados en su capacidad de potenciar su crecimiento y rasgos PGP

**Paulina Molinet<sup>1</sup>**, Javiera Manquían<sup>1</sup>, Tamara Valenzuela<sup>1</sup>, Constanza Venegas<sup>1</sup>, Pablo Pérez<sup>1</sup>, Milko Jorquera<sup>1,2</sup>, Jacqueline Acuña<sup>1,2,3</sup>

(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) Center of Plant, Soil Interaction and Natural Resources Biotechnology, Scientific and Biotechnological Bioresource Nucleus (BIOREN-UFRO), Universidad de La Frontera, Ave. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Instituto Milenio Centro Regulación del Genoma (CGR), Ave. Valenzuela Puelma 10207, Santiago, Chile

La mayoría de los estudios de formulación de consorcios bacterianos asumen un efecto sinérgico tanto de mecanismos de promoción del crecimiento vegetal (PGP) como de sus tasas de crecimiento. Además, en gran medida están formulados en base a cepas comúnmente estudiadas como, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, entre otros. Esto presenta problemas, ya que además de asumir funcionalidades PGP y crecimiento positivas entre los miembros de consorcios, la baja diversidad taxonómica puede limitar el número de interacciones beneficiosas presentes en el microbioma de la rizósfera. Evaluamos el efecto de la interacción bacteria-bacteria sobre dos rasgos PGP; la actividad de la enzima ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico desaminasa (ACC desaminasa) mediante la comparación con una curva estándar de  $\alpha$ -cetobutirato y la producción de auxinas derivadas del triptófano en consorcios formulados por taxas bacterianas poco estudiadas, primero colorimétricamente con el reactivo de Salkowsky y luego mediante High-performance liquid chromatography (HPLC). Hipotetizamos que una o ambas actividades PGP se verán aumentadas por consorcios cooperativos. Los resultados mostraron que las 12 cepas estudiadas mostraron actividad ACC desaminasa (52,8 a 820,8 nmoles  $\alpha$ -cetobutirato  $\text{mg}^{-1}$  proteína  $\text{h}^{-1}$ ), donde *Kaistia* sp.14.3 obtuvo la mayor actividad con 820,8 nmoles  $\alpha$ -cetobutirato  $\text{mg}^{-1}$  proteína  $\text{h}^{-1}$ . Por su parte, se detectó la presencia de ácido indol-3-acético (AIA) mediante HPLC en las cepas *Serratia* sp.4.3, *Delftia* sp.4.4, *Kluyera* sp.5.3, *Achromobacter* sp.5.4 y *Serratia* sp.8.1 en concentraciones que variaron entre 1,5 a 30  $\text{mg L}^{-1}$ . Siete consorcios bacterianos en presencia de *Microbacterium* sp.13.2 aumentaron su actividad ACC desaminasa entre 2 a 17 veces comparado a la actividad en cepas de forma individual. En contraste, no se observó la presencia de AIA en los consorcios evaluados, a diferencia de lo observado en cepa única. Además, los análisis de crecimiento en co-cultivo demostraron un aumento significativo en las tasas de crecimiento de los consorcios evaluados. Finalmente, el consorcio formulado por *Variovorax* sp.14.7 y *Micobacterium* sp.13.2 demostró mantener su tasa de crecimiento 1:1 durante los 3 días de incubación. Nuestros resultados sugieren una relación existente entre el aumento de la actividad PGP y la interacción cooperativa entre los miembros de los consorcios bacterianos formulados a partir de taxas PGP poco estudiadas.

Keywords: Bacterias, PGP, Consorcio, cooperativo

Financing: Proyecto FONDECYT no. 1201386 dirigido por el Dr. Milko Jorquera Tapia y por el proyecto FONDECYT no. 1221228 dirigido por la profesora Jacqueline Acuña Sobarzo e Instituto Milenio Centro de Regulación del Genoma (CGR), código ICN2021\_044.

Acknowledgments: Se agradece al proyecto FONDECYT no. 1201386 dirigido por el Dr. Milko Jorquera Tapia y por el proyecto FONDECYT no. 1221228 dirigido por la profesora Jacqueline Acuña Sobarzo e Instituto Milenio Centro de Regulación del Genoma (CGR), código ICN2021\_044.

Tipo de presentación: Panel

### **In silico analysis of PGP (Plant Growth Promoting) properties in thermophilic bacterial isolates**

#### **Análisis in silico de propiedades PGP (Plant Growth Promoting) en aislados bacterianos termófilos**

**Antonia Naciff<sup>1</sup>**, Johanna Cortes<sup>1,2</sup>, Martha Hengst<sup>3</sup>, Carolina Yáñez<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Laboratorio de Ecología Microbiana de la Rizosfera, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Valparaíso, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso - Universidad Técnica Federico Santa María, Programa de Doctorado en Biotecnología, Facultad de Ciencias, Valparaíso, Chile

(3) Universidad Católica del Norte, Laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada, Facultad de Ciencias, Antofagasta, Chile

La búsqueda de soluciones para enfrentar la sobredemanda de alimentos ha generado un especial interés en los biofertilizantes. Estos son productos formulados que promueven el crecimiento vegetal por medio de microorganismos con metabolismos o la capacidad de producir metabolitos específicos que tienen un impacto determinante en el desarrollo vegetal. En este contexto, se tiene conocimiento de géneros de bacterias termófilas que poseen propiedades PGP. El objetivo de este estudio fue realizar un análisis *in silico* de los genomas de tres aislados termófilos LB7, NP42 y LB8 obtenidos del Sistema Hidrotermal de Lirima, Chile, con el fin de evaluar a nivel genético propiedades PGP. Mediante las herramientas bioinformáticas antiSMASH, BlastNCBI, Uniprot y BlastKoala se realizó la búsqueda de genes relacionados con la síntesis de sideróforos y auxinas considerados metabolitos con propiedades PGP. Los datos obtenidos indicaron la presencia de clústeres para genes involucrados en la producción y transporte de sideróforos en los tres aislados bacterianos. Para el caso de los aislados LB7 y NP42, los genes identificados para la biosíntesis de sideróforos fueron *sirABC* y *fhuABDG*, y de transporte de hierro (*afuC*). Además, ambos aislados poseen un 100% de similitud con el clúster biosintético para el sideróforo bacillibactin (*dhbABCDE*) y un 60% de similitud con el sideróforo schizokinen. LB8, por otro lado, presenta genes para transporte de sideróforos (*fepCDG*) y tres regiones asociadas a la biosíntesis de sideróforos. Una de las cuales presentó un 62% de similitud para el sideróforo FW0622, mientras que las otras dos regiones no presentaron similitud con algún clúster biosintético conocido. Se identificaron genes para la síntesis de ácido indol-3-acético en las tres cepas en estudio, *trpABCDE* en LB7 y NP42 y *trpABCE* en LB8. Los resultados obtenidos sugieren que los aislados termófilos podrían identificarse como potenciales promotores del crecimiento vegetal. Además de presentar posibles genes y rutas no descritas a la actualidad. Esto siendo un primer avance hacia ensayos para evaluar su uso como potenciales biofertilizantes en cultivos agrícolas.

Keywords: Bacterias termófilas, Plant Growth Promoting, in silico, Sideróforos, Auxinas

Financing: Fondecyt regular 1211515Proyecto PUCV: 039.325/2023

Tipo de presentación: Panel

### **Microbiological characterization of hot springs in the Colina Valley, Santiago de Chile**

#### **Caracterización Microbiológica de Aguas Termales del Valle de Colina, Santiago de Chile**

**Macarena Ormeño Morales**<sup>1</sup>, Valentina Menares Muñoz<sup>1</sup>, Alessandra Sanhueza Milla<sup>1</sup>, Constanza Varas Suárez<sup>1</sup>, Javiera Huenupán Molina<sup>1</sup>, Javiera Torres López<sup>1</sup>, Max Cornejo Delgado<sup>1</sup>, Tomás Fuentes Bozo<sup>1</sup>, Clemente Barros Poblete<sup>2</sup>, Francisco Hernández Molina<sup>1</sup>, María Carolina Otero<sup>3</sup>, Ivania Cortés Cortés<sup>1</sup>

(1) Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello, Santiago Chile

(2) Escuela de Biología Marina, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile

(3) Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile

Las aguas mineralizadas presentes en los balnearios termales poseen una gran carga microbiana que se encuentra coexistiendo y se caracteriza por resistir altas temperaturas. En estas aguas, podemos encontrar microorganismos autóctonos propios de la naturaleza y microorganismos alóctonos contaminantes, pertenecientes principalmente a la microbiota humana. Chile posee escasa información respecto a la calidad microbiológica de sus aguas termales, considerando que algunas de ellas son bastante concurridas por turistas tanto nacionales como extranjeros. El objetivo del presente trabajo fue analizar y describir los grupos bacterianos presentes en las aguas termales del Valle de Colina, en San José de Maipo, Región Metropolitana de Chile. Para el estudio se recolectaron muestras de tres pozas termales de diferentes temperaturas (28°, 37° y 46°C), las cuales fueron analizadas en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Andrés Bello. Mediante la realización de pruebas fenotípicas, bioquímicas y moleculares. Se identificaron un total de 8 especies distintas en cada poza, se observó que la proporción de bacterias Gram positivas y Gram negativas fue de 1:1 en el conjunto total de muestras. Sin embargo, al analizar cada poza de manera específica, se observó una cierta predominancia tanto de bacilos Gram negativos (*Vibrio vulnificus*, *Escherichia coli*) como de cocos Gram positivos (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Streptococcus mitis/oralis*, *Micrococcus luteus*), lo cual se relaciona estrechamente con la temperatura del agua en la que habitan y sus condiciones físico-químicas. En las discusiones y conclusiones, se destaca que tres de las bacterias identificadas pueden representar un posible riesgo sanitario, pues estos microorganismos son claros representantes de muestras de microorganismos de importancia clínica.

**Keywords:** Microorganismos termófilos, bacilos gram negativos, Cocáceas gram positivo, Microorganismos importancia clínica, Aguas termales

**Financing:** Escuela de Tecnología Médica, facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello Escuela de Biología Marina, facultad de Ciencias de la Vida

**Acknowledgments:** Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello Escuela de Biología Marina, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello

Tipo de presentación: Panel

**Plasmid identification in copper-resistant bacteria isolated from Cauquenes Tailing.**

**Identificación de plasmidios en bacterias resistentes a cobre aisladas desde el Relave Cauquenes.**

**Alejandra Oyarzún Mejía**<sup>1,2</sup>, Jaime Ortega<sup>1,2</sup>, Carlos Montiel Vera<sup>1,2</sup>, Mauricio Latorre<sup>1,2,3</sup>

(1) Laboratorio de Bioingeniería, Instituto de ciencias de la ingeniería, Universidad de O'Higgins, Rancagua, Chile

(2) Centro de biología de sistemas para el estudio de comunidades extremófilas de relaves mineros (SYSTEMIX), Universidad de O'Higgins, Rancagua, Chile

(3) Laboratorio de bioinformática y expresión génica, INTA, Universidad de Chile, Santiago, Chile

El relave Cauquenes representa un desafío de adaptación para los organismos que allí residen por sus altas concentraciones de metales, principalmente Cobre. Estos microorganismos que viven ambientes mineros son de particular interés para el estudio de mecanismos moleculares asociados a la resistencia a cobre. En particular, estudiar la presencia, tipo y configuración de los plasmidios nos permitirá entender el rol de estos elementos móviles en la resistencia a metales en especies extremófilas mineras. Este trabajo busca identificar la presencia de plasmidios que codifiquen posiblemente para genes de resistencia a cobre provenientes de bacterias que habitan dos sectores del relave Cauquenes con alta y baja concentración de cobre. Para esto, se aislaron bacterias resistentes a cobre desde muestras de un sector con alta concentración de cobre (hasta 1650 mg Cu/L) denominado sector viejo, y baja concentración de cobre del relave Cauquenes llamada sector nuevo. Se usaron dos medios de cultivo sólidos de forma exitosa para aislar bacterias extremófilas, un medio preparado con extracto de suelo de relave (SEM) y un medio rico en nutrientes Luria-Bertani (LB), ambos suplementados con  $\text{CuSO}_4$  10mM para seleccionar bacterias resistentes al metal. Como resultado, se obtuvo numerosas colonias de color cobrizo ( $n = 68$ ). La asignación taxonómica reveló 31 aislados no redundantes resistentes al metal. A cada una de estas bacterias se les realizó un protocolo clásico de extracción de ADN plasmidial por lisis alcalina y visualización por electroforesis en gel de agarosa. La extracción y posterior separación por electroforesis mostró la presencia de bandas características de ADN plasmidial en sus formas sobreenrollada y circular para un total de 4 aislados resistentes, 12,9% del total, pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Rhodococcus* y *Arthrobacter*. Estos resultados no solo confirman la factibilidad de nuestro método de aislamiento de bacterias resistentes a cobre desde muestras del relave, además sugieren fuertemente que la resistencia a Cobre es una característica contenida en el genoma de las especies. Dentro de las proyecciones biotecnológicas, actualmente los 4 plasmidios están siendo secuenciados, ensamblados y anotados con el propósito de caracterizar tanto la presencia de posibles genes de resistencia a cobre como para otros metales.

Keywords: plasmids, Copper resistance, copper mine tailing, extremophiles, bacteria

Financing: Centro de Modelamiento Matemático (CMM) BASAL ANID FB210005, ANID - Millennium Science Initiative Program - ICN2021\_044, Fondo Interdisciplinario Interno UOH, ANID FONDECYT 1230194, SYSTEMIX ANID ANILLO ACT210004.



Tipo de presentación: Panel

**Population genomic analysis of Defense Systems Against Mobile Genetic Elements in the focal species *Fervidacidithiobacillus caldus*.**

**Análisis genómico poblacional de Sistemas de Defensa Contra Elementos Genéticos Móviles en la especie focal *Fervidacidithiobacillus caldus*.**

**Sebastián Pacheco-Acosta**<sup>1,2</sup>, Gustavo Castro<sup>1,2</sup>, Abraham Zapata<sup>1,2</sup>, Camila Rojas-Villalobos<sup>1,2</sup>, Francisco Issotta<sup>1,3</sup>, Simón Beard<sup>1,2</sup>, Ana Moya-Beltrán<sup>1,4</sup>, Raquel Quatrini<sup>1,2</sup>

(1) Fundación Ciencia y Vida, CTE Ciencia y Vida, Av. Del Valle Norte 725, Huechuraba, Santiago, Chile

(2) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Lota 2465, Providencia, Santiago, Chile

(3) Pontificia Universidad Católica, Departamento Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Alameda 340, Santiago, Chile

(4) Universidad Tecnológica Metropolitana, Departamento de Informática y Computación, Facultad de Ingeniería, Dieciocho 161, Santiago, Chile

*Fervidacidithiobacillus caldus* (ex. *Acidithiobacillus caldus*) is the sole species within a newly recognized bacterial genus of the *Acidithiobacillia* class. In contrast to other acidithiobacilli, strains of *F. caldus* possess a multi-replicon genomic structure, alongside numerous integrated mobile genetic elements (MGEs). These elements mediate horizontal gene transfer and adaptation of the taxon to changing environmental conditions. The diversity and abundance of MGEs within the species incur a substantial genetic cost, and, akin to other bacteria, requires modulation and mitigation by defense systems (DSs). While *F. caldus* genomes encode CRISPR-IV systems whose spacers target segments of plasmid backbone genes from other strains of the species and co-inhabiting taxa, its general repertoire of DSs remains relatively unexplored. Furthermore, little is known about the population-level variability of DSs within the species. In this study, we investigated the defensome of native populations of the *F. caldus*, comparing the DS repertoire at a global level – present in all the species sequenced genomes, and at a local level – present in metagenomes from diverse habitats within the Caviahue-Copahue-ChanchoCó hydrothermal system (CCC), where *F. caldus* thrives. Utilizing various public bioinformatic tools and manual curation strategies, DSs were predicted and classified in 24 global genomes and 25 local metagenome-assembled genomes (MAGs). These analyses confirmed the presence of antiviral DSs (e.g., CRISPR-Cas types I and III) and anti-plasmid DSs (e.g., CRISPR-Cas type IV), both in strains of global and local distribution, many of which co-map within potential defense islands. Additionally, the results revealed an array of non-canonical DSs (e.g., DISARM I, NHI, Wadjet type I) with differential distribution among global strains of the species, and among local CCC populations. Notably, it was observed that in CCC sites where *F. caldus* is dominant, the DSs identified in high-quality MAGs (i.e., those with high completeness and low contamination) are more diverse and ubiquitous compared to sites where species abundance declines. This suggests that such populations are equipped with DSs to cope with a broader range of MGEs, while populations in the lower gradient may be more permissive to MGE entry, thereby promoting species survival and adaptation under suboptimal conditions.

Keywords: Plasmidome, Defensome, acidophile, CRISPR-cas, adaptation

Financing: Fondecyt 1221035; Fondecyt 3230527; Exploración 13220230; Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia de ANID Centro FCV - FB210008; VRID USS - Proyecto VRID\_INTER22/19, Proyecto USS-FIN-23-PDOC-03 (A.M-B.) and PhD scholarship (S.P-A10202936,A.Z.10267159,C.R-V.10218491), Programa de Magister en Biomedicina Molecular (G.C.)

Tipo de presentación: Panel

**Change in the epiphytic bacterial communities of the phyllosphere of Kiwi plants infected with the phytopathogen *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa), under different control strategies.**

**Cambio en las comunidades bacterianas epífitas de la filósfera plantas de Kiwi infectadas con el fitopatógeno *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa), bajo diferentes estrategias de control.**

**Camila Andrea Prince Casarotto**<sup>1</sup>, Sebastián Fuentes Alburquenque<sup>2</sup>, Roberto Bastías Romo<sup>1</sup>

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

(2) Universidad Bernardo O'Higgins, Centro de Investigación en Recursos Naturales y Sustentabilidad, Dirección de Investigación, Innovación y Transferencia Tecnológica, General Gana 1702, Santiago, Chile

El cobre se ha utilizado ampliamente en la agricultura para combatir diversos fitopatógenos, como *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa), causante del cancro bacteriano del Kiwi. No obstante, este compuesto puede causar fitotoxicidad, resistencia bacteriana y contaminación, lo que ha llevado a la búsqueda de otros métodos de control, como los bacteriófagos, los son de origen natural y altamente específicos. Sin embargo, la información de cómo estos tratamientos pueden alterar las comunidades bacterianas en plantas de kiwi es limitada. En este trabajo, se evaluó el efecto de que tiene la aplicación de tratamientos de cobre y bacteriófagos sobre las comunidades bacterianas de la filósfera de huertos productivos de kiwi infectados con Psa. Los tratamientos fueron aplicados durante una temporada completa de producción de kiwi en 2 huertos distintos con condiciones agroclimáticas distintas. Para la extracción de las bacterias epífitas de hojas y flores, éstas fueron lavadas con una solución de MgSO<sub>4</sub> y posteriormente se extrajo el ADN metagenómico. Se secuenció la región hipervariable V4-V5 del gen 16S del ARNr por el método de Illumina Miseq. Las secuencias obtenidas fueron analizadas usando el software QIIME 2 v. 2023.2. Para determinar la estructura de las comunidades bacterianas, las lecturas obtenidas se agruparon en ASV y se asignó una taxonomía a nivel de género utilizando la base de datos Greengenes2 versión 11.10. La diversidad alfa fue calculada utilizando el índice de diversidad filogenética de Faith, mientras que la diversidad beta fue calculada en base a la distancia de Bray-Curtis. La estructura y diversidad de las comunidades bacterianas se mantuvo estable en los diferentes tratamientos aplicados. Por el contrario, los taxones dominantes fueron diferentes en hojas y flores, presentando mayor diversidad en uno de los huertos. Además, se observó una mayor diversidad en la época de floración. En conclusión, los resultados indican que los tratamientos de cobre y bacteriófagos no modifican la estructura y diversidad de las comunidades bacterianas de la filósfera de plantas de kiwi, y que los cambios observados en este estudio se debieron a factores externos como la ubicación geográfica, fenología y órgano de la planta.

Keywords: Comunidades bacterianas, diversidad, biocontrol, cancro bacteriano del Kiwi.

Financing: FONDEF idea ID15I20032

Acknowledgments: Dr. Roberto Bastías

Tipo de presentación: Panel

**The environmental context is the main descriptor of the diversity of basidiomycete fungi associated with *Peltigera* lichens**

**El contexto ambiental es el principal descriptor de la diversidad de hongos basidiomicetes asociados a líquenes *Peltigera***

**Yosbany Pérez Barrios<sup>1,2</sup>**, Katerin Almendras Neira<sup>1,2</sup>, Nayla Serey Suil<sup>1,2</sup>, Diego Ahumada Muñoz<sup>1,2</sup>, Julieta Orlando<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Chile

(2) Instituto Milenio Biodiversidad de Ecosistemas Antárticos y Subantárticos (BASE), Chile

Los líquenes son ecosistemas complejos compuestos por diferentes microorganismos, incluyendo hongos filamentosos y levaduras. Las levaduras basidiomicetes han sido identificadas en asociación con diversas especies de líquenes en todo el mundo, y se han planteado como un nuevo componente esencial de la simbiosis líquénica. Sin embargo, la diversidad de levaduras basidiomicetes en talos y sustratos (i.e. suelo adyacente al líquen) de cuatro especies de líquenes *Peltigera* que crecen en bosques y praderas de cuatro sitios en el sur de Chile. Para esto, utilizamos una aproximación de secuenciación masiva utilizando partidores específicos que amplifican la región ITS de los basidiomicetes. Las secuencias obtenidas se analizaron según la tubería DADA2 y la asignación taxonómica se hizo utilizando la base de datos UNITE. Dentro de la comunidad de hongos basidiomicetes, se identificaron taxones de levaduras pertenecientes a las clases *Cystobasidiomycetes*, *Microbotryomycetes* y *Tremellomycetes*, las cuales se han reportado previamente en otros líquenes. Específicamente, se encontraron secuencias correspondientes a levaduras del orden *Cyphobasidiales* en los talos, las cuales han sido descritas en asociación con varias especies de líquenes, pero este es el primer reporte en líquenes del género *Peltigera*. Además, se encontró un alto porcentaje de hongos que no se lograron asociar a ningún orden, lo que sugiere una alta novedad taxonómica de hongos en estas muestras. Por otro lado, la diversidad de los hongos basidiomicetes fue distinta entre las muestras de talo y sustratos, así como entre los sitios de muestreo, el contexto ambiental (bosque vs. pradera) y la especie de líquen. Sin embargo, el contexto ambiental fue el factor que más influyó en la diversidad de todas las muestras. Este estudio proporciona información novedosa sobre la diversidad de levaduras basidiomicetes presentes en el microbioma de líquenes *Peltigera* y sus sustratos; así como los factores que estarían estructurando las comunidades de hongos basidiomicetes en estos líquenes.

Keywords: *Peltigera*, Líquenes, Diversidad, Levaduras, Basidiomicetes

Financing: FONDECYT 1181510ICN2021\_002Beca de Doctorado Nacional ANID 2019 21190058

Tipo de presentación: Panel

**Effect of heat shock stress and phenological stage of two varieties of *Lupinus luteus* in rhizosphere bacterial community**

**Efecto del estrés por temperatura y el estado de desarrollo fenológico de dos variedades de *Lupinus luteus* sobre la comunidad bacteriana de la rizosfera**

**Pablo Alberto Pérez Courbis**<sup>1,2</sup>, Jacqueline Acuña Sobarzo<sup>2,3,4</sup>, Haroldo Salvo Garrido<sup>5</sup>, Milko Jorquera Tapia<sup>2,3</sup>

(1) University of La Frontera, Doctorate and Master degree on Sciences of Natural Resources, Av. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) University of La Frontera, Laboratory of microbial applied ecology (EMALab), Av. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Universidad de La Frontera, Av. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(4) Centro de Regulación del Genoma es un Instituto Milenio ICN2021-044 apoyado por la Iniciativa científica milenio (ANID)

(5) Centro de genómica Nutricional Agroacuícola (CGNA), Las Heras 350, Temuco, Chile

Chile is one of the countries that is widely exposed to the effects of climate change, mainly due to its geographical diversity and the direct effect of the Pacific Ocean on the climate. This in turn means that agricultural activity is exposed to these variations, among which the sharp increase in temperatures or prolonged droughts stand out. Among the crops that are affected by climate change, we find the yellow lupine (*Lupinus luteus*), a species of wide economic importance for the region of La Araucanía and that also has important nutritional qualities such as high-quality protein. The objective of this work was to investigate the contribution of synergic bacterial consortia formulated with potential PGPR on the tolerance of two lupine variety affected by heat shock at different phenological stages, for which it is important to understand how the native microbiota associated with lupine plants behaves in the face of an abiotic stress stimulus such as heat shock in different phenological stages and how this microbiome is modulated by the root. In this preview of results, the data obtained from the taxonomic characterization and microbial diversity of *L. luteus* rhizosphere plants exposed to heat shock in stages of seedlings and flowering under greenhouse condition will be shown. The 16s rRNA data was obtained using Illumina miSeq technology and processed with different bio informatic tools like QUIIME2, SILVA138 database and vegan2. Within the main results, there are variations in terms of microbial diversity observed both at the level of the phenological state of the plant, as well as influenced by environmental stress, however these are minor. the main variations observed are given by an increase in the genera *Masilia*, *Arthrobacter* and *Sphingomonas*, at phenological stage level of the plants, while at the level of treatments an increase in the relative abundances of the genera *Pseudomonas* and *Burkholderia* was observed. Finally, these results confirm that the variations that occur in the rhizospheric microbiome of plants are directly related to the signals and respond to abiotic stresses, on the other hand, the most important factor that module the microbiome was the phenological stage.

Keywords: *Lupinus luteus*, PGPB, Heat shock, Metagenomics

Financing: National research and development agency (ANID) Scholarship no. 2121127Agro-aquaculture Nutritional Genomics Centre (CGNA) Fondecyt proyect N° 1201388Fondecyt proyect N° 1201386Instituto milenio, Centro de regulación del genoma N° ICN2021\_044

Acknowledgments: National research and development agency (ANID) Scholarship no. 2121127Agro-aquaculture Nutritional Genomics Centre (CGNA) Fondecyt proyect N° 1201388Fondecyt proyect N° 1201386Instituto milenio, Centro de regulación del genoma N° ICN2021\_044

Tipo de presentación: Panel

### **Virulence-Based Screening of Antarctic Soil Bacteria Using *Dictyostelium discoideum***

**Ian Pérez Ramírez**<sup>1</sup>, Gabriela Carrasco<sup>2</sup>, Hugo González<sup>2</sup>, Matías Gálvez<sup>2</sup>, Patricio Arros<sup>2</sup>, Constanza Venegas Anticoi<sup>3</sup>, Marco Campos<sup>3</sup>, Jacqueline Acuña<sup>3</sup>, Milko Jorquera<sup>3</sup>, Verónica Cambiazo<sup>4</sup>, Andrés Esteban Marcoleta Caldera<sup>2</sup>, Francisco Chávez<sup>1</sup>

(1) University of Chile, Systems Microbiology Laboratory (SysmicroLab), Department of Biology, Faculty of Sciences

(2) University of Chile, Integrative Microbiology Group, Department of Biology, Faculty of Sciences

(3) University of La Frontera, Laboratory of Applied Microbial Ecology (EMALAB), Scientific and Technological Center of Bioresources (BIOREN)

(4) University of Chile, Laboratory of Bioinformatics and Gene Expression, National Institute of Food Technology, INTA

The harsh environmental conditions of the Antarctic have led to the evolution of unique microbial communities with potential biotechnological applications. However, identifying novel microorganisms with relevant properties is still challenging due to the low culturability of many of these microorganisms. However, these communities remain largely functionally unexplored, especially concerning virulence factors. In this study, we aimed to identify and functionally characterize novel virulence factors present in Antarctic soil bacteria using a combination of culturomics and virulence-based analysis. To achieve this, we collected soil samples from various locations on the Antarctic Peninsula and cultured the bacteria using a range of selective and non-selective media. We selected diverse bacterial isolates from traditional and in situ (iChip) cultures for further analysis based on colony morphology, Gram stain, partial 16S rRNA gene and genome sequencing. We used various functional agars containing specific nutrients and dyes that allow for the detection of virulence-associated characteristics such as protease activity, hemolysis, and pigment production to screen for virulence factors. Finally, the amoeba *Dictyostelium discoideum* was used as a model organism to determine bacterial pathogenic potential using phagocytic and social development assays on selected bacterial isolates. Our results showed that several Antarctic soil bacterial isolates possessed pathogenic potential, as indicated by the *D. discoideum* assays and virulence agars. Further characterization of these virulence factors will contribute to our understanding of the adaptation of microorganisms to extreme environments and may lead to the discovery of novel virulence factors. Our study provides a comprehensive approach to screening and characterizing virulence factors in environment soil bacteria using culturomics and functional analysis. This approach may help discover novel virulence factors in other extreme environments and has implications for developing new antimicrobials.

Keywords: Antarctic Peninsula, microbial communities, soil samples, virulence factors

Financing: Project Anillo ACT210044; ANID Ph.D. Scholarship 2022-21232343

Tipo de presentación: Panel

**Exploring the phylogenetic origins of the denitrification and nitrogen fixation pathways in the *Ambacidithiobacillus* genus**

**Sofía Reyes-Impellizzeri**<sup>1,2</sup>, Ana Moya-Beltrán<sup>1,3,4</sup>, Camila Rojas-Villalobos<sup>1,3</sup>, Francisco Issotta<sup>1,5</sup>, Yasna Gallardo<sup>1</sup>, Mauro Degli-Esposti<sup>6</sup>, Raquel Quatrini<sup>1,2</sup>

(1) Fundación Ciencia y Vida, CCTE Ciencia y Vida, Av. Del Valle Norte 725, Huechuraba, Santiago, Chile

(2) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Lota 2465, Providencia, Santiago, Chile

(3) Universidad San Sebastián, Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño, Lota 2465, Providencia, Santiago, Chile

(4) Universidad Tecnológica Metropolitana, Departamento de Informática y Computación, Facultad de Ingeniería, Santiago 7800002, Santiago, Chile

(5) P. Universidad Católica, Departamento Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Alameda 340, Santiago, Chile

(6) UNAM campus Morelos, Center for Genomic Sciences, Cuernavaca, Mexico

The *Acidithiobacillia* class consists of a group of Gram-negative, chemolithoautotrophic, acidophilic bacteria capable of oxidizing sulfur compounds and, in some cases, also iron. Like other acidophiles, the acidithiobacilli struggle to maintain near-neutral cytoplasmic pH values. This is usually achieved by inverting the trans-membrane electrical potential, which is positive inside, by active influx of cations, such as K<sup>+</sup>. While this adaptation confers protection against cations such as metals, it also makes acidophiles more sensitive to anions like nitrate. For this reason, dissimilatory nitrate reduction metabolic functions are absent in acidophiles. Recently, a new genus of *Acidithiobacillia* has been identified, that features several intriguing characteristics: (1) it is capable of growth at both acidic and neutral pH, (2) it encodes genes for nitrogen fixation, as well as (3) genes for dissimilatory nitrate reduction (denitrification). For its dual character, this novel genus has been provisionally named '*Ambacidithiobacillus*'. Currently, this genus comprises a single characterized species and strain, *Ambacidithiobacillus sulfuriphilus* CJ2, which has been traced as the closest common ancestor of the acidophilic branch of the class.

In this study, we report several novel MAGs pertaining to '*Ambacidithiobacillus*', recovered from the Copahue-Caviahue-Chanchocó (CCC) hydrothermal system in Patagonia. Using comparative genomics and phylogenetic methods, we focused on elucidating the evolutionary origins of the mechanisms of nitrogen fixation and denitrification in *Ambacidithiobacillus*. To this end, we assessed the occurrence and conservation of nitrogen fixation and denitrification genes in the genomes and MAGs of the group. By gathering additional evidence, such as phyletic patterns and contextual information contained in the genomes analysed, along with MGE predictions, we robustly classified the genes as core, flexible and/or mobilome. Our results suggest that nitrogen fixation follows a line of vertical descent, while the denitrification genes, including the key nitric oxide reductase complex, were acquired by horizontal transfer from species foreign to the class. Altogether, our results classify *A. sulfuriphilus* as a dual nitrogen fixing and denitrifying bacterium, yet not all species of the genus may share these characteristics. Proof of the activity of both metabolisms is still lacking, as is the definition of the conditions under which they occur.

Keywords: denitrification, nitrogen fixation, *Ambacidithiobacillus*, acidophiles

Financing: Fondecyt 1221035, Fondecyt 3230527, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia Centro Ciencia & Vida - FB210008, Vicerrectoría de Investigación y Doctorados de la Universidad San Sebastián, Project USS-FIN-23-PDOC-03 and PhD Scholarship (S.R-I. 10267181 /C.R-V. 10218491).

Tipo de presentación: Panel

### **Microbiome engineering optimized Antarctic microbiota support a plant host under water deficit**

**Rodrigo Rodríguez**<sup>1</sup>, Patricio Barra Espinoza<sup>1,2</sup>, Giovanni Larama<sup>1</sup>, Maria de la Luz Mora<sup>2</sup>, Paola Duran<sup>3</sup>

(1) Laboratorio de investigación en biocontrol, Universidad de La Frontera, Av. Francisco Salazar 1145, Temuco, Chile

(2) Centro de Interacción Planta-Suelo y Biotecnología de Recursos Naturales, Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos, Universidad de La Frontera, Av. Francisco Salazar 1145, temuco, chile

(3) Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medio ambiente, Universidad de la Frontera, Av. Francisco Salazar 1145, temuco, chile

Modern agriculture is being challenged by climate change to develop eco-friendly solutions that can mitigate the effects of (a) biotic stresses. One promising avenue is the use of soil microbiomes from extreme environments to discover new microorganisms and their functions in plant protection<sup>1</sup>. In a recent study, we demonstrated the effectiveness of a novel Resilient microbiome generated through Host Mediated Microbiome Engineering, Cry for Help phenomenon and soil transference in promoting plant growth under water stress. For this, soils from different locations in Antarctic continent were collected and used as microbiome donors. These soils were mixed with a Andisol soil (receptor soil), and the soil mixtures were used to grow tomato plants. Tomato seedlings were subjected to water deficit stress and were maintained until symptoms were evident. At this time, the plants were harvested, and new seeds were sown in the same mixture soil. This process was repeated for 10 generations and well-watered plants were used as control. Our results revealed that: 1. Several bacterial strains (determined using Next-Generation Sequencing) coming from Antarctic soils remained for 2 years (i.e., after 10 generations) within the microbiota of the receiving soil. 2. After 7 generations, water stress tolerance was significantly improved in all soil mixtures, and the unmixed Andisol, which was evidenced as higher biomass, symptom onset time, proline content and general condition of the plant. 3. The rhizosphere soil microbiota structure and abundance were also significantly modified over time. We attribute this improvement in water deficit tolerance to the selection and shaping of an associated resilient microbiome by the plant through the process of cry for help, and the consequent 'protective activity' of this microbiome. Metabarcoding results showed that the resilient microbiome (after 10 generations), was mainly composed of *Candidatus Udaeobacter*, *Bradyrhizobium* spp., *Acidothermus* spp., *Sphingomonas* spp., *Bacillus* spp., *Candidatus solibacter* and *Candidatus Nitrosocosmicus*. We hypothesize that *C. nitrosocosmicus* (archaea) and *Bacillus* spp. (bacteria) could be key microorganisms for the increase in water stress tolerance in tomato seedlings. We proposed that in situ microbiota engineering through the evolution of tridimensional factors could represent a promising strategy for novel generation of microbial inoculants.

Keywords: Antarctic Microbiome, Sustainable Agriculture, Climate Change, Microbiome transplant, Water deficit

Financing: This study was supported by Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID)-FONDECYT regular project No. 1201196, Initiation project 11200377 and Ph.D. grant ANID-No. 21180649. The authors also thanks to Concurso Anillos de Investigación en Áreas Temáticas Específicas ATE220038.

Tipo de presentación: Panel

**Rare bacterial blooms of a polyextreme microbial community: A microcosm experiment of multiple stressors (Salar de Huasco, Chile)**

**Floraciones bacterianas raras de una comunidad microbiana poliextrema: Un experimento de microcosmos de múltiples factores estresantes (Salar de Huasco, Chile)**

**Sebastián Rodríguez-Beltrán**<sup>1,2</sup>, Vladimir Ávalos<sup>2,3</sup>, Nicolas Miranda<sup>2</sup>, Martha Hengst<sup>4</sup>, Wade Jeffrey<sup>7</sup>, Verónica Molina<sup>5,6</sup>, Pablo Aguilar<sup>1,2</sup>, Raquel Rodríguez-Martínez<sup>1,2,8</sup>, Cristina Dorador<sup>1,2,8</sup>

(1) Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Angamos 601, Antofagasta, Chile

(2) Centre for Biotechnology & Bioengineering (CeBiB) Santiago, Chile.

(3) Centro de Bioinnovación Antofagasta (CBIA), Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.

(4) Departamento de Ciencias Geológicas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.

(5) Departamento de Ciencias y Geografía, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas y HUB Ambiental UPLA, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile.

(6) Centro COPAS Coastal, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

(7) Center for Environmental Diagnostics and Bioremediation, University of West Florida, Pensacola, FL, USA.

(8) Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.

Microbial communities consist of a limited number of abundant species and an extraordinarily diverse community of low abundant species called "rare biosphere". Most bacterial taxa are present in low abundance as rare members within highly diverse ecosystems, such as the Salar de Huasco. This high-altitude wetland (3800 m a.s.l.) located in the Chilean Altiplano exhibit poly-extreme environmental conditions including high solar irradiance (>1000 W/m<sup>2</sup>), wide range of salinity (1 to 150 PSU), and thermal oscillations (-10 to +25°C). These conditions are associated with constant change in microbial communities temporally and spatially. Nevertheless, relatively little is known about the processes and mechanisms promoting the development and maintenance of the rare biosphere. It is proposed that a microbial community faced with multiple stressful physicochemical factors would be associated with changes in its activity and succession dynamics, enhancing the change in the members of the rare members. Here, an experimental approach microcosm was developed, using an inoculum from a microbial mat cultivated in low-nutrient-heterotrophic medium with different environmental stressors (incremental salinity, ultraviolet exposure, and combined) for 60 days under controlled conditions. Changes in diversity and community composition were assessed using a massive sequencing approach (Illumina). We found that there are significant differences in secondary activity, diversity, abundance, and composition in bacterial taxa, being affected by the physicochemical conditions of the initially identical communities. Furthermore, a bloom in the relative abundance (up to 98%) of Gammaproteobacteria occurred in all microcosms. After this dominance, rare members are identified that transcended to abundant, some unique for treatments that differs from control. Contribution of rare biosphere in maintaining the stability of the community was evident, acting as a backup system against drastic environmental alterations, being a genetic reservoir with capacities to withstand these adverse conditions and substantial for community resilience, supporting the concept of "conditionally rare taxa", where very low abundance is a temporary state conditioned by environmental constraints. Therefore, it's crucial to understand the succession dynamics across temporal scales to highlight the response of rare biosphere to extreme conditions, considered close to limit of life.

Keywords: Rare biosphere, Salar de Huasco, Conditionally Rare Taxa, Temporal dynamics, Resilience

Financing: CeBiB FB00001

Acknowledgments: A special thanks for the members and former members of the LACOMEF.



Tipo de presentación: Panel

**Isolation and characterization of bacteriophages from marine water of the Antarctic Peninsula under the context of climate change**

**Aislamiento y caracterización de bacteriófagos provenientes de agua marina la Península Antártica bajo el contexto de cambio climático**

**Ninoska Rojas<sup>1</sup>**, Daniel Araneda Reveco<sup>1</sup>, Nicolas Plaza<sup>2</sup>, Gastón Higuera<sup>3</sup>, Jorge Olivares Pacheco<sup>4</sup>, María Estrella Alcaman Arias<sup>5</sup>, Pantelis Katharios<sup>6</sup>, Katherine García<sup>2</sup>, Roberto Bastías<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Avenida Universidad 330, Valparaíso, Chile

(2) Universidad Autónoma de Chile, Centro de Investigación Biomédica, Facultad de Ciencias de la Salud, Av. El Llana Subercaseaux 2801, San Miguel, Santiago, Chile

(3) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los alimentos (INTA), Av. El Líbano 5524, Macul, Santiago, Chile

(4) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales (GRABPA), Instituto de Biología, Ciencias, Avenida Universidad 330, Valparaíso, Chile

(5) Universidad del Desarrollo, Centro de Investigación en tecnologías para la sociedad (C+), Facultad de Ingeniería, Concepción, Chile

(6) Hellenic Centre for Marine Research, Institute of Marine Biology, Biotechnology and Aquaculture, Heraklion 71003, Creta, Grecia

Los bacteriófagos dominan la mayoría de los ecosistemas marinos y juegan un papel crucial en su funcionamiento, productividad primaria y regulación de las poblaciones bacterianas. Los ambientes antárticos no son la excepción a este fenómeno. Sin embargo, los sistemas bacteriófago-huésped han sido escasamente explorados en los ambientes marinos antárticos, los que además pueden verse fuertemente afectados por el cambio climático. El objetivo del trabajo es caracterizar bacteriófagos provenientes de ambientes marinos antárticos y evaluar la dinámica de sus interacciones bajo distintas condiciones ambientales asociadas al calentamiento global. Para esto se tomaron muestras de agua marina superficial y a 15 m bajo superficie desde Bahía Sur, ubicada en Isla Doumer, Península Antártica. Las muestras fueron filtradas a través de una bomba peristáltica para el aislamiento *in situ* de bacterias y el enriquecimiento de bacteriófagos, los cuales fueron aislados y propagados por el método de ensayo de doble capa y se estudió el rango de hospedero de cada fago. Se logró aislar 27 bacteriófagos utilizando 4 bacterias marinas antárticas como hospedero. Los bacteriófagos generaron dos tipos de placas de lisis. Un análisis de rangos de hospedero reveló distintos patrones de infección entre los bacteriófagos aislados, lo que sugiere posible existencia de distintos fagos. Por otro lado, análisis preliminares han mostrado que los bacteriófagos alterarían su infectividad a distintas temperaturas, lo que podría ser un reflejo de lo que podría ocurrir en un escenario futuro de calentamiento global. A nuestro entender, estos serían los primeros bacteriófagos aislados desde ambientes marinos antárticos. Esperamos que la comprensión de las interacciones bacteriófagos-huésped ayude a entender el funcionamiento de los ecosistemas en las regiones marinas de la Península Antártica, que actualmente son las más afectadas por el calentamiento global.

Keywords: bacteriófagos, calentamiento global, Península Antártica

Financing: Proyecto INACH 27\_21

Acknowledgments: Instituto Antártico Chileno (INACH)

Tipo de presentación: Panel

**Determination of bacteria associated with plastisphere in a landfill in the Biobío region.**

**Determinación de bacterias asociadas a la plastisfera en vertedero de la región del Biobío.**

**Daniela Rojas**<sup>1</sup>, Mauricio Schoebitz<sup>2</sup>, Andrés Felipe Opazo-Capurro<sup>1</sup>

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de ciencias biológicas, Concepción, Chile

(2) Universidad de Concepción, Laboratorio de microbiología de suelos, Facultad de agronomía, Concepción, Chile

**Introducción**

La plastisfera es la comunidad microbiana en la superficie de partículas de plástico, se ha observado variedad de microorganismos en la plastisfera, lo que sugiere funciones ecológicas específicas. Los estudios sobre la plastisfera se han centrado en ecosistemas acuáticos, suelos y plantas de tratamiento de aguas. La composición de la plastisfera está influenciada por el tipo de plástico. El estudio se enfoca en investigar el componente bacteriano de la plastisfera en un vertedero.

**Metodología**

El sitio de interés corresponde a un vertedero de 39 años de antigüedad ubicado en el sector de playa del humedal Rocuant-Andalién en la comuna de Talcahuano, Biobío, Chile. Se realizó una toma de muestra a lo largo del perfil expuesto del vertedero (1200m) cada 200m y por triplicado, obteniendo un total de 18 muestras y 3 controles en sitios adyacentes visiblemente libres de contaminación por basura. Se identificaron trozos de plástico mediante FT-IR. Se obtuvieron imágenes de la superficie de las partículas de plástico mediante SEM.

**Resultados**

En las muestras se logró identificar cuatro tipos de plástico: poliestireno (PS), cloruro de polivinilo (PVC), polietileno de alta densidad (HDPE) y polietileno de baja densidad (LDPE). Las imágenes obtenidas por microscopía evidencian heterogeneidad estructural de la superficie de los residuos plásticos, la presencia de microorganismos con forma de bacilos largos, cortos, cocáceas y filamentosas en la superficie del material, formando agrupaciones de tamaño reducido y sin clara evidencia de formación de biopelícula. Exceptuando el LDPE en el cual no se observó presencia de microorganismos.

**Conclusiones**

Se logró identificar los tipos de plásticos en las muestras, y observar pequeñas comunidades microbianas de la plastisfera en la mayoría de las muestras, en donde los resultados sugieren una diferencia en la cantidad y variedad de microorganismos dependiente de la muestra observada y del tipo de plástico.

**Keywords:** Microbial communities, Plastisphere

**Financing:** Fondecyt Regular 1220425

**Acknowledgments:** Laboratorio de microbiología de suelos, Facultad de agronomía, Universidad de Concepción. Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos, Facultad de ciencias biológicas, Universidad de Concepción.

Tipo de presentación: Panel

### **Structure and lifestyle of the native microbial communities across the Copahue-Caviahue-ChanchoCó geothermal system**

**Camila Rojas-Villalobos**<sup>1,2</sup>, Francisco Issotta<sup>1,3</sup>, Fernando Díaz-González<sup>1,4</sup>, Sofía Reyes-Impellizzeri<sup>1,4</sup>, Abraham Zapata<sup>1,4</sup>, Ricardo Ulloa<sup>5</sup>, Gloria Levicán<sup>6</sup>, Alberto Martín<sup>1,2</sup>, Tomás Pérez-Acle<sup>1,2</sup>, Beatriz Diez Moreno<sup>3</sup>, Pedro Temporetti<sup>7</sup>, Alejandra Giaveno<sup>5</sup>, Raquel Quatrini<sup>1,4</sup>

(1) CCTE Ciencia y Vida, Fundación Ciencia y Vida, Av. Del Valle Norte 725 Huechuraba, Santiago, Chile.

(2) Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño, Universidad San Sebastián, Lota 2465 Providencia, Santiago, Chile.

(3) Departamento Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas P. Universidad Católica, Alameda 340, Santiago, Chile.

(4) Facultad de Medicina y Ciencia, Universidad San Sebastián, Lota 2465 Providencia, Santiago, Chile.

(5) PROBIEN (CCT Patagonia Confluencia-CONICET, UNCo), Departamento de Química Facultad de Ingeniería Universidad Nacional del Comahue, Neuquén, Argentina

(6) Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago 9170022, Chile

(7) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA), Centro Regional Universitario Bariloche-UNComahue CCT-Patagonia Norte CONICET, San Carlos de Bariloche 8400, Argentina

The Agrio River (RA) is an Andean watercourse of volcanic-glacial origin, which presents a wide gradient of pH, temperature, and conductivity. These conditions generate transitions from extremely acidic to slightly alkaline habitats, where distinctive microbial communities proliferate. These communities are of interest in mining and environmental remediation biotechnologies. Previous studies based on 16S rRNA have shown the existence of a rich diversity of extremophilic prokaryotes along this gradient. However, to date, the contribution of the various environments of the system in determining the observed community structures is unexplored. In this study, we used a metagenomic approach to analyze the lifestyles of the microorganisms present in the system, their distributions and concurrences, and the changes occurring along the gradient. Through a mixed approach, based on literature data mining and analysis of diagnostic genes present in the metagenomes of the system, the taxa-lifestyle relationships were predicted for microorganisms of abundance greater than 1%. The results were integrated using concurrence networks, locally (site-habitat). Relative abundance data was used to establish the distribution ranges of the various types of microorganisms identified. The analysis revealed varying degrees of community overlap between sites, consistent with habitat boundaries defined from multivariate analysis of environmental metadata. The lifestyles of the microorganisms present in the system, linked to the sulfur, iron and carbon cycles, distribute differentially along the gradient, as well as the lifestyles linked to the adaptation to pH. While acidophilic-chemolithotrophic-autotrophs are more abundant in Upper RA, neutrophilic chemoorganotrophic heterotrophs dominate Lower RA. Acid-tolerant mixotrophs and organotrophs occur in a transition zone. Regarding temperature, RA is dominated by mesophiles, with the presence of mesothermophiles and psychrophiles, or psychrotolerants in the Upper and Lower RA, respectively. The microorganisms contributed by the surrounding environment (soil, vegetation, meteoric or melt water) constitute minor components of the studied communities. Conjointly, the results generated shed new light on the comprehension of the assembly rules of microbial communities in extreme acidic systems.

**Keywords:** Microbial Communities, Lifestyle, Community structure, Extreme environments, Extremophile

**Financing:** Fondecyt 1221035;Fondecyt 3230527; Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia de ANID Centro Ciencia & Vida-FB210008; Vicerrectoría de Investigación y Doctorados de la Universidad San Sebastián - Proyecto USS-FIN-23-PASD-02,Proyecto VRID\_INTER22/19 and PhD scholarship (C.R-V.10218491/F.D-G.10202955/S.R-I.10267181/A.Z.10267159).

Tipo de presentación: Panel

**Functional Diversity of Biocrusts in Arid and Subantarctic Ecosystems: Insights from Microbial Community Analysis**

**Diversidad Funcional de Biocrusts en Ecosistemas Áridos y Subantárticos: Análisis de la Comunidad Microbiana**

**Manuel Saldivar-Diaz**<sup>1,2</sup>, Giovanni Larama<sup>1</sup>, Carolina Merino<sup>3</sup>, Patricio Javier Barra<sup>1,4</sup>, Paola Duran<sup>1,4,5</sup>

(1) Biocontrol Research Laboratory, Universidad de La Frontera, Francisco Salazar 1145, Temuco, Chile

(2) Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Francisco Salazar 1145, Temuco, Chile

(3) Laboratorio de Geomicrobiología, Universidad de La Frontera, Francisco Salazar 1145, Temuco, Chile

(4) Center of Plant, Soil Interaction and Natural Resources, BIOREN, Universidad de La Frontera, Francisco Salazar 1145, Temuco, Chile

(5) Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, Universidad de La Frontera, Francisco Salazar 1145, Temuco, Chile

Elevated CO<sub>2</sub> levels from human activities, causing a 50% surge since pre-industrial times, pose urgent global concerns amid climate change. Several initiatives have been launched to increase soil carbon sequestration, highlighting the vital role of soil-plant-microorganism systems. Biocrusts constitute an association between soil particles and photoautotrophic and heterotrophic organisms, predominantly thriving in arid regions. They have become of scientific interest because they improve carbon sequestration in soil. Chile's climatic diversity favours its development in diverse ecosystems such as the Atacama Desert and the sub-Antarctic zones. However, the functional distinctions that differentiate biocrusts from contrasting ecosystems have been the subject of limited research. This study aims to discern functional differences in biocrusts from two distinct environments: the Atacama Desert and the subantarctic regions of southern South America. The functional profiles of the microbial communities of four biocrusts, two from each ecosystem, were assessed using 16S rRNA gene amplicon-based FAPROTAX analysis. Additionally, LEfSe analysis was performed on 16S rRNA amplicon data to identify characterizing features that likely explain inter-class differences, combining statistical significance with biological coherence and relevance. FAPROTAX functional profiling indicated that microbial communities in Atacama Desert and one subantarctic (TDF) biocrusts were functionally characterized by nitrogen fixation, ureolysis, and cellulolysis, with greater representation in Atacama Desert biocrusts. In contrast, the other subantarctic sample (TDP) showed functionalities linked to hydrocarbon degradation, nitrate reduction, and nitrate respiration. LEfSe identified differential biomarker phyla for Atacama Desert biocrusts as Actinobacteriota, Acidobacteriota (LFL), and Bacteroidota, Myxococcota (VDL). Subantarctic biocrusts featured Proteobacteria (TDP) and Chloroflexi, Verrucomicrobiota (TDF) as distinguishing biomarkers. Genus-level biomarkers for the Atacama Desert included Massilia, Burkholderia (LFL), and Bacteroidota, Myxococcota (VDL), while subantarctic biocrusts were marked by Halomonas, Nitriliruptor (TDP), and Gaiella, Candidatus Xiphinematobacter (TDF). This study reveals distinct functional profiles of microbial communities in biocrusts from the Atacama Desert and subantarctic regions, reflecting specific regional conditions. Functional and taxonomic markers identified offer valuable insights into microbial groups and specific functions characterizing biocrust types across diverse areas. However, FAPROTAX is only a prediction based on the taxonomic classification provided by the 16S data, not necessarily an indication that these functional processes are present.

Keywords: Climate change, Functional profiling, Ecosystem services, FAPROTAX, Carbon dioxide

Acknowledgments: This study has been carried out thanks to contributions from the following projects: Regular FONDECYT Project 1201196, FONDECYT Iniciacion Project 11200377, National Doctorate ANID Scholarship 21212193, Anillos Tematicos Project ATE 220038, Nexer Project DNX 22-009.

Tipo de presentación: Panel

### **Microbial diversity of the soil of the Alerce Costero National Reserve**

#### **Diversidad microbiana del suelo de la Reserva Nacional Alerce Costero**

**Oscar Alexis Salgado Salgado**<sup>1,2</sup>, Oscar Thiers<sup>5,6</sup>, Gerhardt Shuring<sup>4</sup>, Nammalwar Sriranganathan<sup>4</sup>, Oscar Martínez<sup>3,5</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Alameda 340, Santiago, Chile

(2) Universidad Adventista de Chile, Núcleo de Ciencias Naturales y Exáctas, Camino a Tanilvoro sn Km 13, Chillan, Chile

(3) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Campus Isla Teja, Valdivia, Chile

(4) Virginia Polytechnic Institute and State University, Center for One Health Research, Department of Biomedical Sciences and

Pathobiology, Virginia-Maryland College of Veterinary Medicine, Blacksburg, VA, Blacksburg, VA, USA

(5) Universidad Austral de Chile, Centro de Investigación en Suelos Volcánicos (CISVo), Valdivia, Chile

(6) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bosques y Sociedad, Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Forestales, Isla

Teja, Valdivia, Chillán

Los bosques templados lluviosos costeros de la Región de Los Ríos (Chile) han sido designados como un hotspot de biodiversidad y conservación. Esto principalmente por la presencia de especies vegetales, entre las que destaca el Alerce (*Fitzroya cupressoides*), conífera protegida por ley debido a su alto riesgo de extinción. Estos bosques han sido estudiados debido al alto grado de endemismo vegetal que presentan, sin embargo, existen pocos estudios microbiológicos. En específico, no se han realizado estudios metagenómicos de las comunidades microbianas que habitan el suelo de este ecosistema, a pesar de las características únicas del ambiente, dentro de las que destacan la longevidad de sus especies vegetales y los bajos niveles de polución. Los microorganismos del suelo de bosques están en estrecha interacción con la vegetación, jugando un rol importante en el funcionamiento del ecosistema, por lo tanto, resulta necesario el conocimiento de las comunidades edáficas para la conservación de los bosques de alerce. En este estudio se describieron las comunidades microbianas (bacterias, arqueas, hongos y protistas) de seis puntos de la Reserva Nacional Alerce Costero. Los puntos fueron seleccionados según la edad del bosque (<80 años, entre 100 y 200 años, >200 años) y muestreando a dos profundidades (0-20, 20-40cm). Los análisis de diversidad fueron hechos en R con la herramienta PhyloSeq. Los resultados muestran que existen diferencias significativas en cuanto al índice de diversidad de Shannon, encontrándose los mayores valores promedios en la comunidad bacteriana, seguida de hongos, protistas y arqueas. Además, se observó que los phyla *Actinobacteria* y *Chloroflexota* son significativamente más predominantes en superficie (0-20cm) y profundidad (0-40cm), respectivamente. Los análisis de diversidad beta (nMDS) revelaron que la mayoría de los grupos microbianos estudiados forman grupos de disimilitud según profundidad de la muestra, aunque en algunos casos las muestras de la misma edad del bosque muestran menor disimilitud (protistas <80 años, por ejemplo). Estos resultados muestran una alta diversidad microbiana en el suelo de la reserva, la que presenta diferencias según profundidad y edad del bosque, con una mayor abundancia de grupos consumidores de materia orgánica en superficie, y con comunidades similares según edad, respectivamente.

Keywords: soil microbiome, forest, Alerce, *Fitzroya cupressoides*, fungi

Financing: Iniciativa de Investigación UNACH-2023-186; Vicerrectoría de Investigación, Desarrollo y Creación Artística Universidad Austral de Chile

Tipo de presentación: Panel

**Exploring mining bacterial biodiversity: identification and characterization of isolates from the Cauquenes tailing**

**Explorando la biodiversidad bacteriana minera: identificación y caracterización de aislados desde el Relave Cauquenes**

**Gladis Serrano**<sup>1,2</sup>, Gabriel Gálvez<sup>1,2</sup>, Jaime Ortega<sup>1,2</sup>, Mauricio Latorre<sup>1,2,3</sup>

(1) Laboratorio de Bioingeniería, Instituto de Ciencias de la Ingeniería, Universidad de O'Higgins, Rancagua, Chile

(2) Centro de biología de sistemas para el estudio de comunidades extremófilas de relaves mineros (SYSTEMIX), Universidad de O'Higgins, Rancagua, Chile

(3) Laboratorio de bioinformática y expresión génica, INTA, Universidad de Chile, Santiago, Chile

El relave Cauquenes es el relave de cobre activo más antiguo en Chile (región de O'Higgins, El Teniente-CODELCO). Este alberga comunidades microbianas que datan la historia de la minería de cobre desde 1936 a la fecha. Es una fuente única de microorganismos extremófilos, pues se caracteriza por tener elevadas concentraciones de metales (principalmente, cobre), pH ácido (2.4-4.0) y un amplio rango de temperatura (-10 a 30°C). Dichas condiciones suscitan el interés por el descubrimiento de microorganismos con potenciales biotecnológicos. En este trabajo, desde distintas zonas del relave se tomaron 36 muestras de suelo y se guardaron en condiciones estériles. Posteriormente, se inocularon en distintos medios de cultivo, pH y temperatura con la finalidad de obtener microorganismos aislados. Una vez aislados se procedió a realizar una caracterización microbiológica, bioquímica y molecular. A la fecha se han logrado aislar 658 bacterias nativas del relave Cauquenes. Un análisis filogenético (secuenciación del 16S) permitió identificar a las familias *Pseudomonadaceae* y *Micrococcaceae* como las más representadas dentro del conjunto de aislados. Dentro de ellas, en términos biotecnológicos, 38 especies resistentes a Cobre (viabilidad sobre 10 mM de  $\text{CuSO}_4$ ), 6 bacterias con características potencialmente promotoras del crecimiento de plantas (PGP) y 11 especies con capacidad de solubilización de fosfato. Estas especies actualmente forman parte de la primera colección de especies bacterianas provenientes del relave Cauquenes (Cepario Systemix). Esperamos que este esfuerzo de aislamiento, caracterización e identificación no sólo permitan entender la adaptación de los microorganismos a un medio extremo y su posible potencial biotecnológico, sino también cómo estas especies han sido capaces de adaptarse a lo largo del tiempo en base a las condiciones extremas que alberga el relave Cauquenes.

Keywords: Relave, Cobre, Extremófilos, Biotecnología

Financing: Centro de Modelamiento Matemático (CMM) BASAL ANID FB210005, ANID – Millennium Science Initiative Program – ICN2021\_044, Fondo Interdisciplinario Interno UOH, ANID FONDECYT 1230194, SYSTEMIX ANID ANILLO ACT210004. Beca ANID 21211367 y 21220593.

Tipo de presentación: Panel

**Prospecting the plant growth promotion potential of *Rugamonas* sp. T1-13 isolated from Antarctic soils.**

**Prospección del potencial como promotora del crecimiento vegetal de *Rugamonas* sp. T1-13 aislada desde suelos de la Antártica**

**Carolina Unamuno**<sup>1</sup>, Victoria Palma<sup>1</sup>, Fabián Cuadros<sup>1</sup>, Roberto Bastías<sup>2</sup>, Carolina Yáñez<sup>1</sup>, María Estrella Alcaman<sup>3</sup>

(1) Grupo de Ecología Microbiana de la Rizósfera, Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Av. Universidad 330, Valparaíso, Chile

(2) Grupo de Bacteriófagos e Interacciones Microbianas, Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Av. Universidad 330, Valparaíso, Chile

(3) Centro de investigación en Tecnologías para la Sociedad, C+, Facultad de Ingeniería, Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile

La agricultura se ha visto fuertemente impactada por los procesos de cambio climático, no tan solo por episodios de sequía y las alzas en las temperaturas sino también por las heladas. Estas bajas temperaturas pueden causar daños a nivel celular y de tejidos en las plantas, dejándolos vulnerables a enfermedades y plagas. Por esta razón, es necesario buscar estrategias que permitan mitigar los impactos de estas temperaturas mínimas y fomentar el crecimiento de las plantas. Trabajos previos en nuestro laboratorio permitieron el aislamiento desde suelos de la Antártica chilena de *Rugamonas* sp. T1-13. Sin embargo, aún no se ha descifrado el potencial genético de esta bacteria. El objetivo de este estudio fue identificar genes relacionados con caracteres promotores del crecimiento vegetal (PGP) en *Rugamonas* sp. T1-13. Para ello, se realizó la secuenciación del genoma mediante Illumina HiSeq. El ensamblaje se efectuó mediante la herramienta SPAdes y la predicción de proteínas con el programa PROKKA. Se identificaron rutas y genes implicados en la síntesis de ácido 3-indolacético, transporte de hierro (metalóforos) y producción de quitinasa. Además, luego del análisis en antiSMASH, se identificó el clúster completo de producción de violaceína, compuesto que ha sido estudiado por diversos autores por su actividad antimicrobiana. Para evidenciar esta actividad, se realizó un ensayo de estrías cruzadas de *Rugamonas* sp. T1-13 sobre fitopatógenos, en el que se observó inhibición del crecimiento de la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Los resultados obtenidos sugieren que *Rugamonas* sp. T1-13 tiene potencial como PGP y podría vivir en asociación con plantas. Ensayos futuros incluyen la evaluación de estas propiedades PGP a bajas temperaturas para así proyectar el uso de T1-13 en aplicaciones agronómicas en un escenario de cambio climático.

Keywords: Psicrófila, plant growth-promoting bacteria, Violaceína, Antártica

Financing: PROYECTO DI REGULAR 039.325/2023

Tipo de presentación: Panel

**Implementation of computational-genomic strategies for the systematic analysis of nasopharyngeal microbiome in children**

**Implementación de estrategias genómico-computacionales para el análisis sistemático del microbioma nasofaríngeo infantil**

**Guillermo Valdivia**<sup>6</sup>, Gabriel Krüger<sup>1</sup>, Nicolás Pacheco Camus<sup>1</sup>, Coral Pardo Esté<sup>3</sup>, Mario Tello<sup>7</sup>, Francisco Remonsellez Fuentes<sup>2,4</sup>, Aldo Gaggero Brillouet<sup>5</sup>, Jorge H. Valdes<sup>6</sup>, Claudia Saavedra Sanchez<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile.

(2) Universidad Católica del Norte, Laboratorio de Microbiología Aplicada y Extremófilos, Departamento de Ingeniería Química, Antofagasta, Chile.

(3) Universidad Católica del Norte, Laboratorio de Ecología Molecular, Microbiología Aplicada, Facultad de Ciencias, Antofagasta, Chile.

(4) Universidad Católica del Norte, Centro de Investigación Tecnológica del Agua en el Desierto, (CEITSAZA), Antofagasta, Chile.

(5) Universidad de Chile, Laboratorio de Virología Ambiental, Instituto de Ciencias Biomédicas iCBM Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(6) Universidad Andres Bello, Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

(7) Laboratorio de Metagenómica Bacteriana, Centro de Biotecnología Acuícola, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile.

El microbioma nasofaríngeo es un entorno en constante cambio y evolución, influenciado por factores ambientales como alergias estacionales, variaciones de temperatura y enfermedades estacionales. Estos factores afectan especialmente a los niños, cuyos sistemas inmunológicos están en desarrollo y son más susceptibles. Para comprender mejor este proceso, en la actualidad se desarrollan diversas iniciativas enfocadas en el análisis metatáxonómico de poblaciones de riesgo, sin embargo en Chile a la fecha, no existían iniciativas de estudios sistemáticos en menores de edad del mismo entorno escolar. El presente estudio utiliza como modelo la escuela Rebeca Matte Bello de la comuna de Renca, donde se realizó un ensayo piloto que permitió implementar y optimizar protocolos de procesamiento de muestras y análisis de datos mediante estrategias de genómica computacional junto a bases de datos y herramientas especializadas.

En la fase piloto del estudio, se secuenciaron 16 muestras (8 nasofaríngeas y 8 bucales) y se implementó un flujo de trabajo bioinformático que procesará de manera continua los análisis de calidad de secuenciación y de diversidad del microbioma en las muestras. Como resultado de esta implementación se identificaron en ambos tipos de muestras a las taxa *Proteobacteria* y *Firmicutes* como las OTUs más representadas, mientras que, a nivel de orden, destacaron *Lactobacillales* y *Rhizobiales*, con algunas excepciones en muestras individuales. Las familias más representadas en general fueron *Rhizobiaceae* y *Streptococcaceae*, aunque hubo diferencias en muestras puntuales, que mostraron una mayor abundancia de *Moraxellaceae*. A nivel de género, *Streptococcus* y *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* fueron los más prevalentes en todas las muestras, salvo en excepciones, donde *Moraxella* fue dominante.

Los resultados de la fase piloto proporcionan información valiosa sobre la composición del microbioma nasofaríngeo en menores de edad. Además, demuestran la eficacia de los enfoques de bioinformática en este campo, los que una vez implementados de manera sistemática permiten analizar la evolución temporal del microbioma y diversas variables de manera robusta y reproducible.

Keywords: bioinformática, genómica, nasofaringe, microbiota



Tipo de presentación: Panel

### **What does a systematic review reveal on the study of PGPB to mitigate abiotic stress effects in plants?**

**Tamara Valenzuela**<sup>1,2</sup>, Jacqueline Acuña<sup>1,2,3</sup>, Haroldo Salvo<sup>4</sup>, Roland Bol<sup>5</sup>, Angela Sessitsch<sup>6</sup>, Milko Jorquera<sup>1,2,3</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 1145, Temuco, Chile

(2) Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada (EMALAB),, Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Ingeniería y ciencias, Francisco Salazar 1145, Temuco, Chile

(3) Center of Plant-Soil Interaction and Natural Resources Biotechnology, Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN), Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(4) Centro de Genómica Nutricional Agroacuícola (CGNA), Las Heras 350, Temuco, Chile

(5) Institute of Bio- and Geosciences, IBG-3, Agrosphere, Forschungszentrum Jülich GmbH (FZJ), Germany

(6) School of Natural Sciences, Environment Centre Wales, Bangor University, Bangor, United Kingdom

Systematic review has arisen over last few years as a useful tool to address prudence and germaneness of scientific research questions. However, it has been scarcely used in the studies of plant growth-promoting bacteria (PGPB). This systematic review was focused in specific questions on PGPB applied in assays to mitigate different abiotic stress in agricultural crops commonly studied. We found through a bibliography search built with PRISMA guidelines within the Scopus database a total of 166 relevant PGPB related articles. Using an article publication period between 2017 to 2022 years as an exclusion criterion. This systematic review identified the methods, parameters measured, diversity PGPB and their PGP traits applied to improve plant tolerance plants under abiotic stresses. The general outcomes were that; PGPB have studied particularly South America (Brazil) and Asia (India and China). While, the susceptible and crucial phenological stages (*e.g.*, germination seed and flowering) had been poorly studied. In addition, our review revealed diverse methods in the development of various bioinoculants that will need to be standardized. With respect to parameters direct (inoculant) and indirect (plant or soil) measured; relevant indicators as interaction PGPB and ions of soil were poorly studied. The most representative genus studies in all abiotic stress studies were *Bacillus* (22,5%), *Pseudomonas* (14.7%) and *Enterobacter* (4.4%). On the other hand, a wide diversity of another genus for example; *Delftia*, *Rhodococcus*, *Nostoc*, *Microbacterium* and *Pedobacter*. From 50 different genus were found with an overall low proportion (< 2%) in selected studies, likely due to use of traditional culture-based methods which isolates a limited number of genera. However, with regard to the reported PGP traits, small proportion were observed in EPS (exopolysaccharides), N<sub>2</sub> (nitrogen fixation), HCN (hydrogen cyanide) and NH<sub>3</sub> (ammonia production) mechanisms. As a solution to the limiting in methods and parameters, modern technologies are necessary to identify and quantify the microbial diversity associated with plants as high-throughput sequencing (HTS) of PGPB genes. Overall, this review revealed several gaps in current knowledge highlighted earlier and with it some possible future directions to better understand the modulators involved in PGPB inoculation of sustainable agro-ecosystems under abiotic stress.

**Keywords:** abiotic stress, sustainable agriculture, plant growth-promoting bacteria

**Financing:** This study was funded by FONDECYT project no. 1201386 and 1221228, by Ph.D. Scholarship by ANID no. 21210306, Instituto Milenio Centro de Regulación del Genoma ICN2021\_044, CGNA and "Apoyo a Profesores Patrocinantes de Alumnos de Pre y Postgrado".

**Acknowledgments:** ANID Doctoral Scholarship no. 21210306, FONDECYT project no. 1201386 and no. 1221228, Instituto Milenio Centro de Regulación del Genoma ICN2021\_044, Centro de Genómica Nutricional Alimentaria Agroacuícola and Apoyo a Profesores Patrocinantes de Alumnos de Pre y Postgrado program.

Tipo de presentación: Panel

### **Microbiological studies in the depths of the caves of Madre de Dios Island in Chilean Patagonia**

#### **Estudios microbiológicos en las profundidades de las cavernas de la Isla Madre de Dios en la Patagonia chilena**

**Matías Vargas-Reyes**<sup>1</sup>, Nicolás Bruna<sup>1</sup>, Valentina Carrasco<sup>1</sup>, José M. Pérez-Donoso<sup>1</sup>

(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

Ubicada en el extremo oeste de la Patagonia chilena, la Isla Madre de Dios representa un ecosistema único. Además de presentar condiciones climáticas inhóspitas, como fuertes vientos y lluvias, la Isla Madre de Dios presenta el sistema kárstico más austral del mundo, constituido por numerosas cuevas de caliza. Estas formaciones rocosas se suelen encontrar en climas tropicales y subtropicales, y no en latitudes australes. Debido a sus particulares características geológicas y las condiciones climáticas en las cuales se encuentran inmersas, las cavernas de la Isla Madre de Dios son un lugar único para el estudio de comunidades bacterianas en las profundidades de cavernas.

El objetivo de este trabajo fue analizar las comunidades bacterianas presentes en las cavernas de la Isla Madre de Dios. Durante la expedición "Última Patagonia 2019", se obtuvieron muestras de suelo desde distintas profundidades de la caverna Jackpot. Los análisis de secuenciación masiva de 16S revelaron la presencia predominante de bacterias con actividad desnitrificante (*Polaromonas*) a 145 m de profundidad, bacterias autótrofas oxidantes de nitrito y azufre (*Nitrosococcaceae*) a 145 y 170 m de profundidad, y bacterias capaces de obtener energía utilizando metano (*Beijerinckiaceae*) a 170 m de profundidad. Estos resultados indican que, debido a la escasa materia orgánica característica de las cavernas, las bacterias obtendrían energía a través de fuentes inorgánicas como H<sub>2</sub>S o NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, así como también a partir de la oxidación de gases atmosféricos como el CH<sub>4</sub> en las profundidades de la cueva. Adicionalmente, durante la expedición "Última Patagonia 2023", con el objetivo de caracterizar cómo las comunidades bacterianas varían en otras cavernas de la Isla, se tomaron muestras de suelo y roca en la entrada y en las profundidades de las cuevas Tres Entradas mas Una, Sima de las Arcas Perdidas, Piratas y Sima Bowling, muestras que actualmente están siendo analizadas.

Este trabajo contribuye a la comprensión de cómo las comunidades bacterianas pueden adaptarse a uno de los ecosistemas más inhóspitos de nuestro planeta, postulado por Chile como Patrimonio Natural de la UNESCO, y, además, a la identificación de bacterias que podrían poseer características únicas para ser utilizadas con fines biotecnológicos.

Keywords: Cavernas, Comunidades bacterianas, Isla Madre de DIos

Financing: Financiado por Fondecyt 1200870

Tipo de presentación: Panel

**In-silico analysis of the immunogenic potential of the pansecretome of the *Akkermansia* genus associated with MHCII**

**Análisis in-silico del potencial inmunogénico del pansecretoma del género *Akkermansia* asociado al MHCII**

**Boris Vidal-Veuthey**<sup>1</sup>, Dámariz González<sup>1</sup>, Edir Vidal-Castro<sup>2</sup>, Juan P. Cárdenas<sup>1,3</sup>

(1) Universidad Mayor, Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Santiago, Chile

(2) Universidad de Ingeniería y Tecnología, Departamento de Bioingeniería, Facultad de Ingeniería, Lima, Perú

(3) Universidad Mayor, Escuela de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Santiago, Chile

**Introducción:** El género *Akkermansia*, y especialmente *Akkermansia muciniphila*, han atraído la atención como probióticos y fuentes de postbióticos, ya que poseen proteínas asociadas a la barrera intestinal, control metabólico, regulación inmunitaria, entre otras. Uno de los mecanismos de modulación inmunitaria está vinculado a células presentadoras de antígeno (APCs), que al interactuar con la microbiota intestinal, procesan y presentan péptidos a linfocitos T CD4+ mediante el complejo mayor de histocompatibilidad clase II (MHCII). Esto, es posible debido a polimorfismos en los alelos del MHCII, que determinan una amplia gama de ligandos peptídicos que interactúan con su surco unión. No obstante, el impacto de este mecanismo está pobremente estudiado en el género *Akkermansia*, así como su efecto en alelos del MHCII más frecuentes en Chile (HLA-DRB1\*03:01 y HLA-DRB1\*07:01). Por tanto, el propósito de este estudio fue, evaluar el impacto del pansecretoma del género *Akkermansia* en APCs, mediante un catastro del potencial inmunogénico predicho en alelos HLA-DRB1\*03:01 y HLA-DRB1\*07:01.

**Métodos:** El proteoma de 367 genomas de *Akkermansia* se utilizaron para la anotación funcional (Prokka\_v1.11, EggNOG-mapper\_v2.1.6), predicción de la localización subcelular (PSORTm\_v1.0.2), presencia de regiones transmembrana (servidor Phobius) y péptido señal (servidor Phobius y SignalP\_v6.0). A partir de proteínas predichas periplasmáticas, de membrana externa o extracelulares, se realizó la predicción de unión al MHCII utilizando NetMHCIIpan\_v4.0. Se definieron estructuralmente los alelos del MHCII (SWISS-MODEL) y péptidos relevantes (PEP-FOLD\_v3.5), para evaluar la unión entre el MHCII y cada péptido (AutoDock-CrankPep).

**Resultados:** De la anotación de genomas, se seleccionaron 20.723 proteínas para la predicción de unión de sus péptidos al MHCII. Se detectaron 4.160 proteínas, que se asociaron con uno o más péptidos de unión fuerte al MHCII, y dentro de este grupo, 2.198 estaban representadas en cinco categorías COG (G: *Carbohydrate transport and metabolism*; H: *Coenzyme transport and metabolism*; M: *Cell wall/membrane/envelope biogenesis*; P: *Inorganic ion transport and metabolism*; U: *Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport*), siendo la categoría M la más prevalente.

**Conclusión:** Péptidos provenientes del pansecretoma de *Akkermansia* podrían unirse al MHCII, lo que puede estar relacionado con la respuesta inmunológica de la población chilena. Esto abre una ventana para futuras validaciones experimentales.

Keywords: *Akkermansia*, pansecretoma, regulación inmunitaria, MHCII, bioinformática

Financing: Fondecyt/ANID Proyecto 11200209 (J.P.C.), ANID Doctorado Nacional/2021-21211564 (B.V-V.).

Tipo de presentación: Panel

**Identification and characterization of microbial communities associated with public transportation in Santiago, Chile.**

**Identificación y caracterización de comunidades microbianas asociadas al transporte público en Santiago de Chile.**

**Pablo Villanueva**<sup>1</sup>, Sara Oliva<sup>1</sup>, Juan Ugalde<sup>1</sup>

(1) Universidad Andres Bello, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa, Ciencias de la vida, Republica 239, Santiago|, Chile

Los microorganismos están presentes en todos los ambientes del planeta, incluidos los que se encuentran en contacto directo con los seres humanos. Un ejemplo de esto son los entornos urbanos, los cuales incluyen parques, edificios y sistemas de transporte público. Estos entornos construidos por seres humanos están llenos de comunidades microbianas, las cuales han ganado gran relevancia, debido a que se ha demostrado que reflejan la actividad y salud de la población. En particular, los sistemas de transporte, como los metros y buses, tienen el potencial de facilitar la propagación de enfermedades infecciosas debido al gran flujo de personas y los puntos de contacto compartidos. Debido a esto el microbioma de estos entornos puede proporcionar información sobre los patógenos presentes y cómo se pueden transmitir. Estos microbiomas tienen también un gran potencial para la identificación de elementos genéticos relevantes. Un ejemplo de esto son los genes de resistencia a antibióticos, los cuales han surgido como una importante amenaza para la salud pública. A este respecto, el proyecto MetaSUB es un estudio a gran escala que tiene como objetivo caracterizar la diversidad microbiana del transporte público de las principales ciudades del mundo, basándose en datos obtenidos por metagenómica.

En este trabajo se utilizaron los datos obtenidos en el muestreo realizado por MetaSUB el año 2016 en el Metro de Santiago de Chile. Se identificaron y caracterizaron las comunidades microbianas presente en este ambiente utilizando las 600 millones de lecturas obtenidas en el muestreo de 27 estaciones. Estos datos fueron filtrados y posteriormente analizados para realizar predicciones taxonómicas, funcionales, de metabolismo secundario y de presencia de genes de resistencia a antibióticos. Dentro de los principales resultados se encontró una alta prevalencia de bacterias del género *Cutibacterium* y *Kocuria*, una alta abundancia de genes asociados a la biosíntesis de nucleótidos, y un gran potencial de síntesis de metabolitos secundarios. Estos resultados muestran una gran correlación con los obtenidos en otras ciudades del mundo y demuestran, además, la relevancia y utilidad del estudio y análisis de los ambientes urbanos.

Keywords: Metagenomica, Ambiente urbano, Resistencia a antibioticos

Financing: FONDECYT REGULAR 1221209

Tipo de presentación: Panel

### **Understanding Sub-Antarctic yeast community response to temperature changes.**

#### **Comprendiendo la respuesta de las comunidad de levaduras Sub-antárticas a los cambios de temperatura.**

Luis Saona<sup>1,2,3</sup>, Javiera Cajas<sup>4</sup>, Benjamín Vásquez<sup>4</sup>, Matias Castillo-Morales<sup>1</sup>, Francisco Cubillos<sup>1,2,3</sup>, **Pablo Villarreal**<sup>1,2,3</sup>

(1) Facultad de Química y Biología, Departamento de Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, 9170022, Chile.

(2) Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), Santiago, 7500574, Chile.

(3) Millenium Nucleus of Patagonian Limit of Life (LiLi), Santiago, 7500574, Chile.

(4) Facultad Medicina y Ciencias, Universidad San Sebastián, Chile.

Sub-Antarctic regions face significant impacts from global warming, causing a worrisome temperature increase. Thus, understanding the genetic and phenotypic traits affecting local adaptation and the composition of microbial communities in evolving environments becomes crucial. In this sense, yeasts are vital for biogeochemical processes and valuable indicators of ecosystem health. Yeasts contribute to essential functions like nutrient cycling, and plant growth promotion, making them particularly insightful for studying biological responses to temperature environmental changes. One of the fastest and most common ways in which yeast communities respond to these changes is by altering the abundance or presence of the different yeast species throughout a species-sorting process. However, until now is still unclear how the species sorting process delineates the yeast community composition in response to environmental temperature changes. In these contexts, this study aims to investigate the effects of temperature variation on fungal biodiversity in yeast inhabiting the Karukinka Natural Park, a Sub-Antarctic region in Patagonia. For this, we collected soil samples and sequenced an ITS amplicon library to identify the entire fungal community in the rhizosphere forest. Our data shows that the three most abundant families were *Aspergillaceae*, *Pseudeurotiaceae*, and *Myxotirichaceae* related to Saprotroph and Ericoid mycorrhizal metabolic function. To determine the impact of temperature changes on the community composition, we carried out a yeast isolation procedure from each sample using a species-sorting technique at different temperatures (4-10-20-30-40 °C). Before sorting, we identified at least eight different species per sample. After sorting, the species count decreased on average to three per sample/treatment, with species belonging to the *Solicoccozyma* (ex-*Cryptococcus*) genus being the most frequent across all temperatures, showing a wide thermal range of tolerance and pre-adaptation to temperature changes. Our results suggest that different temperatures impact the yeast community composition, and some species are ubiquitous and proliferate under different temperatures, while others only at specific regimes. Our work contributes to the characterization and understanding of the genetic diversity of yeasts in sub-Antarctic regions, providing a valuable resource to study the genetic and phenotypic traits of pre-adapted species to temperature changes.

Keywords: yeast community, species-sorting, global warming

Financing: Millennium Institute for Integrative Biology (iBio)Millenium Nucleus of Patagonian Limit of Life (LiLi)Fondecyt 1220026

Tipo de presentación: Panel

### **Identification of respiratory viruses present in the school environment**

### **Identificación de virus respiratorios presentes en el ambiente escolar**

**Fernando Valiente**<sup>2</sup>, Nicolas Pacheco<sup>1</sup>, Valentina Pavez<sup>1</sup>, Gabriel Kruger<sup>1</sup>, Coral Pardo<sup>1</sup>, Manuel Ampuero<sup>2</sup>, Aldo Gaggero<sup>2</sup>, Jorge Valdes<sup>1</sup>, Francisco Remosellez<sup>3</sup>, Gloria Arriagada<sup>1</sup>, , Sergio Barahona<sup>3</sup>, Claudia Saavedra<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Ciencias, Ciencias de la vida, República 330, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Medicina, Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile

(3) Universidad Católica del norte, ingeniería química, CENTRO DE Investigación tecnológica del agua en el desierto (CEITSAZA), Av. Angamos 0610, Antofagasta, Chile

Las aulas escolares son lugares críticos para la propagación de virus respiratorios debido a su sistema de ventilación irregular, densidad del alumnado y tiempo prolongado de exposición. Estas características las convierten en focos de transmisión de patógenos aéreos con consecuencias perjudiciales para la salud de la comunidad estudiantil. Este estudio se realizó en la Escuela Rebeca Matte, Santiago de Chile. El objetivo del trabajo fue identificar la presencia de virus respiratorios recurrentes (Adenovirus, metapneumovirus, virus sincicial, influenza y coronavirus) en el entorno educativo y contribuir a la comprensión de su propagación en estos recintos. Dado que la información actual y los antecedentes previos sobre la transmisión aérea presentan discrepancias, esta investigación adquiere relevancia, especialmente en la detección temprana y la prevención de brotes virales respiratorios durante periodos críticos en el ambiente escolar. La hipótesis central del estudio sostiene que hay una relación directa entre los virus respiratorios presentes en el aire de las aulas y los identificados en el agua residual del establecimiento. El trabajo inició con la toma de muestras donde se utilizó el dispositivo Coriolis, equipo ampliamente validado para la recolección de muestras de aire. Por su parte, el agua residual fue muestreada con el equipo Sigma 900 para la obtención de una muestra compuesta. La posterior detección de virus en muestras de aire y agua, se realizó mediante qPCR, utilizando un kit de panel viral específico (Ezplex viral respiratory). El análisis de los datos obtenidos permitió establecer una correlación efectiva entre los virus detectados en el aire de las aulas y el agua residual de la escuela (adenovirus y metapneumovirus), mostrando así la efectividad de muestrear estos ambientes como medida de prevención de brotes virales. Además, los resultados obtenidos concuerdan con los datos epidemiológicos reportados por el Ministerio de Salud (MINSAL) a nivel nacional. Esta correlación es crucial para comprender los mecanismos de transmisión de virus respiratorios a través del aire, con esto se podría establecer un sistema de prevención y control de enfermedades respiratorias basado en la vigilancia epidemiológica, tanto en el ámbito educativo como en otros entornos que sean focos de propagación de patógenos.

Keywords: Virus respiratorios, Adenovirus, microbioma, escuelas

Financing: Proyecto Anillo ATE220007Universidad Andrés BelloUniversidad de Chile

Acknowledgments: Universidad Andrés Bello. Laboratorio de microbiología molecularUniversidad de Chile. Laboratorio de virología ambientalEscuela Rebeca MatteMunicipalidad de RencaBiotecomNexclima

Tipo de presentación: Panel

**Characterization of the PGPR activity of the root microbiome of a cactus endemic to Chile (*Eriosyce chilensis*)**

**Caracterización de la actividad PGPR del microbioma radicular de un cactus endémico de Chile (*Eriosyce chilensis*)**

**valeska fonseca**<sup>1</sup>, Gastón Carvallo Bravo<sup>2</sup>, Carolina Yáñez Prieto<sup>1</sup>

(1) Pontificia universidad Católica de Valparaíso, Grupo Ecología Microbiana de la Rizósfera, Laboratorio de Microbiología, Instituto de biología, Av. estudiantes 330, Curauma, Valparaíso, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Laboratorio de Ecología Vegetal, Instituto de Biología, Av. estudiantes 330, Curauma, Valparaíso, Chile

La comunidad microbiana rizosférica desempeña un papel fundamental en la adaptación de las plantas a condiciones adversas. Estudios recientes se han centrado en estudiar microorganismos en plantas que habitan entornos inexplorados para su posible uso como promotores del crecimiento vegetal (PGP). En otras regiones del mundo se han reportado bacterias PGP asociadas a cactus, pero las comunidades microbianas de muchas de estas especies continúan siendo desconocidas, especialmente en Chile. Nuestro objetivo fue caracterizar la actividad PGP de bacterias rizosféricas asociadas a plantas adultas del cactus *Eriosyce chilensis* y su variedad *E. chilensis* var. *Albidiflora*, ambos en peligro de extinción (N = 6 muestras por taxa). Las bacterias se aislaron mediante diluciones seriadas desde suelo rizosférico, se purificaron en función de su morfología y se sometieron a ensayos bioquímicos para determinar *in vitro* sus características PGP (e.j. solubilización de fosfato, fijación de nitrógeno, etc). De 284 aislados fenotípicamente distintos, 26 (9,1%) presentaron solubilización de fosfato, de los cuales diez (3,5% del total) mostraron crecimiento en medio sin nitrógeno y/o producción de auxinas en medio suplementado con triptófano. Además, estos diez aislados demostraron producción de sideróforos y exopolisacáridos, sin producción de quitinasa. Cinco aislados fueron seleccionados en base a sus características PGP y fueron sometidos a ensayos de compatibilidad mediante la siembra en agar soft de una bacteria e inoculación en spot de los aislados restante para la construcción de un consorcio bacteriano, de los cuales tres presentaron compatibilidad. Este estudio revela que las bacterias asociadas al cactus *E. chilensis* presentan características PGP, siendo el primer reporte de esta naturaleza en Chile. Proyectamos identificar mediante la secuenciación del gen 16S de ARN y evaluar la actividad PGP de los aislados seleccionados sobre la germinación de semillas, como una potencial herramienta biotecnológica para la propagación de esta especie en peligro de extinción.

Keywords: PGPR

Acknowledgments: Proyecto CONAF "Regeneración y propagación de cactáceas usando consorcios rizobacterianos".

Tipo de presentación: Panel

### **Impact of Aluminum Excess on Iron Homeostasis and Central Metabolism of Phosphobacteria from Acidic Soils: A Proteomic Perspective**

**Patricio Barra Espinoza**<sup>1,2</sup>, Paola Duran<sup>1,2,3</sup>, Giovanni Larama<sup>1,2</sup>, Evelyn Briones<sup>1,2</sup>, Josefa Mendoza<sup>1,2</sup>, Rodrigo Rodriguez<sup>1</sup>, María de la Luz Mora<sup>1</sup>, Stephane Claverol<sup>4</sup>, Mabel Delgado<sup>1</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Center of Plant, Soil Interaction and Natural Resources Biotechnology, Scientific and Technological Bioresource Nucleus, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Scientific and Technological Bioresource Nucleus, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Universidad de La Frontera, Departamento de Producción Agropecuaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(4) Université de Bordeaux, Plateforme Protéome, Centre Génomique Fonctionnelle de Bordeaux, Bordeaux, France

Aluminum-tolerant phosphobacteria improve plant growth in acidic soils by increasing aluminum complexation and phosphorus availability. However, the impact of aluminum stress on the biochemistry and physiology of bacteria native to acidic soils is not well understood, especially at the molecular level. The objective of this study was to evaluate the response of three aluminum-tolerant phosphobacteria strains to aluminum stress using label-free quantitative proteomics. The phosphobacteria studied were *Enterobacter* sp. 198, *Enterobacter* sp. RJAL6, and *Klebsiella* sp. RCJ4, which were previously isolated from the rhizosphere of *Lolium perenne* and *Persea americana* plants grown in acidic soil.

The strains were cultivated in mineral media supplemented with 10 mM aluminum. A mineral media without aluminum added was used as a control. Total proteins were extracted at the end of the exponential phase of growth and subjected to high-throughput proteomics analysis. More than 1,800 proteins were identified in each treatment and strain. Aluminum exposure principally resulted in the downregulation of several iron-sulfur and heme-containing proteins, including several central proteins involved in carbohydrate metabolism and oxidative phosphorylation. A concomitant upregulation of iron acquisition and metabolism proteins, including siderophore precursors and receptors of iron chelator complexes, was observed. The principal upregulated proteins were: 1. Periplasmic hemin-binding protein (HmuT); 2. Isochorismatase [enterobactin] siderophore/Apo-aryl carrier domain of EntB (EntB); 3. Ferrichrome-iron receptor (FhuA); 4. TonB-dependent hemin, ferrichrome receptor (HemR); 5. TonB-dependent receptor outer membrane receptor for ferric enterobactin and colicins B, D (FepA). The results of this study demonstrate the predominant role that aluminum plays in regulating iron homeostasis, and consequently in the central metabolism of the bacteria. The knowledge generated in this study is essential to understand bacterial behavior in acidic soils, which in turn will be important for the generation of bioinoculants for crops affected by aluminum toxicity.

Keywords: Acidic soils, Phosphobacteria, Aluminum, Proteomic

Financing: FONDECYT de iniciación No. 11200377; FONDECYT regular No. 1210684, 1230084, 1201196; Anillos de Investigación en Áreas Temáticas Específicas ATE220038; DiUFRO. Proyectos de Investigación Vinculados a la Red Nexer No. DNX22-0009

Acknowledgments: The authors acknowledge to Scientific and Technological Bioresource Nucleus of Universidad de La Frontera (BIOREN-UFRO) and Service Management Analytical Research and Training Center (SmartC-BIOREN).



Tipo de presentación: Panel

**Role of the sRNAs RprA, ArcZ and RybB in the formation of biofilms in *Y. ruckeri***

**Rol de los sRNAs RprA, ArcZ y RybB en la formación de biopelículas en *Y. ruckeri***

**María José Barros Gamonal<sup>1</sup>**, Diego Martínez Peñaloza<sup>1</sup>, Nicolás Fernández<sup>1</sup>, Lillian Acuña Olivares<sup>1</sup>, Iván Calderón Lizana<sup>1</sup>  
(1) Universidad Andrés Bello, Ciencias Biológicas, Ciencias de la Vida, República 330, 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, 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. Debido a que este proceso es desconocido en *Y. ruckeri*, nos propusimos caracterizar el rol de tres sRNAs dependientes de Hfq, RprA, ArcZ y RybB, los cuales están directamente relacionados con la formación de biopelículas en otras enterobacterias. En análisis fenotípicos observamos una disminución de la motilidad en las tres cepas mutantes de estos sRNAs (*DrprA*, *DarcZ* y *DrybB*), respecto a la cepa silvestre. Por otra parte, analizamos la capacidad de formar biopelículas a las 6, 12, 24 y 48 h, mediante tinción con cristal violeta y unidades formadoras de colonias, observando un aumento de la capacidad de formar biopelículas a partir de las 12 h de incubación en las tres cepas mutantes. Se observaron mayores concentraciones de c-di-GMP a partir de las 12 h de incubación en todas las cepas mutantes. Finalmente, mediante microscopía confocal, se evidenció una correlación entre la mayor formación de biopelícula y el aumento de la producción del exopolisacárido PNAG, en ausencia de los sRNAs RprA, ArcZ y RybB. En su conjunto, estos resultados indican que la ausencia de los sRNAs RprA, ArcZ y RybB favorecen la capacidad de formar biopelículas en *Y. ruckeri*, sugiriendo vías de regulación dependientes de estos sRNAs en el proceso de formación de biopelículas.

Keywords: *Yersinia ruckeri*, Biofilm, mutantes

Financing: Beca de Doctorado Nacional número 21211490 Proyecto FONDECYT Regular número 1221610 Proyecto FONDECYT Inicio número 11201070

Tipo de presentación: Panel

**Nitrogen fixation in *Azohydromonas lata* 1123 in the presence of oxygen and annotation of nitrogenase genes**

**Fijación de nitrógeno en *Azohydromonas lata* 1123 en presencia de oxígeno y anotación de genes nitrogenasas**

**Christian Brito-Silva**<sup>1</sup>, Felipe Scott Contador<sup>1</sup>

(1) Universidad de Los Andes, Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Santiago, Chile

La fijación biológica del nitrógeno (FBN), es un proceso realizado por enzimas nitrogenasas con núcleo de molibdeno altamente sensibles al oxígeno, que convierten  $N_2$  a amoníaco. En bacterias de vida libre estas enzimas requieren la expresión de decenas de genes *nif* para el correcto ensamblaje de la o las nitrogenasas y proteínas accesorias que permiten tolerar diferentes concentraciones de  $O_2$ . La FBN ha sido reportada en la bacteria quimiolitotrófica, oxidante de hidrógeno y fijadora de  $CO_2$ , *A. lata*, pero no se ha descrito cuáles son los genes *nifA* ni la regulación transcripcional de la FBN en la cepa 1123. En este estudio se realizó por primera vez la secuenciación híbrida del genoma de *A. lata* por tecnologías de Nanopore e Illumina. Para el ensamble se usó Unicycler y los genes fueron anotados mediante predicción por homología de proteínas. Además, para estudiar el efecto del regulador transcripcional *nifA* en la FBN en *A. lata* 1123 se midieron los niveles de fijación de  $N_2$  en cepa Wt y transformada con plásmido de sobreexpresión pBBAD-*nifA* con promotor fuerte. La FBN se midió por ensayo de reducción de acetileno y se analizó la cantidad de amoníaco producido extracelular e intracelular mediante medición de ion amonio y reactivo de Nessler y la acumulación de nitrógeno en forma de proteínas. La búsqueda de genes *nif* mostró sólo la presencia de genes codificantes para la nitrogenasa MoFe clásica junto con proteínas accesorias y el factor transcripcional NifA que, en otras especies, regula positivamente la transcripción de los genes *nif*, sin embargo, no se encontró el gen de *nifL* que es el regulador transcripcional negativo de *nifA*. La FBN en condiciones diazotróficas fue 4.5 veces mayor en atmosfera con 5% de  $O_2$  versus 20%. Al comparar la presencia de amoníaco entre la cepa wildt-type y la transformada con pBBAD-*nifA* se encontró una mayor cantidad extracelular en la cepa transformada. Estos datos sugieren que bajo condiciones diazotróficas la sobreexpresión de *nifA* promueve la excreción de amoníaco posiblemente por la ausencia del regulador negativo *nifL*.

Keywords: Biological Nitrogen Fixation, Free-living Bacteria, Soil Bacteria, Chemolithotrophic

Financing: Postdoc Interno Universidad de Los Andes. Fondecyt Regular 1211434 y Proyecto Anillo ATE220045

Tipo de presentación: Panel

**Microbial reduction of arsenic generates cell growth through the third type of energy conservation. Discovery from the North of Chile.**

**Reducción microbiana de arsénico que genera crecimiento celular mediante el tercer tipo de conservación de energía. Descubrimiento desde el Norte de Chile**

**Cecilia Demergasso**<sup>1</sup>, Mauricio Acosta<sup>1</sup>, Susana Vazquez<sup>2,3</sup>, Nicolás Guiliani<sup>4</sup>, Sabrina Marín<sup>1</sup>

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

(2) Universidad de Buenos Aires, 8 Buenos Aires, Argentina, Cátedra de Biotecnología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Buenos Aires, Argentina

(3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto de Nanobiotecnología (NANOBIOTEC), Buenos Aires, Argentina

(4) Universidad de Chile, Chile, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias,, Santiago, Chile

En nuestro esfuerzo por entender los metabolismos microbianos relacionados con el arsénico (As) en el Norte de Chile comprendimos, por ejemplo, que la reducción microbiana de As ha tenido un rol importante en eventos de contaminación del Río Loa. Vimos que, a concentraciones elevadas de As, la presencia de Trx-ArsC (debido a la proteína disulfuro redox activa utilizada como reductora) -reportada como la más eficiente- es más abundante que la de Grx-ArsC y evidenciamos la presencia de un ciclo biogeoquímico del As activo en ambientes con alto contenido de este. Aislamos también microorganismos que crecen dependiendo de la reducción de As(V) pero carecen de un homólogo canónico para arseniato reductasa respiratoria, ArrAB. Estudiamos el metabolismo de un representante gram-positivo de estos aislados, *Fusibacter* sp. cepa 3D3 (*Fas*). El análisis del genoma de *Fas* y el análisis genómico comparativo con otros reductores de arsénico revelaron la falta del cluster de genes *arrAB* y la presencia de dos genes *arsC* que codifican para arseniato reductasas citoplasmáticas (ArsC-1 y ArsC-2) que pertenecen a la familia Trx-ArsC. Comprobamos que estas enzimas le confieren resistencia diferencial al As(V) a la cepa *E. coli* WC3110 *DarsC*. Los experimentos de PCR confirmaron la ausencia de genes *arrAB* y los resultados obtenidos utilizando desacopladores de la cadena respiratoria revelaron que el crecimiento de *Fas* está relacionado con el gradiente de protones. Además, *Fas* alberga genes codificantes de ferredoxina-NAD<sup>+</sup> oxidoreductasa (Rnf) y de flavoproteína de transferencia de electrones (Etf). Estos son marcadores claves del recientemente descubierto mecanismo de bifurcación de electrones basado en flavina, implicado en la conservación de energía, que se encuentra principalmente en metabolismos anaeróbicos y asociados con complejos enzimáticos citoplasmáticos. En *Fas* se evidenciaron al menos tres complejos de flavoenzimas bifurcadoras de electrones, codificados por genes ubicados en regiones genómicas conservadas con otros miembros del género *Fusibacter*. Estos hallazgos fisiológicos y genómicos nos permitieron confirmar la existencia de un metabolismo de crecimiento dependiente de arseniato que usa este nuevo mecanismo de acoplamiento de la energía biológica, distinto de la fosforilación a nivel de sustrato y de la fosforilación oxidativa.

Keywords: *Fusibacter*, arsenic respiration, electron bifurcation, Rnf complex, ferredoxin

Financing: This research was funded by FONDECYT Project 1100795 from the Chilean National Commission for Science and Technology (CONICYT), FIC-R 2015/BIP 40013423-0 and the Research Support from Minera Escondida Ltda. Project 32002137.

Tipo de presentación: Panel

**Transcriptomic response of *Escherichia coli* during the biosynthesis of fluorescent copper nanoparticles: evidence of a new metal tolerance mechanism**

**Respuesta transcriptómica de *Escherichia coli* durante la biosíntesis de nanopartículas fluorescentes de Cu: evidencias de un nuevo mecanismo de tolerancia al metal**

**Sebastian Lagos-Moraga**<sup>1</sup>, Ignacio Ramos-Tapia<sup>2</sup>, José Pérez-Donoso<sup>1</sup>

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

(2) Universidad del Desarrollo, GENomic Epidemiology in Emergent Diseases (GENE2DIS), Proyecto Anillo ATE220061, Santiago, Chile

Las nanopartículas (NPs) metálicas son estructuras que presentan propiedades ópticas dependientes del tamaño y la forma. En las últimas décadas se han desarrollado procesos biológicos para la síntesis, los cuales utilizan principalmente bacterias.

En este trabajo estudiamos la respuesta génica de *E. coli* en condiciones de biosíntesis de NPs fluorescentes de Cu. Las NPs fueron biosintetizadas al exponer a la bacteria a CuSO<sub>4</sub> en microaerofilia. Las NPs producidas exhiben fluorescencia roja con un bajo quantum yield. Mediante microscopía electrónica de transmisión se determinó que las NPs se encuentran localizadas en los polos de la célula, cercanas a la membrana y presentan un tamaño promedio de 10 nm.

La respuesta transcriptómica durante el proceso de síntesis de NPs se analizó mediante RNA-Seq. Entre los genes que presentan variaciones se encuentran los relacionados a síntesis no-ribosomal de enterobactina y sideróforos, los cuales pueden unir cobre y podrían ayudar a la formación de NPs. Los genes de transporte de fosfato presentan una variación positiva en su expresión, lo que relaciona con su aumento intracelular en las condiciones analizadas. El fosfato presenta un rol demostrado en la formación de NPs metálicas. Además, se observó un aumento de la expresión de genes de expulsión de cobre (CopA y Cus). Paralelamente, al analizar la concentración de cobre intracelular, este aumenta en las condiciones de biosíntesis, importante destacar que aún cuando incrementa la concentración intracelular esta no afecta el crecimiento de la bacteria. Este aumento podría relacionarse con la formación de NPs de Cu-S intracelulares, las que no generan toxicidad, sino que desempeñan un rol al disminuir el cobre libre al interior de la célula.

Interesantemente, no existe un aumento en la expresión de genes de respuesta a estrés, observándose incluso una disminución en genes como *iraD*, *RpoS* u *OxyR*, indicando que la formación de NPs no generaría daño celular.

En conclusión, el análisis transcriptómico sugiere que la biosíntesis de NPs de Cu-S contribuye a la tolerancia a Cu, permitiendo a la bacteria disminuir la toxicidad del metal intracelular. Además, este modelo valida la hipótesis de que la formación de NPs metálicas es un mecanismo de tolerancia.

Keywords: RNA-Seq, Nanoparticles, Metal Tolerance, Copper

Financing: Financiado por Fondecyt 1200870

Tipo de presentación: Panel

**Effect of the disruption of the *laeA* gene on the asexual development of *Penicillium roqueforti***

**Efecto de la inactivación del gen *laeA* en el desarrollo asexual de *Penicillium roqueforti***

**Yudethzi Marcano<sup>1</sup>**, Carlos Gil-Durán<sup>1</sup>, Kathia González<sup>1</sup>, Inmaculada Vaca<sup>2</sup>, Renato Chávez<sup>1</sup>

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

(2) Universidad de Chile, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile

El gen *laeA* codifica una metiltransferasa ubicua en hongos filamentosos, la cual ha sido asociada principalmente a la regulación del metabolismo secundario. Adicionalmente, en varias especies de hongos filamentosos se ha demostrado que *laeA* también puede tener un efecto sobre el desarrollo asexual. En nuestro laboratorio usamos como modelo el hongo *Penicillium roqueforti*, responsable de la maduración de quesos azules. En un trabajo anterior, demostramos que *laeA* es un regulador positivo de la producción de varios metabolitos secundarios en este hongo. En este trabajo se evaluó el efecto de este gen sobre parámetros de desarrollo asexual en *P. roqueforti*, específicamente el crecimiento, la esporulación y la germinación de esporas. Para ello se utilizaron transformantes de *P. roqueforti*, cuyo gen *laeA* fue inactivado mediante CRISPR/Cas9. Los transformantes se crecieron en cinco medios de cultivo distintos, mostrando una tasa de crecimiento levemente reducida en todos ellos que fue estadísticamente significativa en comparación con la cepa nativa del hongo. Por otra parte, se midió la producción de conidios y la germinación de conidios a distintos intervalos de tiempo. En estas mediciones no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los transformantes y la cepa nativa del hongo. Nuestros resultados sugieren que excepto un leve efecto en el crecimiento, *laeA* no tiene un papel significativo en el desarrollo asexual de *P. roqueforti*.

Keywords: *Penicillium roqueforti*, desarrollo asexual, CRISPR/Cas9

Financing: Este trabajo fue financiado por ANID Proyecto Fondecyt 1211832.

Tipo de presentación: Panel

### **Involvement of hydrogen peroxide on the adherence of *Leptospirillum* sp. CF-1 to sulfide minerals**

**Mauricio Núñez**<sup>1,2</sup>, Christin Boldt<sup>2</sup>, Michael Schlömann<sup>2</sup>, Gloria Levicán<sup>1</sup>

(1) Universidad de Santiago de Chile, Faculty of Chemistry and Biology, Basic and Applied Microbiology Laboratory, Santiago, Chile

(2) TU Bergakademie Freiberg, Institute of Biosciences, Environmental Microbiology, Freiberg, Germany

Acidophilic microorganisms in extreme acidic environments form biofilms on sulfide minerals. These biofilms start with an initial attachment of cells to mineral surfaces, driven by cellular mechanisms interacting with environmental signals. One such signal is the presence of reactive oxygen species (ROS) spontaneously generated on sulfide mineral surfaces, which might serve as a trigger for biofilm attachment and formation in these extreme conditions. This study aimed to investigate the effect of generated exogenous hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) on sulfide minerals on the adherence of the acidophilic bacteria *Leptospirillum* sp. CF-1 (CF-1). To achieve this, the research followed a multi-step approach. Initially, the study involved a bioinformatics analysis using tools (SnapGene, MEGAX, and RAST) to identify genes associated with adherence and quorum sensing. The next step was a measurement over time of the  $H_2O_2$  generated in a suspension of granules of pyrite, chalcopyrite and sphalerite. A fluorescent probe (3'-(p-aminophenyl) fluorescein; APF) was employed for this purpose. The next phase was to evaluate the adherence of CF-1 to cultures containing 2% w/v concentrations of each mineral, with and without the addition of exogenous  $H_2O_2$ . Adherence assessment was conducted using planktonic cell counting and fluorescence laser scanning microscopy (LSM). Bioinformatic analysis unveiled multiple genes encoding diguanylate cyclases and phosphodiesterases proteins, along with the DSF system implicated in cell-cell communication (quorum sensing). For adherence, we identified flagellin as a predominant structural element. The experimental results indicate that pyrite is the one that has a higher production of exogenous  $H_2O_2$  over time compared to other minerals ( $1 \mu\text{m}$  of  $H_2O_2$  at 8 hours). Adherence of CF-1 to minerals displayed the most favorable results on pyrite, where 94% of cells had adhered by 8 hours, surpassing chalcopyrite (78%) and sphalerite (74%) at the same interval. Addition of exogenous  $H_2O_2$  to mineral cultures correspondingly increased adherence, particularly pronounced on pyrite with 99% cell adherence within 6 hours. Microscopy experiments confirmed this trend, showcasing enhanced adherence on pyrite in the presence of  $H_2O_2$ . The study thus provides evidence of  $H_2O_2$  has on the activating effect and its potential role as a signaling molecule in CF-1 adherence to sulfide minerals.

Keywords: adherence, ROS, acidophiles, *Leptospirillum*, minerals

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).

Acknowledgments: Acknowledge to Erasmus+ program for their support and funding of my research stay at the Institute of Environmental Microbiology at TU Bergakademie Freiberg in Germany.

Tipo de presentación: Panel

**Osmolarity alters properties and production of *Salmonella Typhi* Outer Membrane Vesicles.**

**Francisco Parra Lathrop<sup>1</sup>**, Ignacio Fuentes Cáceres<sup>1</sup>, Diego Rojas Jacob<sup>1</sup>, Juan A. Fuentes<sup>1</sup>  
(1) Universidad Andres Bello, Facultad de ciencias de la vida, AV. Republica 330, Santiago, Chile

In recent years, substantial progress has been achieved in elucidating the multifaceted roles played by outer membrane vesicles (OMVs) in the bacterial life cycle. These vesicles have emerged as versatile tools that facilitate the survival and interactions of bacteria in both cellular and acellular environments. One prevailing notion regarding OMVs is their intimate association with the environmental cues sensed by bacteria.

*Salmonella Typhi* (*S. Typhi*), the causative agent of typhoid fever, is an exclusive human pathogen. During its pathogenesis, this bacterium infiltrates the gastrointestinal tract, where it encounters diverse environmental signals that modulate its phenotype. Among these signals, osmolarity stands out as a potent factor closely linked to an invasion-like phenotype. The elevated osmolarity prevailing in the intestine triggers the expression and secretion of toxins and invasion-related effectors by *S. Typhi*. Despite the significance of osmotic fluctuations as regulators for *S. Typhi*, the impact of this environmental signal on OMVs produced by *S. Typhi* remains known.

We posited that osmotic variations would induce alterations in OMV properties, affecting aspects such as size, protein composition, production, and cytotoxicity. Consequently, in this study, we conducted a comprehensive evaluation of *S. Typhi* OMVs cultured in hyperosmolar (0.3M NaCl) and hypoosmolar (0M NaCl) LB medium. OMV production was assessed by measuring both lipid and protein content. Subsequently, we examined the distinctions in protein composition through SDS-PAGE analysis and assessed size variations via TEM imaging. Finally, we gauged cytotoxicity employing an 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay.

Our findings revealed disparities in protein patterns, with the hyperosmolar OMVs exhibiting a greater number of distinct protein bands. Additionally, we noted that OMVs isolated from the hyperosmolar environment displayed higher protein content but lower lipid content in comparison to their hypoosmolar counterparts. Interestingly, no significant differences were observed regarding size distribution among the OMVs from the two conditions. Finally, the MTT assays demonstrated that hyperosmotic OMVs induced cytotoxicity in a concentration-dependent manner, while hypoosmolar OMVs did not exhibit cytotoxic effects.

In conclusion, our study demonstrates that osmotic variance impacts on OMV properties, leading to alterations in protein composition and cytotoxicity. Furthermore, these osmotic conditions influence the production of OMVs by *S. Typhi*.

Keywords: OMVs, *Salmonella*, Osmolarity

Financing: This work was funded by FONDECYT N°1220584

Tipo de presentación: Panel

**Contribution of Fur protein in the biofilm formation process in the fish pathogen *Yersinia ruckeri***

**Diego Ignacio Peñaloza<sup>1</sup>**, María José Barros Gamonal<sup>1</sup>, Nicolás Alonso Fernández<sup>1</sup>, Lillian Gabriela Acuña<sup>1</sup>, Iván Luis Calderón<sup>1</sup>  
(1) Universidad Andrés Bello, Ciencias Biológicas, Ciencias de la vida, República 330, Santiago, Chile

*Yersinia ruckeri*, the etiologic agent of yersiniosis, cause significant losses in the Chilean aquaculture industry by affecting valuable fish species. This issue has been exacerbated by a global rise in outbreaks attributed to this pathogen. The formation of biofilms is emerging as a potential contributor to this trend. Biofilms, which consist of bacteria adhering to surfaces within an extracellular matrix, provide an environment conducive to the development of more virulent strains. *Y. ruckeri* can effectively create these biofilms in marine settings by adhering to common aquaculture materials. This complex process involves multiple stages requiring synchronized physiological functions, leading bacteria from a planktonic to an biofilm lifestyle. A pivotal component of *Yersinia* biofilms is the exopolysaccharide (EPS), managed by the *hms* loci (*hmsHFRS*), regulating its production and transport. The underlying orchestration of the EPS synthesis largely relies on c-di-GMP levels, a second messenger synthesized by diguanylate cyclases (encoded by *hmsD* and *hmsT*) and hydrolyzed by phosphodiesterase (encoded by *hmsP*). In this context, the role of the transcriptional repressor Fur goes beyond the iron metabolism. It has been associated with biofilm formation either positively (as observed in *Edwardsiella piscicida*) or negatively (as seen in *Vibrio cholerae* or *Y. pestis*). Despite Fur's known role in biofilm regulation, its influence in *Y. ruckeri* remains unexplored. This study aimed to evaluate the impact of the *fur* gene deletion on biofilm formation of *Y. ruckeri*. By crystal violet assays and microscopy analyses, we observed that the absence of the Fur regulator enhances the biofilm formation, both in terms of area and EPS production with a 2.5-fold increase observed in the crystal violet assay. These results correlate with a nearly 3-fold increase in intracellular c-di-GMP levels in the mutant strain. Furthermore, qRT-PCR analysis revealed a decreased close to 0 in the expression of *hmsP* in initial stages, and increased of 1,5-fold to *hmsD* and 3-fold to *hmsT* at all observed points, explaining the higher levels of c-di-GMP and the increased of expression *hmsHFRS*, being 15 times higher than that observed in the WT strain. These findings indicate that Fur inhibits the biofilm formation process in *Y. ruckeri*.

Keywords: *Yersinia ruckeri*, Biofilm, fur, Mutant

Financing: Proyecto FONDECYT Regular número 1221610 Proyecto FONDECYT Inicio número 11201070 Beca Doctorado Nacional Folio 21211475



Tipo de presentación: Panel

**DNA extracellular traps (ETs) produced by vegetative *Dictyostelium discoideum* cells in response to *Klebsiella pneumoniae* and its lipopolysaccharide**

**Antonia Ramos Guzmán<sup>1</sup>**, Sebastián Farias<sup>2</sup>, Francisco Chávez<sup>1</sup>, Andrés Esteban Marcoleta Caldera<sup>2</sup>

(1) Systems Microbiology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Chile. Santiago, Chile.

(2) Integrative Microbiology Group, Structural and Molecular Biology Laboratory BEM, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Chile. Santiago, Chile.

The formation of extracellular traps (ETs) has been previously described in neutrophils and other immune cells of mammals. These structures, composed of DNA and surrounded by antimicrobial granules, play a pivotal role in innate immune defense by capturing and eliminating intracellular pathogens.

Recent research on *Dictyostelium discoideum* has highlighted the essential contribution of ET formation in phagocytic S cells during social development, as they trap and eradicate bacteria, contributing to the formation of sterile fruiting bodies. However, the precise engagement of ETs in the host-defense mechanisms against pathogens in vegetative *D. discoideum* cells remains poorly understood.

In this study, utilizing live-cell fluorescence imaging combined with global proteomics analysis, we have discovered the capacity of vegetative cells from *D. discoideum* to generate extracellular traps in the presence of both virulent and avirulent strains of *Klebsiella pneumoniae*, along with the lipopolysaccharide (LPS) derived from this strain. Furthermore, we have determined that treatment with DNase impairs the effective clearance of bacteria. Additionally, we have observed changes in the proteomic profile of the ETs when induced by LPS from *Klebsiella pneumoniae*.

These discoveries provide evidence that *D. discoideum* stands as a valuable model organism for investigating the evolution and conservation of traits involved in the dynamic formation of ETs. Furthermore, our results support the idea of *D. discoideum* as a model for studying cell-autonomous defenses.

Keywords: *Dictyostelium discoideum*, Neutrophil, Extracellular trap, *Klebsiella*, Lipopolysaccharide

Tipo de presentación: Panel

**Deciphering the biosynthesis mechanism of metallic nanoparticles in bacteria: role of exopolysaccharide in the synthesis and excretion of fluorescent cadmium nanoparticles.**

**Descifrando el mecanismo de biosíntesis de nanopartículas metálicas en bacterias: rol del exopolisacárido en la síntesis y excreción de nanopartículas fluorescentes de cadmio**

**Javiera Ramos-Zúñiga**<sup>1</sup>, Nicolás Bruna<sup>1</sup>, Felipe Valenzuela-Ibaceta<sup>1</sup>, Claudio Dietz-Vargas<sup>1</sup>, Nia Oetiker<sup>1</sup>, José Ramón Lamas<sup>2</sup>, Alberto Paradela<sup>2</sup>, José M. Pérez-Donoso<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Bionanotechnology and Microbiology Laboratory, Center for Bioinformatics and Integrative Biology (CBIB), Facultad de Ciencias Biológicas, Av. República #330, Santiago, Chile

(2) Proteomics Core Facility, Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Madrid, Spain

La biosíntesis de nanopartículas fluorescentes o *Quantum Dots* (QDs) es un proceso que emplea organismos como biofábricas de nanomateriales. Aunque se sabe que el proceso requiere metal y azufre para llevarse a cabo, los eventos moleculares o biomoléculas involucradas en el proceso (mecanismo) son aún desconocidos. Para comprender este proceso, se llevaron a cabo análisis morfológicos durante la síntesis de QDs de CdS en células expuestas a 60 o 180 µg/mL de CdCl<sub>2</sub> mediante TEM. Estos análisis revelaron la presencia de puntos electrodensos rodeados de materia orgánica, compuestos de cadmio y azufre, localizados en el periplasma y espacio extracelular. La caracterización de los QDs biosintetizados evidenció que las NPs están asociadas a un polímero compuesto por azúcares entre otras biomoléculas.

Para comprender a nivel celular este proceso se realizó una proteómica cuantitativa TMT11plex, que reveló cambios en los niveles de proteínas en células expuestas a condiciones de biosíntesis. Los resultados indicaron un aumento de proteínas involucradas en la síntesis de sustancias poliméricas extracelulares (EPS); proteínas pertenecientes a la síntesis de glucanos periplasmáticos, lípido A, y ácido colánico. Estos compuestos se polimerizan en el periplasma y luego se translocan al espacio extracelular. Asimismo, se determinó la sobreexpresión de proteínas de la síntesis y transporte de putrescina y espermidina, moléculas relacionadas con la formación de biofilm. Adicionalmente, se observó la sobreexpresión de proteínas relacionadas con el exporte de metales al periplasma (ZntA). Esta proteína expulsaría el metal al periplasma para la biosíntesis de QDs. Basándonos en estos hallazgos, podemos inferir que la síntesis de QDs de CdS es un proceso que ocurre preferentemente en el periplasma de *E. coli*. En este contexto, el metal es exportado al periplasma por ZntA donde podría interactuar con las poliaminas que contribuirían a su estabilización. Luego, esta estructura es trasladada hacia el exterior celular mediante la translocación de estructuras involucradas en la formación de EPS.

Los resultados de este trabajo aportan significativamente al conocimiento de los mecanismos de síntesis de QDs y su relación con la tolerancia a cadmio, un proceso que no había sido previamente descrito para este tipo de nanomateriales.

Keywords: Quantum Dots, Exopolysaccharides, Mechanisms of QDs Biosynthesis, CdS Nanoparticles, Cadmium resistance  
Financing: Financiado por Fondecyt 1200870

Tipo de presentación: Panel

**Minicells as a strategy for the accumulation and disposal of heavy metals in the form of nanoparticles by *Escherichia coli* cells**

**Minicélulas como estrategia para la acumulación y expulsión de metales pesados en la forma de nanopartículas por células de *Escherichia coli***

**Felipe Valenzuela-Ibaceta<sup>1</sup>**, Nicolás Torres-Olea<sup>1</sup>, Javiera Ramos-Zúñiga<sup>1</sup>, Claudio Dietz-Vargas<sup>1</sup>, José M. Pérez-Donoso<sup>1</sup>  
(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

La biosíntesis bacteriana de nanopartículas fluorescentes o *quantum dots* (QDs) representa un novedoso mecanismo de tolerancia a metales pesados. No obstante, se desconoce si existen vías de eliminación de estos QDs desde la célula. Recientemente, se ha descrito la formación de minicélulas como una forma de eliminación de proteínas dañadas, aumentando la resistencia de la bacteria a condiciones de estrés. En la misma línea, previamente describimos por primera vez la formación de minicélulas durante la biosíntesis de QDs en *E. coli*. En base a esto, hipotetizamos que las minicélulas son un mecanismo de acumulación y detoxificación de QDs en *E. coli*.

Realizamos biosíntesis de nanopartículas de CdS en las cepas de *E. coli* productoras de minicélulas  $\Delta minC$  y  $\Delta minCDE$ . Análisis por microscopía de fluorescencia revelaron que las minicélulas generadas muestran emisión de fluorescencia, lo que sugiere que estas se encuentran cargadas con QDs. La presencia de nanopartículas en minicélulas fue corroborada por microscopía electrónica de transmisión (TEM), y la coexistencia de cadmio y azufre fue analizada por espectroscopía de dispersión de energía (EDS). La cuantificación de cadmio por espectrometría de absorción atómica (FAAS) reveló que las minicélulas acumulan una mayor cantidad de cadmio que la célula bacilar. Además, un análisis de intensidad de fluorescencia sugiere que las minicélulas acumulan una mayor cantidad de nanopartículas fluorescentes, lo que resalta su capacidad de eliminación de QDs de la célula. La dinámica de biosíntesis en cepas productoras de minicélulas muestra que los QDs biosintetizados presentan una alta intensidad de fluorescencia incluso a tiempos de biosíntesis prolongado, lo que sugiere que la eliminación de QDs en minicélulas ocurre de forma continua.

Estos resultados nos permiten proponer un modelo en que *E. coli* acumula nanopartículas en las minicélulas en producción, probablemente como un mecanismo para eliminación del metal, lo que resalta su rol fisiológico en la expulsión de elementos dañinos en la célula y mantención del *fitness*. Además, este sistema de biosíntesis representa la oportunidad para la generación de nanopartículas recubiertas por minicélulas con biocompatibilidad mejorada para un mayor número de aplicaciones.

Keywords: Minicells, Fluorescent nanoparticles, cell division, heavy metals, *Escherichia coli*

Financing: Este trabajo fue financiado por el proyecto FONDECYT REGULAR 1200870

Tipo de presentación: Panel

**Determining the cleavage region of the Stp1 protease on the Sre1 transcription factor of *Xanthophyllomyces dendrorhous* through phenotypic analysis**

**Determinando mediante análisis fenotípico la región de corte de la proteasa Stp1 en el factor de transcripción Sre1 de *Xanthophyllomyces dendrorhous***

**Gabriela Apariz Villarroel**<sup>1</sup>, Maximiliano Alberto Venegas Ruiz<sup>1</sup>, Salvador Barahona<sup>2</sup>, Jennifer Alcaíno Gorman<sup>1</sup>, Marcelo Baeza<sup>1</sup>  
(1) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias  
(2) Universidad de Chile, Facultad de Ciencias

Las proteínas SREBPs (*Sterol Regulatory Element-Binding Proteins*) son factores de transcripción del tipo *bHLH* (*basic-helix-loop-helix*) que participan en la homeostasis de lípidos. La vía SREBP se encuentra muy bien estudiada en mamíferos al igual que su rol en la regulación de la síntesis de colesterol. Sin embargo, esta vía se encuentra menos estudiada en hongos. Uno de los modelos de estudio es en la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous*, donde se ha evidenciado que existen elementos comunes en la regulación de la síntesis de carotenoides y de esteroides. A la fecha, en este organismo se ha descrito el factor de transcripción Sre1, el cual es homólogo al factor de transcripción SREBP, el cual contiene dos regiones de transmembrana que anclan a la proteína a la membrana del retículo endoplasmático. Además, se demostró que la proteasa Stp1 está involucrada en la activación de Sre1 en *X. dendrorhous* al cortar a Sre1 para liberar a su dominio N-terminal, el cual se traslada al núcleo donde regula la expresión de genes involucrados en la producción de carotenoides y esteroides. Actualmente se desconoce la región donde Sre1 es procesada por Stp1. Previamente se diseñaron y construyeron 6 vectores (A-F) mediante la técnica *DNA assembler*, los cuales contienen módulos para reemplazar el gen *SRE1* nativo en *X. dendrorhous* por 6 versiones del mismo las que son cada vez más cortas. En este trabajo se transformó con tres de estas versiones (B, C y E, siendo E la más corta) a la cepa silvestre (CBS, crece en clotrimazol) y una cepa que no contiene el gen de Stp1 (CBS. $\Delta$ stp1, no crece en clotrimazol). De los transformantes obtenidos se observó que la transformación de ambas cepas con la versión E provocó cambios en el fenotipo con respecto a los parentales al ser sobreproductores de carotenoides y poder crecer en clotrimazol al 0.15  $\mu$ g/mL en el caso del transformante proveniente de CBS. $\Delta$ stp1. Considerando estos resultados y el diseño de las distintas versiones del gen *SRE1* utilizadas, se sugiere que la proteasa Stp1 corta al factor de transcripción Sre1 entre los aminoácidos 572 a 635 de la proteína.

Keywords: SREBP, *Xanthophyllomyces dendrorhous*, Proteasas  
Financing: FONDECYT 1220384

Tipo de presentación: Panel

**Functional analyses of the Hfq-1 and Hfq-2 molecular chaperones from *Piscirickettsia salmonis***

**Análisis funcional de las chaperonas moleculares Hfq-1 y Hfq-2 de *Piscirickettsia salmonis***

**Paulina Araya<sup>1</sup>**, Fernando Gómez<sup>1</sup>, Sergio Marshall<sup>1</sup>, Nicolás Ojeda<sup>1</sup>

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

La proteína chaperona Hfq (factor hospedero QB), es un homólogo bacteriano de las proteínas de unión al ARN de la familia Lsm eucariotas y arqueas. Esta proteína forma un anillo homohexagonal con un dominio C-terminal (CTD) flexible involucrado en la modulación de la actividad y la regulación de la interacción con ARN. El anillo presenta tres superficies de unión (proximal, distal y rim) para interactuar con ARNs pequeños (sARN), ARNs mensajeros (ARNm) y ADN. Su principal función es ser chaperona de ARN ayudando a estabilizarlo, permitiendo la traducción o en otros casos, su degradación.

En *Piscirickettsia salmonis* existen dos proteínas chaperonas de unión a ARN, denominadas Hfq-1 y Hfq-2, que plantean interrogantes respecto a sus posibles funciones específicas. En particular, la secuencia primaria de Hfq-1 dista significativamente de otros ortólogos.

Se desarrolló una estrategia para evaluar aspectos funcionales de Hfq-1, usando distintas aproximaciones. Se complementó un sistema heterólogo de *E. coli* K-12  $\Delta hfq$  para analizar el crecimiento de las mutantes. Por otro lado, se desarrollaron mutantes de *P. salmonis* utilizando un sistema de CRISPR interferente (CRISPRi), que inhibe de modo específico los genes *hfq-1* y/o *hfq-2*; así, se analizó la importancia de estos genes en el proceso infeccioso *in vitro*. Por otro lado, se evaluó la interacción con ácidos nucleicos, utilizando sondas sintéticas marcadas en ensayos de anisotropía de fluorescencia y geles de retardo. Finalmente, se evaluó la interacción del dominio CTD, con la región del rim, usando péptidos sintéticos y anisotropía de fluorescencia.

Nuestros resultados indican que la proteína Hfq-1 interactúa con sRNAs y ADN de modo específico. Por otro lado, Hfq-1 conservaría el sistema de autoregulación presente en el resto de Hfq reportadas, a pesar de ser la única proteína que posee en su secuencia aminoacídica residuos del rim y C-terminal con cargas invertidas: aminoácidos ácidos en la región rim y aminoácidos básicos en el dominio C-terminal. Finalmente, los mutantes de Hfq, revelan roles diferenciales para cada gen en el contexto del crecimiento y el proceso infeccioso *in vitro*.

Keywords: Hfq, CRISPRi, *Piscirickettsia salmonis*, Molecular chaperone

Financing: Funded by FONDECYT 11221251 Grant

Tipo de presentación: Panel

**Assessing GPD1 gene regulation from multiomics data in 1011 yeast isolates**

**Evaluando la regulación del gen GPD1 a partir de datos multiómicos en 1011 aislados de levaduras**

**Camila Baeza**<sup>1,2</sup>, Diego Ruiz<sup>1,2</sup>, Matteo DeChiara<sup>3</sup>, Sakshi Khaiwal<sup>3</sup>, Gianni Liti<sup>3</sup>, Francisco Salinas<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile

(2) Millennium Institute for Integrative Biology (iBIO), Santiago, Chile

(3) Université de Nice Sophia Antipolis, Institute of Research on Cancer and Ageing of Nice (IRCAN), Faculté de Médecine, Nice, France

Alcoholic fermentation or 'glucose fermentation pathway' is a yeast metabolic process, by which glucose is converted into ethanol, carbon dioxide, and other by-products such as acetate and glycerol. The industrial importance of glycerol has led to important efforts toward the transcriptional control of genes responsible of its production. In this work, we analysed the regulatory region of the *GPD1* gene, the main determinant of glycerol production in yeast. By using the genome sequencing information from 1,011 yeast strains, we bioinformatically analysed a 610 bp region from the *GPD1* promoter (*pGPD1*). Initially, we identified several strains carrying SNPs in the *pGPD1*. Afterwards, we used transcriptomic and proteomic data from the same set of yeast strains to correlate the mRNA and protein expression levels with the strains carrying SNPs in the *pGPD1*. Based on this information, five *pGPD1* from different yeast strains were selected, where the strains AKM (Malaysian clade), BCB (French Guiana clade), and ASN (French Dairy clade) showed the highest mRNA and protein expression levels, whereas the strains BEK (African beer clade) and AFM (Sake clade) showed the lowest mRNA and protein expression levels. These five promoters were selected for validation using luciferase and *mCherry* as transcriptional and translational reporters, respectively. The experimental results confirmed that the SNPs found at *pGPD1* are determinants in *GPD1* gene regulation. In conclusion, the bioinformatics approach enabled us to uncover the complex regulation controlling *GPD1* gene expression.

Keywords: Yeast, GPD1, Promoter, Regulation

Financing: ANID-FONDECYT 1210955, Beca Doctorado Nacional 21200066

Tipo de presentación: Panel

**Classical and alternative activation modulates response to *Piscirickettsia salmonis* (LF-89) in *Salmo salar* macrophages**

**Activación de macrófagos por vía clásica y alternativa modula la respuesta a *Piscirickettsia salmonis* (LF-89) en *Salmo salar***

**Verónica Barra**<sup>1,2</sup>, Jaime Eugenio Figueroa Valverde<sup>1,2</sup>, Gudrun Kausel<sup>1</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Campus Isla Teja, Valdivia, Chile  
(2) Centro FONDAF, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), O'Higgins 1695, Concepción, Chile

*Piscirickettsia salmonis* (*P. salmonis*), bacteria intracelular facultativa, es el agente causal de la enfermedad que provoca mayores mortalidades asociadas a causas infecciosas en la acuicultura chilena. Se ha evidenciado resistencia natural a la infección en salmón Atlántico (*S. salar*), asociada al metabolismo de hierro en riñón anterior. Sin embargo, no está claro el mecanismo que explica las diferencias entre peces resistentes y susceptibles a *P. salmonis*. Evidencia en mamíferos demuestra que macrófagos desencadenan respuestas diferentes a un patógeno intracelular, con diferencias metabólicas y en pronóstico, lo que se asocia al estado de activación de los macrófagos al ser infectados. En base a esto, en este estudio evaluamos si macrófagos de *S. salar* activados por la vía clásica (M1) y alternativa (M2) presentan respuestas diferentes a *P. salmonis*.

Células SHK-1 fueron diferenciadas *in-vitro* con lipopolisacáridos (LPS), adenosín monofosfato cíclico (AMPC) o medio L-15 como control no diferenciado antes de la infección con *P. salmonis* cepa LF-89. La diferenciación fue evaluada mediante RNA-Seq y RT-qPCR, y los cambios morfológicos fueron medidos con el software ImageJ. La respuesta a la infección se midió mediante RNA-Seq, RT-qPCR y ensayo MTT.

Se identificó y propuso marcadores de diferenciación de macrófagos M1 y M2. Adicionalmente, luego de la infección se logró detectar un aumento en un 33% de la viabilidad de las células estimuladas con LPS en comparación con células no estimuladas y células estimuladas con AMPC. Luego de la infección, se identificó que la expresión transcripcional de varios genes inflamatorios fue inducida en macrófagos M2 pero en macrófagos M1, esta inducción disminuyó.

Este estudio es el primero en demostrar la capacidad de macrófagos de activar diferentes vías de señalización luego de ser infectados con *P. salmonis*, afectando la viabilidad de las células dependiendo de su estado de activación al momento de ser infectados. Esto proporciona información relevante en cuanto a abrir la posibilidad de estudiar factores ambientales que favorezcan la diferenciación hacia M1 o M2, en busca de manejar la enfermedad desde la prevención.

**Keywords:** *Piscirickettsia salmonis*, *Salmo salar*, macrófagos, polarización, inmunidad innata

**Financing:** Beca de Doctorado Nacional ANID 21190702 y FONDAF-INCAR, ANID 1522A0004

**Acknowledgments:** El financiamiento de FONDAF-INCAR y Beca de Doctorado Nacional ANID, así como el conocimiento y experiencia brindado por los doctores Jaime Figueroa, Gudrun Kausel, Anita Arenas, Javier Canales e integrantes del Lab. BMP, han permitido el desarrollo de esta investigación.

Tipo de presentación: Panel

### Variations in the alpha-factor mating response in the *Saccharomyces* genus.

José Ignacio Benavides Parra<sup>1,2</sup>, Felipe Muñoz<sup>1,2</sup>, Felipe Sandoval<sup>1,2</sup>, Jennifer Molinet<sup>2</sup>, Francisco Cubillos<sup>1,2,3</sup>

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

(2) Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), Av. Libertador Bernardo O'Higgins 340, Santiago, Chile

(3) Millenium Nucleus of Patagonian Limit of Life (LiLi), Santiago, Chile

During sexual reproduction, yeasts send signals through the release of peptide pheromones, which induce a signaling cascade that generates cell cycle arrest and promotes chemotropism towards the partner and fuse to generate a zygote. In *Saccharomyces* genus, the pheromones that regulate this process are called a-factor and  $\alpha$ -factor ( $\alpha$ F), which are secreted by *MATa* and *MAT $\alpha$*  cells, respectively. From these two pheromones, the  $\alpha$ F has been deeply studied. This trigger cell division arrests on *MATa* cells. Hybrids between *Saccharomyces* species are well-known in fermentation environments and the most representative case has been *S.pastorianus*, which is a hybrid between *S.cerevisiae* and *S.eubayanus*. In addition, other hybrid strains of *S.uvarum*, *S.paradoxus* and *S.kudriavzevii* with *S.cerevisiae* have also been reported. The fact that most-known hybrids have *S.cerevisiae* as a common parent has led to the question of whether this species holds a higher mating ability, or whether the other species of the genus *Saccharomyces* have a low mating ability. In this study, we aim to unveil the differences in the  $\alpha$ F mating response across the *Saccharomyces* genus that could explain these observations. For this, we quantified the sensitivity of 8 representative *MATa* *Saccharomyces* strains to a commercial *S.cerevisiae*  $\alpha$ F, evaluating its growth arrest at increasing pheromone concentrations. Our results indicate a differential response inside the genus, where some species, such as *S.eubayanus* exhibited a lower  $\alpha$ F response compared to other species. A bioinformatic analysis identified polymorphisms between the  $\alpha$ F that would give a tentative explanation to the phenotypic differences across the genus. To validate this observation we measure the sensibility to the different  $\alpha$ F in co-cultures between our 8 *Saccharomyces* representatives strains and genetically engineered strains of *S. cerevisiae*, which are able to secrete different  $\alpha$ F from the *Saccharomyces* genus in a light-inducible manner, measuring the growth of strains by using episomal reporters with the actin promoter fused to GFP and mTuquoise2 for each strain. In this research it was observed that, unlike *S.cerevisiae*, the other species of the *Saccharomyces* genus do not show a high-sensitivity to the  $\alpha$ -factor, suggesting that differences in mating across species is due to the sensitivity to this factor.

Keywords: yeast, mating, Alpha-factor



Tipo de presentación: Panel

**Identification of molecular variants responsible for differences in industrial phenotypes in native yeasts**

**Identificación de variantes moleculares responsables de diferencias en fenotipos industriales en levaduras nativas**

**Agustín Cofré<sup>1</sup>**, Francisco Cubillos Riffo<sup>1</sup>

(1) Universidad de Santiago de Chile, Laboratorio de Genética Molecular, Facultad de Química y Biología, Av. Libertador Bernardo O'Higgins, 9170022 Estación Central, Región Metropolitana, Santiago, Chile

La levadura *Saccharomyces pastorianus* es un híbrido entre *S. cerevisiae* y *S. eubayanus*, y es la responsable de la fermentación de cerveza lager. *S. eubayanus* fue recientemente descubierta en la Patagonia Chileno-Argentina y presenta cinco linajes genéticos con una alta variabilidad genética y fenotípica entre ellos, incluyendo sus fenotipos fermentativos. La variabilidad a nivel de especie se presenta para fenotipos tales como, producción de compuestos volátiles (CVs), sedimentación, viabilidad y vitalidad durante la fermentación. Adicionalmente, en el Laboratorio de Genética Molecular (LGM) una serie de cepas han sido mejoradas genéticamente para estos fenotipos, logrando valores de interés comercial. Sin embargo, a la fecha se desconocen las variantes moleculares responsables de las diferencias fenotípicas entre cepas evolucionadas de *S. eubayanus*. Este trabajo tiene por objetivo identificar los polimorfismos responsables de las diferencias en los fenotipos fermentativos antes mencionados entre cepas evolucionadas de *S. eubayanus*. Para esto, utilizamos una estrategia de ligamiento genético y así buscar la relación entre secuencias genómicas y los fenotipos fermentativos en *S. eubayanus* por medio de análisis de QTLs. En una primera etapa se evaluaron distintas cepas candidatas y se seleccionaron dos, CLEtOH5.1 y CLAET815.1, las cuales mostraron la mayor cantidad de fenotipos con diferencias estadísticamente significativas entre ellas. Luego, haciendo uso de su alta capacidad de recombinación y esporulación, se generaron híbridos y posteriormente, segregantes. Tanto híbridos como segregantes fueron evaluados para los fenotipos fermentativos mencionados. En este caso, se observó que las distintas generaciones presentan fenotipos diversos, con una producción de CVs y perfiles aromáticos distintivos y únicos, lo cual se podrá ver reflejado en la divergencia genética que poseen las cepas. Finalmente, se buscará secuenciar los genomas de tanto los parentales, híbridos y segregantes, para buscar las secuencias responsables de estas diferencias fenotípicas.

Keywords: Yeast, Mating, QTLs, Fermentative, *Saccharomyces eubayanus*

Financing: FONDECYT 1180161.

Acknowledgments: Se agradece a USACH por financiar la participación en el congreso por la Beca de Apoyo a la investigación 2023

Tipo de presentación: Panel

**Effect on carotenoid production in mutants of *Xanthophyllomyces dendrorhous* carrying the crtE gene (geranylgeranyl pyrophosphate synthase) regulated by the promoter of the HMGS gene (hydroxymethylglutaryl-CoA synthase) from the mevalonate pathway**

**Efecto en la producción de carotenoides en mutantes de *Xanthophyllomyces dendrorhous* que poseen el gen crtE (geranylgeranyl-pirofosfato sintasa) regulado por el promotor del gen HMGS (hidroxi-metil-glutaril-CoA sintasa) de la vía del mevalonato**

**Alejandro Durán<sup>1</sup>**, Maximiliano Venegas<sup>1</sup>, Salvador Barahona<sup>1</sup>, Dionisia Sepúlveda<sup>1</sup>, Marcelo Baeza<sup>1</sup>, Victor Cifuentes<sup>1</sup>, Jennifer Alcaíno<sup>1</sup>

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

*Xanthophyllomyces dendrorhous* es una levadura que sintetiza el carotenoide astaxantina, con aplicaciones biotecnológicas en la industria farmacéutica, cosmética y acuícola. La síntesis de carotenoides inicia con la condensación de dos moléculas de acetil-CoA, compartiendo pasos con la vía de ergosterol hasta la formación de farnesil-pirofosfato (FPP) comprometiendo a la vía del mevalonato. El primer paso hacia la síntesis de carotenoides es la formación de geranylgeranyl-pirofosfato (GGPP) a partir de FPP catalizado por la GGPP sintasa (gen *crtE*). Se ha demostrado que la biosíntesis de astaxantina y ergosterol son reguladas por el factor de transcripción Sre1 de *X. dendrorhous*, y el gen de la hidroxi-metil-glutaril-CoA sintasa (*HMGS*) de la vía del mevalonato es blanco de Sre1. El objetivo de trabajo fue evaluar el efecto sobre la síntesis de carotenoides reemplazando el promotor del gen *crtE* por el promotor del gen *HMGS* en mutantes de la levadura que poseen al factor Sre1 en su forma activa: cepa *CBS.cyp61*<sup>-</sup> que no produce ergosterol y sobreproduce carotenoides, cepa *CBS.SRE1N.FLAG* que expresa la forma activa de Sre1 y sobreproduce carotenoides, y cepa silvestre (*CBS6938*). Mediante OE-PCR y experimentos de clonado molecular, se construyó un módulo que contiene la región río arriba del promotor de *crtE* (*UP*), un módulo de resistencia a antibiótico (*hph*), el promotor de *HMGS* (*pHMGS*) y un fragmento de *crtE* desde el codón de inicio de la traducción. Con esto se transformaron las cepas en estudio, mediante recombinación homóloga se reemplazó el promotor de *crtE*. Los transformantes obtenidos *CBS.pHMGS/crtE*, *CBS.cyp61*<sup>-</sup>.*pHMGS/crtE* y *CBS.SRE1N.FLAG.pHMGS/crtE* fueron confirmados mediante PCR, se evaluaron los niveles de transcritos de *crtE* y producción de carotenoides en comparación con sus respectivas cepas parentales. Los niveles de transcritos de *crtE* aumentaron en *CBS.cyp61*<sup>-</sup>.*pHMGS/crtE* y *CBS.SRE1N.FLAG.pHMGS/crtE* en más de tres y cuatro veces, respectivamente, y la producción de carotenoides incrementó 1,43 y 1,22 veces en las mismas dos cepas. Esto no se observó en la cepa *CBS.pHMGS/crtE*, que no posee Sre1 activo. Por lo tanto, reemplazar promotores de genes carotenogénicos por promotores regulados por Sre1 en cepas que poseen al factor de transcripción en su forma activa, favorece la producción de carotenoides.

Keywords: *X. dendrorhous*, SREBP/ Sre1, carotenogénesis, astaxantina, vía del mevalonato  
Financing: FONDECYT 1220384

Tipo de presentación: Panel

**Identification of the minimal protein module in the BcWCL1 photoreceptor for applications in yeast optogenetics**

**Identificación del módulo proteico mínimo en el fotorreceptor BcWCL1 para aplicaciones optogenéticas en levaduras**

**Matias Guerrero**<sup>1,2</sup>, Carlos Ruiz<sup>1,2</sup>, Andrés Romero<sup>1,2</sup>, Luka Robeson<sup>1</sup>, Francisco Salinas<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Laboratorio de Genómica Funcional, Facultad de Ciencias, Av. Rector Eduardo Morales Miranda S/N 5090000, Valdivia, Chile

(2) ANID-Millennium Science Initiative-Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), Avda. Libertador Bernardo O'Higgins 340 8330025, Santiago, Chile

El fotorreceptor de luz azul BcWCL1 es una proteína del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*. Esta proteína es un elemento clave del reloj circadiano del hongo y, además, es ortólogo a NcWC-1 de *Neurospora crassa*. BcWCL1 y NcWC-1 tienen una estructura proteica similar que incluye un dominio LOV (Light Oxygen Voltage) para sensor luz azul, dos dominios PAS (Per Arnt Sim) que participan en interacciones proteína-proteína, y un dominio de unión de DNA de la familia GATA. Trabajos recientes han demostrado que una versión de BcWCL1 sin los dominios PAS (BcWCL1<sup>PASΔ</sup>) responde a un estímulo de luz azul, y que esta interacción funciona como un interruptor de un solo componente en levadura. En este trabajo se logró demostrar que esta interacción ocurre a través de la región N-terminal de la proteína. Utilizando factores de transcripción quiméricos y el gen reportero luciferasa, se determinó la actividad transcripcional de distintos fragmentos de las regiones N-terminal y C-terminal de BcWCL1<sup>PASΔ</sup>, identificando un dominio de activación transcripcional (AD) en la región N-terminal. Los niveles de activación transcripcional del nuevo AD identificado en BcWCL1<sup>PASΔ</sup> son comparables a los obtenidos con otros ADs anteriormente descritos (Gal4-AD, VP16 y p65). Paralelamente, se buscó reducir el tamaño de la proteína para favorecer su utilización en sistemas optogenéticos de un solo componente. Para ello, se eliminaron fragmentos de BcWCL1<sup>PASΔ</sup> entre el dominio LOV y la región C-terminal, generando versiones cortas de la proteína, las cuales se analizaron utilizando un sistema de doble híbrido en levadura (Yeast two-hybrid). Los resultados demostraron que remover toda la región C-terminal permite que la proteína conserve su respuesta a luz azul, activando la transcripción del gen reportero de la luciferasa en niveles comparables a sistemas optogenéticos ya descritos (FUN-LOV). En conclusión, la proteína BcWCL1<sup>PASΔ</sup> dimeriza y activa la transcripción de forma dependiente de luz azul, permitiendo su futura aplicación en optogenética en levadura.

**Keywords:** *Botrytis cinerea*, Optogenética, Levadura, Fotorreceptor, Activación transcripcional

**Financing:** Este trabajo es financiado por ANID-Millennium Science Initiative-Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), ANID-FONDECYT N°1210955 del Dr. Francisco Salinas y Beca ANID de Doctorado Nacional N°21220756 del estudiante de doctorado Matias Guerrero.

**Acknowledgments:** Agradecimientos al Dr. Paulo Canessa y a Vicente Rojas por proveernos del plásmido que contiene la secuencia de BcWCL1<sup>PASΔ</sup>.

Tipo de presentación: Panel

### Understanding the maltose utilization regulatory circuit through the genus *Saccharomyces*

#### Comprendiendo el circuito regulatorio de utilización de maltosa a través del género *Saccharomyces*

**Natalia Gárate Jara**<sup>1,2</sup>, Pablo Quintrel<sup>1,2</sup>, Catalina Muñoz<sup>1,3</sup>, Felipe Muñoz-Guzman<sup>1,2</sup>, Francisco A. Cubillos<sup>1,2</sup>

(1) Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), Santiago, 7500574, Chile

(2) Facultad de Química y Biología, Departamento de Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, 9170022, Chile

(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Alameda 3040, Chile

*Saccharomyces*, género de levaduras que alberga 8 especies distintas que se caracterizan por ser capaces de metabolizar una amplia variedad de fuentes de carbono. *Saccharomyces cerevisiae*, microorganismo modelo tiene un rol importante en diversas industrias como la cervecera; aquí la levadura se enfrenta a una mezcla compleja de azúcares que están presentes en el mosto cervecero, principalmente glucosa y maltosa, los cuales son metabolizados en dióxido de carbono y etanol. Estos tipos de medios complejos conocidos como medios diaúxicos; representan un desafío para la levadura. La presencia de glucosa en el medio desencadena un fenómeno transcripcional llamado represión por glucosa, que inhibe la expresión de genes relacionados con el metabolismo de azúcares no preferidos tales como los encontrados en el locus *MAL*, relacionados con el consumo de maltosa. Una vez agotada la glucosa en el medio se produce un recableado metabólico en la célula que permite expresar genes asociados al consumo de azúcares alternativos, produciendo fase de latencia extensa que pueden durar desde horas hasta días según la especie y cepa.

Este fenómeno ha sido ampliamente descrito en diversas cepas de *S. cerevisiae*, pero en otras especies del género son limitados los estudios asociados a la fermentación de cerveza. Es por esto que para comprender más a fondo el fenómeno de represión por glucosa y adaptación a maltosa dentro del género *Saccharomyces* se realizó un screening en distintas concentraciones de maltosa a cepas de *Saccharomyces eubayanus*, *S. uvarum* y *S. cerevisiae* pertenecientes a distintos linajes. Además, mediante una estrategia episomal se cuantificaron niveles de expresión del gen *MAL32* que codifica a una maltasa utilizando el reportero Luciferasa bajo el comando del promotor de *MAL32*. Logrando encontrar varianza en el crecimiento asociados a diferentes niveles de expresión de este gen, tanto a nivel de cepa como especie indicando que el consumo de maltosa está sujeto a variación natural a nivel intra e inter especie.

La variación natural entre especies del género *Saccharomyces* sirve de materia prima para comprender cómo funcionan procesos complejos como la adaptación a azúcares alternativos como maltosa y otros procesos como fermentación.

Keywords: Transcripción, crecimiento diaúxico, *Saccharomyces*, regulación genética, metabolismo

Financing: - FONDECYT Regular 1180161 "Decoding the genomic and phenomic complexity of the cryotolerant yeast *Saccharomyces eubayanus*"- iBio ICN17\_022 ICM-ANID-Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile

Tipo de presentación: Panel

**Iron-responsive Non-coding RNAs in *Enterococcus faecalis*.**

**ARN no codificantes de respuesta a hierro en *Enterococcus faecalis*.**

**Sebastián Gómez**<sup>1,2</sup>, Jorge Torres<sup>1,2</sup>, Víctor Aliaga<sup>1,2</sup>, Mauricio Latorre<sup>1,2,3</sup>

(1) Universidad de O'Higgins, Laboratorio de Bioingeniería, Instituto de Ciencias de la Ingeniería, Rancagua, Chile

(2) Universidad de O'Higgins, Centro de biología de sistemas para el estudio de comunidades extremófilas de relaves mineros (SYSTEMIX), Rancagua, Chile

(3) Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Laboratorio de bioinformática y expresión génica, Santiago, Chile

*Enterococcus faecalis*, patógeno responsable de infecciones intrahospitalarias, regula su homeostasis de hierro a través del factor de transcripción Fur. Sin embargo, estudios previos han constatado que cambios transcripcionales a nivel global no pueden ser completamente explicados por el regulador Fur, lo que sugiere la existencia de otros mecanismos de regulación génica activados o reprimidos por el hierro. En la literatura se ha reportado la existencia de ARN no codificantes (ARNnc) capaces de regular la expresión génica de manera post-transcripcional en *E. faecalis*. Aunque se han descrito 150 ARNnc en esta bacteria, la respuesta de estos elementos frente a cambios en la disponibilidad de hierro aún no se ha estudiado. Para esto, el ARN total fue obtenido, secuenciado (RNAseq) y analizado, luego que la bacteria se expuso a una concentración no letal de exceso ( $\text{FeCl}_3$  0.5 mM) y déficit (2,2-dipyridil 0.5 mM) por 3 h. Nuestros análisis revelaron la presencia de 485 nuevos ARNnc, lo que representa un aumento significativo a lo descrito previamente. Utilizando la herramienta bioinformática IntaRNA, logramos identificar un total de 1804 posibles blancos transcripcionales para los ARNnc encontrados. Interesantemente, 4 ARNnc podrían estar regulando directamente la expresión de sistemas de homeostasis de hierro entre los cuales se encuentran el sistema de ingreso de ion ferroso, FeoB y además una proteína hemolisina (HlyIII). De estos 4 ARNnc reguladores, se encontró conservación en el genoma en 3 de ellos dentro del orden *Lactobacillales*). Finalmente, los cambios de expresión de estos 4 ARNnc fueron validados mediante qPCR, dando cuenta de la existencia de estos elementos con capacidad de cambiar su abundancia a nivel transcripcional ante un aumento o déficit de hierro. En resumen, nuestros hallazgos amplían la comprensión de la respuesta transcripcional de *E. faecalis* frente cambios en la biodisponibilidad de hierro extracelular, dando cuenta de la presencia de otros reguladores no proteicos posiblemente involucrados en el control regulatorio de mecanismos de homeostasis de este metal, hallazgos que eventualmente podrían ser útiles para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas dirigidas a combatir las infecciones asociadas a este patógeno.

Keywords: ARN no codificantes, Hierro, Fur, Regulación Transcripcional, Homeostasis

Financing: Centro de Modelamiento Matemático (CMM) BASAL ANID FB210005, ANID – Millennium Science Initiative Program – ICN2021\_044, Fondo Interdisciplinario Interno UOH, ANID FONDECYT 1230194, SYSTEMIX ANID ANILLO ACT210004.

Tipo de presentación: Panel

***Piscirickettsia salmonis* induces its vestigial natural competence machinery during the infection process**

**Sebastian Higuera<sup>1</sup>**, Nicolás Ojeda<sup>1</sup>, Sergio Marshall<sup>1</sup>

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

*Piscirickettsia salmonis* is a highly virulent and contagious Gram-negative bacterium, and the causative agent of piscirickettsiosis (SRS), a septicemic disease constituting the leading cause of mortality in commercial salmonid species, with particular aggressiveness in Chile. Despite its isolation in 1989, many aspects of the life cycle and pathogenicity of this microorganism remain unknown, limiting the development of effective control strategies. Moreover, none of the developed vaccines has been able to protect the fish, resulting in widespread reliance on antibiotics as the predominant disease-management approach. This condition persists as one of the unresolved challenges within the industry. Finally, limited genetic tools have hindered the creation of functional assays and live vaccine alternatives.

Our analysis of high-quality genomes has provided unprecedented insight into *P. salmonis* and its genetic landscape: we detected phylogenetically-conserved TE insertions in the coding sequence of the *comEC* gene of all genomes sequenced to date. In all known naturally competent bacteria, the ComEC protein is responsible for the translocation of single-stranded DNA (ssDNA) from the periplasmic space to the cytosol, the first step for genetic transformation. Consequently, the loss of *comEC* gene in *P. salmonis* and the phylogenetic conservation of this interruption suggest an ancestral selection for competence loss. To evaluate the potential inducibility of the dormant competence machinery in *P. salmonis*, we assessed gene expression levels of competence-related genes, including *comEA*, *comFC*, *comM*, and the N-terminal region of *comEC*, using RT-qPCR during infection of susceptible cell lines. These experiments revealed a significant overexpression of all these genes during infection, indicating that the regulatory and expression mechanisms of these genes remain active despite the absence of *comEC* suggesting the presence of a dormant competence machinery in the target bacteria.

Considering our results and genomic analyses, we hypothesize that this ancestral machinery of competence can be recovered through heterologous genetic complementation with a functional *comEC* gene. Our final goal is to develop modified *P. salmonis* strains, competent for genetic transformation upon induction under laboratory conditions, to streamline genetic engineering approaches for basic and applied research.

Keywords: *Piscirickettsia salmonis*, Natural Competence, *comEC*

Financing: Funded by FONDECYT 1231323 Grant

Tipo de presentación: Panel

**Relevance of holdase chaperones and proteases against pH changes in the acidophilic bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270.**

**Katherin Izquierdo Fiallo**<sup>1</sup>, Claudia Muñoz<sup>1</sup>, Gloria Levican<sup>1</sup>

(1) Universidad de Santiago de Chile, Laboratorio de Química y Biología, Facultad de Química y Biología, Avenida Libertador General Bernardo O'Higgins 3363 Santiago, Chile, Santiago de Chile, Chile

*Acidithiobacillus ferrooxidans* is a chemolithoautotrophic acidophilic bacterium belonging to microbial communities involved in the bioleaching of minerals; in this environment, it must tolerate extreme conditions that can damage the protein. The maintenance of protein homeostasis (proteostasis) is carried out mainly by the activity of ATP-(in) dependent molecular chaperones that prevent misfolding and aggregation, and proteases that degrade proteins that have lost their functionality. The relevance of these systems in acidophilic bacteria is still unknown. The genome sequence was inspected to detect genes that code for classical cytoplasmic chaperones, membrane and periplasmic chaperones, stress response holdase chaperones, and proteolytic systems by using the SnapGene 6.0.2 program. Identified genes and predicted protein products were analyzed by sequence comparison using NCBI Blast tools (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). The presence of conserved domains/motifs of each identified protein was also confirmed using CDART and CDD tools from the NCBI portal (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd>). Using these bioinformatics approaches, we identified elements of the proteostasis network in *A. ferrooxidans* ATCC23270. Using RT-qPCR, we evaluated the expression levels of encoding genes in cells exposed to different pH. The bioinformatics analysis showed a high redundancy of genes encoding holdases chaperones and proteases like *hsp* genes (*hsp20.1*, *hsp20.2*, and *hsp20.3*) and *lon* genes (*lon.1*, *lon.2*, and *lon.3*). The transcriptional analysis showed that several genes encoding ATP-independent holdase were up-regulated (*hsp20.2*, *lon.1*, *ridA.1*, *ridA.2*, *slyD* and *hsp31*) in cells exposed to pH 1,2 for 90 min, meanwhile only *hsp20.1* and *hsp20.2* were up-regulated in cells exposed to pH 2 for 90 min regarding the control culture (pH 1,6). The intracellular ATP levels and intracellular ROS concentration were also determined. The intracellular ATP levels showed a significantly lower concentration in cells exposed to different pH versus the control cultures (100%). The intracellular ROS concentration did not differ significantly in cells exposed to different pH against the control cultures (100%). Since holdase chaperones do not use ATP, these results suggest that in *A. ferrooxidans* they could contribute to the proteostasis under pH changes stress guaranteeing that ATP is available for other cellular processes. This work paves the way to understanding the proteostasis systems in extreme acidophilic bacteria.

Keywords: Proteostasis, acidophilic, chemolithoautotrophic, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, chaperones

Financing: Financing by: Fondecyt Regular 1211386, Beca Conicyt 21210134. Dicyt-USACH, Beca de Apoyo a la Investigacion 2023 (USACH); Beca de Apoyo a la Investigacion y Movilidad 2023 (USACH).

Tipo de presentación: Panel

**Classification of the Omicron BA.1.1, BA.2, BA.2.12.1, BA.4 and BA.5 sub-variants by developing specific hydrolysis probes for allelic discrimination using the most prevalent SARS-CoV-2 SNPs in Chile.**

**Clasificación de las sub-variantes Ómicron BA.1.1, BA.2, BA.2.12.1, BA.4 y BA.5 mediante el desarrollo de sondas de hidrólisis específicas para la discriminación alélica utilizando los SNP más prevalentes del SARS-CoV-2 en Chile.**

**Daniel León Guajardo**<sup>1</sup>, Waldo A. Díaz-Vásquez<sup>1</sup>

(1) Universidad San Sebastián, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Ciencias para el Cuidado de la Salud, Providencia, Santiago de Chile, Chile

El SARS-CoV-2, causante de la pandemia COVID-19, experimenta una alta tasa de mutación que, en su mayoría, es resultado de errores en la replicación causados por la ARN polimerasa, y además, pueden ser influenciadas por presión selectiva del propio sistema inmunitario. Estas variaciones pueden mejorar la aptitud viral y generan diversidad genómica.

La aparición de mutaciones afecta diagnósticos, tratamientos y la efectividad de vacunas, por lo tanto, urge desarrollar métodos que permitan la identificación oportuna de nuevas variantes.

En 2022, realizamos un minucioso seguimiento de variantes en informes emitidos por el ISPCH, y seleccionamos las variantes más frecuentes a nivel local. Consultando la plataforma Outbreak.info, identificamos y seleccionamos las mutaciones con prevalencia >95%. Utilizando secuencias genómicas de la base de datos de GISAID diseñamos partidores específicos para los genes S, M y N del genoma del SARS-CoV-2, enfocándonos en las variantes BA.1.1, BA.2, BA.2.12.1, BA.4 y BA.5. Estos partidores fueron diseñados para detectar los SNP más prevalentes, mediante RT-qPCR.

Nuestros resultados de discriminación alélica que implicó la genotipificación de las variantes antes mencionadas, se compararon y confirmaron mediante el uso de herramientas bioinformáticas (Pangolín) en muestras ya secuenciadas. Los hallazgos indican que fue posible identificar con éxito las variantes en estudio.

Actualmente, los contagios por sub-variantes (Ómicron) generan brotes, amenazas y aparición de nuevos síntomas. Por tanto, el desarrollo de estos métodos resultan esenciales para la respuesta oportuna a la aparición de variantes. El uso de nuestras sondas permitió la clasificación de sub-variantes predominantes en Chile y en menos de 24 horas. Además, el previo diseño hacia mutaciones prevalentes en VOCs anteriores ha garantizado la detección de estas mutaciones en las variantes actuales.

La mayoría de las mutaciones persistentes en sub-variantes Ómicron se encuentran en el gen S. La identificación de SNPs en genes N y M ha permitido caracterizar estas sub-variantes de manera sólida. Aunque genes N y M presentan mutaciones estables como el gen S, difieren en mutaciones específicas entre cada sub-variante. Estas diferencias fueron utilizadas en nuestras sondas para la detección y diferenciación del SARS-CoV-2, lo que destaca la relevancia de otros genes en la identificación del virus.

Keywords: SARS-CoV-2, Variant discrimination assay, Mutation, Polymorphisms, RT-qPCR

Financing: Universidad San Sebastián CU90LAMI00.



Tipo de presentación: Panel

**An inducible CRISPRi platform for gene interrogation in *Piscirickettsia salmonis***

**Nicolás Ojeda**<sup>1</sup>, Bryan Menares<sup>1</sup>, Cristian Yañez<sup>1</sup>, Paulina Araya<sup>1</sup>, Sergio Marshall<sup>1</sup>

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

*Piscirickettsia salmonis* (*P. salmonis*) is a highly virulent and contagious, facultative intracellular Gram-negative bacterium, which has been affecting net pen-reared salmonid fish worldwide since the last third of the past century, with an especially severe impact in Chile. The bacterium is the etiological agent of a deadly systemic disease named SRS (Salmonid Rickettsial Syndrome) or Piscirickettsiosis, particularly affecting the muscle tissues of salmonid fish, severely threatening its commercial value and sustainability.

A significant number of putative genes annotated in *P. salmonis* genomes have no orthologs with significant homology in other species, nor have any experimental functional evidence, which makes interpretation of genomic data daunting. Indeed, assemblies for representative genomes of EM90 and LF89 groups have more than 30% of their annotated CDS coding for hypothetical proteins. The lack of functional annotations for a significant part of the *P. salmonis* genome, hinders both basic research of the bacterial biology, and moreover, the development of therapeutic alternatives.

To fully exploit the accumulated "omics" data, it is necessary to develop experimental approaches for gene-phenotype mapping at genome level. We propose the use of a novel genetic manipulation strategy for the development of *P. salmonis* mutants. The combination of CRISPR interference (CRISPRi) for target silencing, controlled by inducible promoters and contained in a mobile targeted transposition system, has allowed us to develop specific mutants for the knock-down of selected transcriptional units of the bacteria.

We have successfully established an inducible CRISPRi system for gene expression regulation in *P. salmonis* and used it to assess the essentiality of a selected group of genes. As a proof of concept, we analyzed the iron transport systems, specific copies of the type IV secretion system (TIVSS), and the *groL* gene. Our design allows for rapid development of mutants, with a turnaround time of approximately 4 weeks. Furthermore, we expanded the original pLac-based system, and developed a pTet regulated expression cassette, allowing for the use of tetracycline derivatives for induction. Finally, we incorporated fluorescent markers for labelling of specific mutants. Our work offers a novel and expedited approach for functional genetics in *P. salmonis*.

Keywords: *Piscirickettsia salmonis*, CRISPRi, Functional Genomics

Financing: Funded by FONDECYT 11221251 Grant

Tipo de presentación: Panel

### **A novel quorum sensing system controls antibiotic production in *Serratia***

**Daniel Plaza**<sup>1</sup>, George Salmond<sup>1</sup>

(1) University of Cambridge, Department of Biochemistry, Biological Sciences, Tennis Court Road, Cambridge, United Kingdom

Antibiotic resistance is rapidly increasing worldwide, reaching dangerous levels. New resistance mechanisms are arising and being globally disseminated, which could endanger our ability to treat even common infections in a near future. Moreover, the discovery of novel antibiotics has dramatically plummeted in the last decades, mostly because of a drop in profitability arising from the commercial effort. Thus, antibiotic resistance and the lack of novel antibacterials loom as worrying issues for the health and welfare of both agriculture and humans.

New antibiotics have been sought from many sources, but bacteria remain as their pivotal natural origin. Therefore, understanding antibiotic biosynthesis processes in prokaryotes fulfills a vital role for future antibacterial production and development. The enterobacterium *Serratia* sp. ATCC 39006 (herein *Serratia*) is considered a model for the study of biosynthesis and regulation of diverse bioactive secondary metabolites, particularly two different antibiotics - a carbapenem and prodigiosin. The carbapenem is a  $\beta$ -lactam whereas prodigiosin is a red pigment with manifold promising applications. These compounds are tightly regulated in response to various physiological and environmental signals, including quorum sensing.

We aimed to identify and characterise novel regulators of antibiotic production by random transposon mutagenesis, using wild type (WT) as the parental strain, and pigment production (prodigiosin) for mutant screening. Transposon effects on phenotype were verified by transducing out the mutations into a WT genetic background via a generalised transducing phage. An intergenic region insertion between two convergently transcribed genes resulted in a hyperpigmented phenotype. One of these surrounding genes, coding for a transcriptional regulator, provoked contrary effects to the insertion mutant, suggesting an interplay. Further characterisation of the transposon mutant and the double mutant with the regulator suggested that the latter caused the phenotype observed. Interestingly, bypass mutants of the intergenic mutation led to the discovery of a secondary quorum sensing system is active in this strain and is involved in antibiotic production. Thus, we show that a new communication system modulates the synthesis of antibacterial molecules, which expands the known repertoire of antibiotic biosynthesis mechanisms and may prove useful in future applications.

Keywords: Bacteria, Quorum sensing, genetics, Transposons

Financing: Becas Chile, Cambridge Trust, The British Society for Plant Pathology

Acknowledgments: Becas Chile, Cambridge Trust, The British Society for Plant Pathology

Tipo de presentación: Panel

**Implementing an optogenetic intercellular system in the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae***

**Vicente Rojas**<sup>1,2</sup>, Luis F. Larrondo<sup>1,2</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Avenida Bernardo O'Higgins 340, Santiago, Chile

(2) Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), General del Canto 50, Oficina 301, Santiago, Chile

Cell communication is a widespread phenomenon in biology, allowing the efficient transmission of information. In order to understand how cell communication modulates relevant biological processes in response to environmental changes, different synthetic systems based on chemical induction have been successfully developed. Nevertheless, this strategy has constraints such as irreversibility, low spatiotemporal resolution, and toxicity. In recent years, optogenetics has emerged as a promising alternative to replace chemicals. By using genetically encoded photoreceptors, light acts as a reversible cue to control biological processes, improving the spatiotemporal resolution and overcoming the unwanted effects of traditional inducers. Surprisingly, synthetic approaches coupling cell communication and optogenetics in microbes have been seldom explored. In this work, a lightinducible intercellular system was implemented in the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* by modifying its native mating pathway. The design consisted of two strains, where light sensing and the expression of a gene of interest are physically separated, but they are connected by a signaling molecule such as the  $\alpha$ -factor pheromone. Different variants for each type of strain were developed, varying components of the signaling pathway such as negative regulators and pheromone-responsive promoters. Thus, the optogenetic intercellular system was evaluated by combining the cells at 1:1 initial ratio under contrasting illumination conditions. Using luciferase as reporter gene, specific co-cultures displayed activation of the response upon constant blue-light, which was not observed for the same cell mixtures grown in darkness. Interestingly, the response was higher under a dark/blue-light transition occurring at 4 h, although the induction window was temporally limited. Furthermore, the maximum bioluminescence varied depending on the pheromone-responsive promoter that commands the reporter expression, reaching the peaks when the PAGA1 was used. Thus, the system is quite versatile since a wide range of response levels can be obtained. Altogether, these results demonstrated that external light signals are propagated through a diffusible small molecule to modulate gene expression. Thus, this optogenetic intercellular system could constitute a powerful platform for synchronize relevant phenotypes in yeast, as well as for microbial ecology. In fact, current efforts aim to dissect the behavior in a more complex system involving competing but cooperating cell populations.

Keywords: cell communication optogenetics yeast pheromone

Financing: ANID-Ph.D. scholarship n° 21170331, ANID-FONDECYT grant n°1211715, ANID-Millennium Science Initiative Program-ICN17\_022 and Howard Hughes International Research Scholar program

Tipo de presentación: Panel

### **Regulation by non-coding RNAs in *Enterococcus faecalis* under copper exposure**

### **Regulación por ARN no codificantes en *Enterococcus faecalis* bajo la exposición a cobre**

**Jorge Torres**<sup>1,2</sup>, Sebastián Gómez<sup>1,2</sup>, Víctor Aliaga-Tobar<sup>1,2</sup>, Mauricio Latorre<sup>1,2,3</sup>

(1) Laboratorio de Bioingeniería; Instituto de ciencias de la ingeniería; Universidad de O'Higgins, Rancagua, Chile.

(2) Centro de biología de sistemas para el estudio de comunidades extremófilas de relaves mineros (SYSTEMIX), Universidad de O'Higgins, Rancagua, Chile.

(3) Laboratorio de bioinformática y expresión génica, INTA, Universidad de Chile, Santiago, Chile

En *Enterococcus faecalis*, los niveles intracelulares de cobre son regulados por el operón *cop*, no obstante, una exposición sostenida al metal provoca cambios globales a nivel de expresión génica, dando cuenta de la existencia de diversos mecanismos regulatorios encargados del control transcripcional. En este sentido, los ARN no codificantes (ARNnc) son capaces de regular la expresión de genes de manera postranscripcional, incluso, algunos se han descrito implicados en la respuesta a metales. Hasta la fecha, un total de 230 ARNnc se han identificado en el genoma de *E. faecalis*, ninguno vinculados con la respuesta cobre. En este trabajo, mediante RNA-seq, identificamos y examinamos la expresión de 585 ARNnc, extendiendo a más del 50% el repertorio de este tipo de moléculas reportadas previamente en *E. faecalis*. Interesantemente, 97 ARNnc mostraron una expresión diferencial frente al exceso de cobre (0.5 mM de CuSO<sub>4</sub> 4, 3 h), sugiriendo su posible participación en la respuesta transcripcional bajo concentraciones elevadas del metal. Posteriormente, utilizando la herramienta bioinformática IntaRNA logramos realizar predicción de transcritos blancos para este conjunto de ARNnc, identificando un total de 1804 ARNm como posibles blancos directos. En base a criterios de conservación y niveles de expresión, finalmente caracterizamos un total de 3 ARNnc con sus 9 blancos, todos relacionados con la homeostasis de cobre. Para validar los cambios de expresión, realizamos qPCR sobre los ARNnc seleccionados, observando que ncRNA\_1959 y sRNA\_069\_5\_UTR aumentaron aproximadamente 8 y 4 veces su expresión ante el exceso de cobre. De la misma manera, los transcritos blancos de estos ARNnc también incrementaron su expresión, sugiriendo una posible regulación positiva a nivel postranscripcional por parte de estos dos ARNnc. El tercer ARNnc, ncRNA\_1490, disminuyó su expresión a la mitad, observándose una relación inversa con la expresión de su transcrito diana, dando cuenta de una función asociada a la disminución del ARNm. Resumiendo, este es el primer estudio que identifica ARNnc de respuesta a cobre en bacterias, información relevante para profundizar en el conocimiento de estas moléculas y su participación en el control de la expresión génica.

Keywords: Cobre, ARNnc, Homeostasis

Financing: Centro de Modelamiento Matemático (CMM) BASAL ANID FB210005, ANID – Millennium Science Initiative Program – ICN2021\_044, Fondo Interdisciplinario Interno UOH, ANID FONDECYT 1230194, SYSTEMIX ANID ANILLO ACT210004.

Tipo de presentación: Panel

**Actinomycete Integrative and Conjugative Elements (AICEs) found in *Janibacter terrae* strain isolated from Antarctica sediment plays a role in genome diversity**

**Elementos integrativos y conjugativos de actinomicetos (AICEs) encontrados en la cepa *Janibacter terrae* aislada desde sedimentos de la Antártica desempeñan un papel en la diversidad del genoma**

**Pablo Bruna**<sup>1,3</sup>, Benjamín Leyton-Carcaman<sup>1,3</sup>, Leticia Barrientos<sup>2</sup>, Michel Abanto<sup>1</sup>

(1) Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Universidad de La Frontera, Avenida Francisco Salazar, 01145, Temuco, Chile.

(2) Instituto de Ciencias Aplicadas, Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Chile, Temuco, Chile.

(3) Programa de Doctorado en Ciencias mención Biología Celular y Molecular, Universidad de La Frontera.

Conjugative DNA transfer facilitates prompt adaptation of bacteria through substantial leaps in the acquisition and interchange of substantial quantities of genetic material. Actinomycete integrative and conjugative elements (AICEs) are present in diverse actinomycete genera. In the majority of bacterial conjugation mechanisms, DNA translocation requires the formation of a complex type IV secretion system (T4SS). However, for AICEs, a single DNA translocation protein, FtsK/SpoIIIE-like, adequately serves this role. Our aim was to identify and describe the AICEs found in an Actinobacteria strain isolated from Antarctic sediment. The strain was sequenced using Illumina and Oxford Nanopore Technologies. To achieve *de novo* hybrid assembly, short and long reads that passed quality control and filtering were assembled using Unicycler tool. Subsequently, quality and contamination determinations were performed using Quast and CheckM. Genomic sequences were annotated using Prokka, and taxonomic annotation was performed using Type Strain Genome Server (TYGS). In addition, a genome-based phylogenetic tree was inferred with Automated Multi-Locus Species Tree pipeline (autoMLST). Finally, the AICEs were detected using ICEfinder and VRprofile2. Quality assessment of the assembly indicated a 99% completeness and <1% contamination. Phylogenetic analysis added to average nucleotide identity and digital DNA-DNA hybridization resulted in the strain belonging to the species *Janibacter terrae*. On the other hand, two putative AICEs were identified with lengths of 12843 and 36139 base pairs, which contain 11 and 37 Orfs, respectively, of which no antibiotic resistance genes were found. In addition, the complete sequences of the AICEs were not found in any genome through Blastn, but similar canonical proteins (73-97% of sequence identity) were found through Blastp, which belongs to other strains in the genus *Janibacter*. These results provide valuable data associated with the genetic diversity of AICEs as well as a description of the genetic content of these elements detected in our isolated strain. Further research is expected to describe the evolution of AICEs and provide a better understanding of their role in the environment.

**Keywords:** Integrative and conjugative elements, Antarctic, Genome diversity, Horizontal gene transfer

**Financing:** Esta investigación fue financiada por Fondecyt Regular 1210563; Proyecto DI22-2019 de la Dirección de Investigación de la Universidad de La Frontera; Beca de Doctorado Nacional ANID 2023-21230832.

Tipo de presentación: Panel

**Bioinformatic identification and classification of Restriction-Modification Systems in bacteria of the *Acidithiobacillia* class**

**Identificación bioinformática y clasificación de Sistemas de Restricción-Modificación en bacterias de la clase *Acidithiobacillia***

**Gustavo Castro Toro**<sup>1,2</sup>, Camila Rojas-Villalobos<sup>1,2</sup>, Ana Moya Beltrán<sup>1,2</sup>, Simon Beard<sup>1,2</sup>, Raquel Quatrini<sup>1,2</sup>

(1) 1 CCTE Ciencia y Vida, Fundación Ciencia y Vida, Av. Del Valle Norte 725, Huechuraba, Santiago, Chile.

(2) 2 Facultad de Medicina y Ciencia, Universidad San Sebastián, Santiago, Chile

Los sistemas de restricción-modificación (R-M) son sistemas transmisibles, usualmente localizados en elementos génicos móviles (EGM), que codifican para una endonucleasa (REasa) y una ADN-metiltransferasa (Mtasas), y que reconocen una misma secuencia blanco. Además de su rol en la degradación de ADN foráneo no-metilado, los sistemas R-M son capaces de promover la escisión de ADN foráneo integrado en el cromosoma bacteriano, o bien favorecer la recombinación del mismo. Debido a ello, los sistemas de R-M limitan la manipulación genética de los microorganismos. Los miembros de la clase *Acidithiobacillia*, constituyen un grupo de bacterias acidófilas cuya manipulación genética está poco desarrollada. Diversos EGMs adquiridos por este grupo de bacterias por transferencia horizontal, dan cuenta de la presencia en sus genomas de sistemas de R-M putativos. A la fecha, no existen estudios sistemáticos de la ocurrencia, diversidad y localización de estos sistemas en el taxón. En este trabajo se analizaron las secuencias aminoacídicas codificadas en 92 genomas de representantes de la clase *Acidithiobacillia*. Utilizando RPS-BLAST y SPARCLE se identificaron los dominios conservados y arquitecturas típicamente pertenecientes a sistemas de R-M. Mediante BLAST se identificaron además, ortólogos de sistemas de R-M almacenados en la base de datos de REBASE. Los resultados obtenidos mostraron que, los acidithiobacilli codifican en sus genomas varias superfamilias de sistemas de R-M como: HsdR, HsdM, HsdS, HNH, Dam, Dcm, YeeA, Mrr, Mcr, PEDDEXK endonucleasas y transposasas con plegamientos de REasa. El análisis de la ocurrencia de dichos sistemas, indicó que los linajes cercanamente emparentados comparten una mayor cantidad de sistemas de R-M homólogos, aunque frecuentemente las cepas de un mismo linaje poseen sistemas R-M diferentes. Entre las proteínas identificadas se observa una mayor ocurrencia de las subunidades de sistemas del tipo I, y un predominio de ADN aminometiltransferasas del subtipo-gamma, sobre el subtipo alfa y beta. Esto último, es concordante con la alta ocurrencia de sistemas del tipo I, lo que podría tener como implicancia una reducida competencia de los recipientes. Dada la reconocida recalcitrancia a la transformación de los acidithiobacilli, estos resultados sugieren que los sistemas de R-M podrían jugar un importante rol en la competencia de los miembros del taxón.

Keywords: Restriction-modification system, Genomic, *Acidithiobacillia* class, Molecular biology, Informatic

Financing: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID) Exploración-13220230, Fondecyt-1221035, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia de ANID Ciencia&Vida-FB210008; Vicerrectoría de Investigación y Doctorados de la Universidad San Sebastián Programa de Magister en Biomedicina Molecular.

Tipo de presentación: Panel

**Identification and systematic analysis of proteins involved in the oxidative metabolism of sulfur in extreme-acidophilic bacteria and archaea.**

**Identificación y análisis sistemático de proteínas involucradas en el metabolismo oxidativo de azufre en bacterias y arqueas extremo-acidófilas.**

**Rodrigo Celis**<sup>1</sup>, Alexandra Carrasco<sup>2</sup>, David Holmes<sup>3</sup>, Jorge Valdes<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Facultad de Ciencias de la Vida, República N° 330, Santiago, Chile

(2) Universidad Andrés Bello, Ingeniería en Biotecnología, Facultad de Ciencias de la Vida, República N° 470, Santiago, Chile

(3) Universidad San Sebastián, Centro Ciencia & Vida, Fundación Ciencia & Vida, Avda. del Valle Norte N° 725, Santiago, Chile

El ciclo biogeoquímico del azufre ha jugado un papel crucial en la evolución de la vida a lo largo del tiempo geológico. Los metabolismos disimilatorios, incluida la reducción de azufre elemental, la reducción de sulfato, la dismutación de sulfato y la oxidación de sulfuro, alimentan diversos microbios y desempeñan un papel importante en la regulación del estado redox de la superficie de la Tierra. Los acidófilos extremos son organismos que crecen de manera óptima en ambientes con un pH inferior a 3 y están ampliamente distribuidos en muchas ramas del árbol de la vida. Con el objetivo de estudiar la distribución taxonómica y diversidad de los genes responsables del metabolismo del azufre en acidófilos extremos, se obtuvieron 466 genomas, pertenecientes tanto a arqueas como bacterias extremo-acidófilas desde la base de datos aciDB. Mediante estrategias de bioinformática y genómica comparativa, se comparó una colección de 29 perfiles de HMMs correspondientes a familias de proteínas involucradas en el metabolismo del azufre. Posteriormente se evaluó la distribución filogenética de las diferentes proteínas involucradas en el metabolismo del azufre a diferentes niveles taxonómicos. Nuestra estrategia genómica computacional reveló que las enzimas más abundantes y con mayor número de copias por genoma corresponden a las familias: rhodanasas (Rdh), sulfito reductasa disimilatoria (Dsr), heterodisulfuro reductasas (Hdr), y sulfuro dioxigenasa (SDO), las que se distribuyen en diferente proporción en acidófilos gramnegativos, gram positivos y arqueas. En 191 genomas de arqueas se encontraron principalmente las familias Dsr (838), Hdr (482) y Rdh (458). En 211 genomas de bacterias gram negativas se identificaron principalmente las familias Rdh (1165), Dsr (818) y SDO (581). Por último, en 64 genomas de bacterias gram positivas, primaron las familias Rdh (453), seguido de la familia de Hdr (222) y Dsr (216). En conclusión, la identificación de proteínas altamente representadas entre los diferentes grupos taxonómicos analizados permite proponer un modelo metabólico *in silico* de las rutas oxidativas del azufre preferentemente utilizadas por acidófilos extremos. Se anticipa que el análisis de conservación de estas enzimas podría entregar pistas valiosas acerca de la evolución del metabolismo de azufre en ambientes extremadamente ácidos.

Keywords: acidófilos extremos, bacterias y arqueas, metabolismo del azufre, vías de oxidación, *aciDB*

Tipo de presentación: Panel

### **Pangenomic Analysis of *Moraxella catarrhalis*: Unveiling Genomic and Evolutionary Diversity**

#### **Análisis Pangenómico de *Moraxella catarrhalis*: Revelando la Diversidad Genómica y Evolutiva**

**Makarena Sofia Gonzalez Reyes**<sup>1</sup>, Ignacio Ramos-Tapia<sup>1,2</sup>, Juan A. Ugalde<sup>1,2</sup>

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

(2) GENomic Epidemiology in Emergent Diseases (GENE2DIS), Proyecto Anillo ATE220061, Universidad del Desarrollo, Av. Plaza 680, Santiago, Chile

*Moraxella catarrhalis*, un patógeno respiratorio oportunista del orden Pseudomonadales, ha sido objeto de recientes investigaciones centradas en comprender su diversidad genómica y evolutiva. Este microorganismo coloniza el tracto respiratorio superior en aproximadamente el 66% de los niños en su primer año de vida, a menudo sin desencadenar síntomas aparentes. No obstante, esta colonización adquiere relevancia por su implicación en la otitis media aguda (OMA), una afección que representa una de las principales razones detrás de las prescripciones antimicrobianas en la práctica pediátrica.

El enfoque de este estudio se centró en dilucidar la diversidad genómica y evolutiva de *M. catarrhalis*, así como en identificar agrupaciones funcionales y evolutivas dentro de esta especie. Para lograrlo, se analizaron 217 genomas de *M. catarrhalis* disponibles en la base de datos NCBI (Julio 2023). La calidad de los genomas se evaluó mediante el uso de CheckM2 y MLST, quedando con 215 genomas. Se llevó a cabo la anotación funcional utilizando Bakta. Empleando la herramienta Panaroo, se procedió a la construcción de un pangenoma con el propósito de identificar conjuntos de genes compartidos y únicos entre las diferentes cepas analizadas.

Los resultados revelaron un pangenoma de 3.900 genes en *M. catarrhalis*. El genoma central (core y soft-core) comprendió 1.453 genes (37,26%), mientras que el genoma accesorio totalizó 2.447 genes (62,74%), incluyendo 499 genes de tipo shell y 1.948 genes de tipo cloud. Adicionalmente, los análisis filogenéticos mostraron cuatro filogrupos en la población estudiada de *M. catarrhalis*. Además de los conocidos serorresistente, serosensible y divergente, la identificación de un cuarto grupo con diferencias genéticas significativas sugiere una complejidad evolutiva mayor de la esperada.

El análisis detallado del pangenoma profundizó en la comprensión de la diversidad genómica y evolutiva de *M. catarrhalis*. La identificación de este cuarto filogrupo, junto a los ya conocidos, enfatiza la importancia de investigar la variabilidad genética en esta especie. Estos hallazgos pueden tener implicaciones significativas para la comprensión de la epidemiología y patogenicidad de *M. catarrhalis*, y así contribuir a un conocimiento más completo de su papel en la salud humana.

Keywords: Pangenoma, *Moraxella catarrhalis*, Genómica comparativa, Filogenómica

Financing: Proyecto Anillo ATE220061. Fondecyt Regular 1221209.



Tipo de presentación: Panel

**Evolution and characterization of *Saccharomyces eubayanus* x *Saccharomyces cerevisiae* hybrid yeasts in high gravity beer wort**

**Evolución y caracterización de levaduras híbridas *Saccharomyces eubayanus* x *Saccharomyces cerevisiae* en mostos de cerveza de alta gravedad**

**Fernanda Jeria**<sup>1</sup>, Vasni Zavaleta Acosta<sup>1,2</sup>, Francisco Cubillos Riffo<sup>1,2</sup>

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

(2) Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), Santiago, Chile

*Saccharomyces pastorianus* (levadura híbrida entre *Saccharomyces eubayanus* x *Saccharomyces cerevisiae*) es una levadura utilizada para la producción de cerveza lager a partir de mostos de alta gravedad (alta concentración de azúcares). No obstante, el uso casi exclusivo de *S. pastorianus* para la producción de cervezas lager se asocia a perfiles de baja calidad organoléptica, contrastando con la creciente demanda de cervezas con propiedades organolépticas novedosas. En búsqueda de levaduras que satisfagan estos requerimientos, nuevas cepas híbridas con potencial cervecero han sido generadas. Nuestro laboratorio ha generado híbridos interespecíficos *S. eubayanus* x *S. cerevisiae* a partir de diversos linajes genéticos de *S. eubayanus* nativas del sur de Chile. Los híbridos generados fueron evaluados en su perfil fermentativo, donde un grupo demostró poseer una alta capacidad fermentativa. Sin embargo, ninguno de ellos fue capaz de superar la capacidad fermentativa del mejor parental, *S. cerevisiae*. Con el objetivo de mejorar este rasgo, en este trabajo se sometieron 9 híbridos *S. eubayanus* x *S. cerevisiae* a evolución experimental, un método mediante el cual las levaduras pueden mejorar rasgos de interés cervecero a través de transferencias periódicas en mosto de alta gravedad. De cada híbrido, tres líneas fueron evolucionadas de manera independiente, dando un total de 27 líneas, obteniéndose cepas evolucionadas tras 250 generaciones. Posteriormente se evaluó la capacidad fermentativa de las cepas evolucionadas, donde cinco líneas de evolución mostraron un aumento de entre el 15% al 30% en comparación a sus cepas ancestrales respectivas. Asimismo, se determinó la velocidad máxima de crecimiento ( $\mu_{Max}$ ) en medios estresores como indicador de la adaptación al medio de evolución, encontrándose que algunas de las cepas evolucionadas que demostraron un aumento en la capacidad fermentativa también mostraron una mejoría del 10% al 50% respecto a su cepa ancestral en medio con 20% de maltosa y 6% etanol. Esto nos permite evidenciar que mediante la evolución experimental es posible mejorar características fenotípicas de los híbridos generados a partir de diversos linajes de *S. eubayanus*. Posteriormente se indagará en las bases genéticas que subyacen estas diferencias fenotípicas mediante el análisis del transcriptoma por RNA-seq de cepas evolucionadas y sus ancestrales.

Keywords: Evolución Experimental, Levaduras, Híbridos *S. eubayanus* x *S. cerevisiae*, Cerveza, Fermentación

Tipo de presentación: Panel

**Charting the structural variations landscape of *Acidithiobacillia* insights into the diversification of the class from fully sequenced genomes**

**Ana Moya Beltrán**<sup>1,2,3</sup>, Simón Beard<sup>1,4</sup>, Alberto JM Martín<sup>1,2</sup>, Raquel Quatrini<sup>1,4</sup>

(1) CCTE Ciencia y Vida, Avenida del Valle Norte 725, Huechuraba, Santiago, Chile

(2) Universidad San Sebastián, Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño, Santiago, Chile

(3) Universidad Tecnológica Metropolitana, Departamento de Informática y Computación, Facultad de Ingeniería, Santiago 7800002, Chile

(4) Facultad de Medicina y Ciencia, Facultad de Medicina y Ciencia, Santiago, Chile

*Acidithiobacillia* class bacteria are among the most and best studied acidophiles. Members of this group are typically used in bioleaching to facilitate the recovery and extraction of economically important metals, being reference microbes in the biotechnologies for the mining industry. Moreover, this class of bacteria are relevant study models in fundamental research areas such as environmental ecology, evolution, and astrobiology. Recent awareness of the significant diversity among its members is largely grounded on gene content differences, and on the phyletic patterns of ecophysiologicaly relevant genes. Such diversity is attributable, in part, to the acquisition of foreign genes and mobile genetic elements via horizontal gene transfer. Despite our current understanding, the influence of genomic structural variations (SVs) including insertions, deletions, and rearrangements, on the evolutionary differentiation of *Acidithiobacillia* lineages remains uncharted. To address this lacuna, in this study, we contributed high-quality reference genomes for 14 out of 17 lineages of the class which remained as drafts in public databases, in addition to several draft assemblies per lineage ( $n \sim 5$ ). Combining data derived from short- and long-read sequencing technologies, and using a hybrid genomic assembly algorithm, we generated accurate and contiguous genomes for SV detection. Using robust taxonomic assignments based on state-of-the-art comparative genomic workflows, we identified and characterized the SVs in each lineage and traced their occurrences across the evolutionary landscape of the class. Synteny of gene blocks and positional analysis of class-core genes revealed the occurrence of significant structural rearrangements between genus-rank lineages, being smaller insertions and/or deletions more frequent at the intra-lineage level. Despite changes in the relative order of genes, the position of certain signature genes (e.g. NAPs) with respect to the origin-terminus of replication was shown to be conserved, highlighting structural constraints. Altogether, this study revealed that SVs contribute to genomic heterogeneity of the class and pointed to the importance of further studying SVs as part of the mechanisms driving the evolution of *Acidithiobacillia*.

Keywords: Genomics, acidophiles, structural variations, *Acidithiobacillia*, evolution

Financing: Funding: Fondecyt 1221035; Centro Ciencia & Vida; Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia de ANID FB210008; Vicerrectoría de Investigación y Doctorados de la Universidad San Sebastián - Proyecto USS-FIN-23-PDOC-03.

Tipo de presentación: Panel

**Genomic surveillance of SARS-CoV-2 in sentinel centers of the Metropolitan Region and the O'higgins Region.**

**Vigilancia genómica de SARS-CoV-2 en centros centinelas de la Región Metropolitana y la Región de O'higgins.**

**Catalina Pavez<sup>1</sup>**, Carolina Ramírez<sup>1</sup>, Jimena Cortés<sup>1</sup>, Cedin Maldonado<sup>1</sup>, Solana Terrazas<sup>1</sup>, Cecilia Vial<sup>1</sup>, Johanna Acevedo<sup>1</sup>, Rafael Araos<sup>1</sup>

(1) Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Facultad de Medicina, Clínica Alemana Universidad del Desarrollo., Las Condes, Santiago, Chile

La Vigilancia genómica de SARS-CoV-2 es importante tanto a nivel nacional como internacional. En Chile se han enfocado los esfuerzos en la realización de test de PCR y secuenciación masiva para la determinación de las variantes circulantes. En este trabajo se presenta la secuenciación de más de 700 muestras provenientes de centros centinelas de la Región Metropolitana (Providencia y María Pinto) y la Región de O'higgins (Mostazal), entre octubre 2022 y junio 2023. Más de 16.000 muestras de hisopado nasofaríngeo fueron testeadas, y se secuenciaron solo las muestras positivas con un Ct (Cycle threshold) <30. Las librerías se realizaron con el kit COVIDSeq de Illumina y fueron secuenciadas en MiSeq. Los datos obtenidos fueron analizados en DRAGEN COVID Lineage, que permite mapear/alinear y hacer el llamado de variantes contra la referencia, generando una secuencia consenso y un reporte con todas las muestras secuenciadas entregando información de variante, linaje, cobertura y métricas de calidad de la secuenciación. Los datos se analizaron además en Nextclade para comparar y confirmar los resultados obtenidos. Utilizando como criterio de calidad para la asignación de variantes, que las muestras tuvieran un porcentaje mayor o igual al 70% de cobertura  $\geq 30X$ , se logró asignar variante a más del 95% de las muestras. Con estos datos se determinó la distribución de variantes a través de los meses, siendo predominante en el tiempo analizado el linaje XBB.1.5 de Ómicron con un 66% de las muestras, cuyos primeros casos comenzaron a detectarse en enero 2023, seguido por la variante BQ1.1 con un 14% de las muestras. Estos datos permiten tener una visión de las variantes circulantes en un periodo de tiempo en las regiones analizadas, y también sugieren lo que podría ser una disminución de la circulación viral o una baja en la frecuencia de testeo en la población por la caída en el número de muestras recibidas para analizar hacia los últimos meses de estudio. Es importante continuar con los estudios epidemiológicos y la vigilancia genómica de SARS-CoV-2 para monitorear la evolución del virus y la aparición de nuevas variantes que puedan generar nuevas olas de infección.

Keywords: SARS-CoV-2, Secuenciación, Vigilancia genómica

Tipo de presentación: Panel

**Identification of new candidate antibacterial effectors of the type six secretion systems in *Salmonella enterica***

**Identificación de nuevos efectores candidatos antibacterianos de los sistemas de secreción tipo VI de *Salmonella enterica***

Carlos J Blondel<sup>1</sup>, Fernando Amaya<sup>2</sup>, Paloma Bustamante<sup>3</sup>, Carlos A Santiviago<sup>2</sup>, **David Antonio Pezoa Aros**<sup>4</sup>

(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, Santiago, Chile

(3) Universidad de Las Américas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Av. Walker Martínez 1360, Santiago, Chile

(4) Universidad de Las Américas, Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (NIAVA), Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Av. Walker Martínez 1360, 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 de proteínas efectoras hacia células blanco. En *Salmonella*, se han descrito 5 islas de patogenicidad que codifican T6SS (SPI-6, SPI-19, SPI-20, SPI-21 y SPI-22) en las que se han identificado un número limitado de efectores. Para identificar nuevos efectores, se realizaron análisis bioinformáticos y de genómica comparativa utilizando 100 genomas de distintos serotipos de *Salmonella* recuperados desde la base de datos Secret6 y que contienen los 13 componentes estructurales del T6SS en cada una de las 5 regiones. Cada ORF de estas regiones fue analizado mediante: i) Análisis Bastion6 (herramienta bioinformática que predice efectores T6SS según secuencia aminoacídica, información evolutiva y propiedades fisicoquímicas); 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. En SPI-6, se identificaron 23 nuevos módulos efector/proteína de inmunidad con potencial actividad antibacteriana codificados en tres regiones variables (VR1-3). De éstos, 5 están codificados en VR1 y VR2 y poseerían actividad peptidoglicano hidrolasa. En VR3 se identificaron 8 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 maquinaria traduccional bacteriana; la mayoría de ellos asociados al extremo C-terminal de proteínas Rhs y ampliamente distribuidos en *Salmonella*. Un análisis de agrupamiento jerárquico identificó distintos subgrupos de serotipos de *Salmonella* con diferente repertorio de efectores. Finalmente, en SPI-21 se identificaron 4 nuevos efectores con potencial actividad peptidoglicano hidrolasa ampliamente distribuidos en la subespecie *arizonae*, no encontrándose nuevos efectores en SPI-19, SPI-20 y SPI-22. Estos resultados indican que el repertorio de efectores de los T6SS de *Salmonella* es amplio y diverso funcionalmente y que estructuras como el peptidoglicano, ácidos nucleicos y la maquinaria traduccional son blancos específicos para la acción de estos efectores.

Keywords: *Salmonella*, T6SS, efector, immunity proteins, *Salmonella* pathogenicity islands

Financing: Este trabajo fue financiado con los proyectos Fondo Concursable Proyectos de Investigación Regulares UDLA 2023 DI-13/23 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.

Tipo de presentación: Panel

**Comparative transcriptomic analysis of *Exophiala* species reveals potential adaptation pathways to extreme environments in *Exophiala atacamensis***

**Análisis transcriptómico comparativo de especies del género *Exophiala* revela potenciales vías de adaptación a ambientes extremos en *Exophiala atacamensis***

**Kristen Poni**<sup>1</sup>, Rodrigo Celis<sup>1</sup>, Guillermo Valdivia<sup>1</sup>, Hugo Madrid<sup>2</sup>, Jorge Valdés<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Vida, República 330, Santiago, Santiago de Chile, Chile

(2) Universidad de Tarapacá, Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Av. Luis Emilio Recabarren 2477, Iquique, Chile

El estudio de hongos aislados de ambientes extremos en Chile aún se encuentra en etapas tempranas de su desarrollo en la investigación científica. En el transcurso de un estudio taxonómico sobre hifomicetos del Desierto de Atacama, se obtuvieron cuatro cepas de hongos dematiáceos de crecimiento lento resistentes a la cicloheximida a partir de muestras de suelo. Estos aislados presentaron un aparato conidiógeno blástico y células gemantes tipo levadura, características del género *Exophiala*. Los análisis filogenéticos de la región ITS y de la secuencia parcial gen ribosomal subunidad mayor, revelaron la presencia de una nueva especie denominada como *Exophiala atacamensis*. *E. atacamensis* pertenece a la familia Herpotrichiellaceae que alberga una amplia diversidad de morfos asexuales polifiléticos, incluidas en esta, especies clínicamente importantes como patógenos oportunistas. En el presente estudio se presenta el análisis integrado de transcriptomas derivados de *E. atacamensis*, los que han permitido profundizar nuestro conocimiento acerca de la filogenia y diversidad funcional de esta y otras especies del género. Para llevar a cabo el estudio del transcriptoma se implementó una serie de herramientas bioinformáticas para el procesamiento y análisis de lecturas de secuenciación derivadas de este hongo. Mediante análisis de expresión diferencial y estrategias de genómica comparativa, se detectaron diferencias y similitudes del contenido génico de diversas especies *Exophiala* con información genómica y transcriptómica disponibles. Por medio de la comparación de los genes de las especies de *Exophiala*, se detectó un total de 1817 genes ortólogos que definen el material genético compartido entre las especies de este género. Adicionalmente, se encontraron un total de 448 genes presentes exclusivamente en *E. atacamensis*. Mediante el análisis de expresión diferencial se identificaron diferencias significativas en genes relacionados con la asimilación y metabolización de carbohidratos, entre otras características. Esta investigación provee la primera descripción del potencial codificante de este hongo, dando luz acerca de los mecanismos moleculares que subyacen a la adaptación de este hongo a condiciones extremas en el desierto de Atacama.

Keywords: hongos extremófilos, *Exophiala*, transcriptoma, genómica comparativa, metabolización de carbohidratos

Financing: Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Tarapacá, Sede Iquique

Tipo de presentación: Panel

**Genomic insights into *Bacillus* sp. E5: An endophytic Selenium-resistant strain capable of synthesizing selenium nanoparticles using selenite as Se-source**

**Eulàlia Sans**<sup>1</sup>, Carlos Cortés-Albayay<sup>2</sup>, Paola Durán<sup>1,2,3</sup>, María de La Luz Mora<sup>1</sup>, Patricio Barra Espinoza<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Avenida Francisco Salazar 01145, PO Box 54-D, Temuco, 4780000, Center of Plant, Soil Interaction and Natural Resources Biotechnology, Scientific and Biotechnological Bioresource Nucleus (BIOREN-UFRO), Avenida Francisco Salazar 01145, PO Box 54-D, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Biocontrol Research Laboratory, Avenida Francisco Salazar 01145, PO Box 54-D, Temuco, Chile

(3) Universidad de La Frontera, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, Avenida Francisco Salazar 01145, PO Box 54-D, Temuco, Chile

**Background:** Our recent research has evidenced that under optimal *in vitro* conditions, *Bacillus* sp. E5 is a suitable “cell factory” for producing intra- and extracellular selenium (Se) nanoparticles (B-SeNPs) with different properties. Considering the current interest in the potential properties of the bacterially derived SeNPs, understanding the metabolic pathways responsible for the reduction of selenite is central to advance on these applications. Some studies have postulated the possible involvement of nitrite reductases, glutathione biosynthesis, and NADH-dependent enzymes with the reduction of selenite. Further, recent research has suggested that the synthesis of these nanoparticles could arise from the interaction between sulfur metabolism and the oxidative stress response in *Pseudomonas putida* KT2440. However, diverse Se assimilation mechanisms exist due to the particular characteristics of prokaryotes involved, and most of them are still not well understood. We suggest that the biogenesis of B-SeNPs might encompass multiple genes responsible not only for selenium resistance but also for those associated with the aforementioned pathways. In this way, we performed a genomic analysis to understand the underlying genetic basis for the production of SeNPs in *Bacillus* sp. E5, providing a preliminary data for further transcriptomic approaches.

**Methods:** The draft genome sequence of *Bacillus* sp. E5 was obtained through Illumina HiSeq sequencing platform, assembled by Unicycler and annotated through RAST server using default pipeline.

**Results:** The comparative genomic analysis performed over the draft genome sequence of *Bacillus* sp. E5 and *P. putida* KT2440 revealed the conservation of some proteins involved in the biosynthesis of glutathione and sulfur metabolic pathways such as uroporphyrin-III C-methyltransferase (*cysG*), 2-oxoglutarate dehydrogenase (*sucA*), sulphide-quinone oxidoreductase (*sqr*), whose expression was associated to the production of SeNPs in *P. putida* KT2440. In addition, overall genome relatedness indexes allow us to taxonomically assign *Bacillus* sp. E5 to the *Bacillus paranthracis* species from which there is no previous evidence of SeNPs production.

**Conclusions:** The present study contributes to understand from a genomic point of view the enzymatic reactions associated with the bioproduction of SeNPs by *Bacillus* sp. E5, and gives clues for further studies.

Keywords: Endophytic bacteria, comparative genomics, nanoparticle biosynthesis, selenium

Financing: Funding: ANID-FONDECYT (Postdoctoral Project No. 3210302; Initiation Project No. 11200377); Anillos de Investigación en Áreas Temáticas Específicas ATE220038.

Tipo de presentación: Panel

### **Protocol standardization for whole genome sequencing Andes Orthohantavirus**

#### **Estandarización de protocolo para secuenciación de genoma completo Andes Orthohantavirus**

**Fernanda Silva Fuentes**<sup>1</sup>, Catalina Pavez<sup>1</sup>, Lissette Ulloa-Zepeda<sup>2</sup>, Pablo Vial<sup>1</sup>, Constanza Martínez-Valdebenito<sup>3</sup>, Marcela Ferres<sup>3</sup>, Cecilia Vial<sup>1</sup>

(1) Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Centro de Genética y Genómica, Facultad de Medicina - Clínica Alemana, Universidad del Desarrollo, Av plaza 680, las condes, Santiago, Chile

(2) Programa de doctorado en Ciencias e Innovación en Medicina, Centro de Genética y Genómica, Facultad de Medicina - Clínica Alemana, Universidad del Desarrollo, Av plaza 680, las condes, Santiago, Chile

(3) Laboratorio Infectología Red de Salud UC Christus, Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátricas, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Marcoleta 340,, Santiago, Chile

**Introducción:** Andes Orthohantavirus (ANDV) es un virus de origen zoonótico cuyo genoma se compone de ARN de hebra negativa trisegmentado con un tamaño de 12kb. El segmento (L) codifica para una RNA polimerasa dependiente de ARN (RdRP), el segmento medio (M) codifica un precursor de glicoproteínas (GPC) que posteriormente permite la formación del complejo "spike" que media la entrada viral, siendo una proteína esencial para la infección. Por último, el segmento pequeño (S) del genoma codifica para la proteína de Nucleocápside (N) la cual contribuye en la compactación del material genético.

No se conocen datos de la secuencia nucleotídica completa de ANDV y su variación en Chile. Es importante conocer el genoma completo de este virus para tener una visión íntegra de su evolución permitiendo contribuir en la vigilancia genómica.

**Métodos:** Se estandarizaron dos estrategias de amplificación de los segmentos del genoma de ANDV: "Whole Segment" y "Segment-Specific", a fin de producir los amplicones que se utilizaron como material de entrada para generar la librería y secuenciar el genoma completo mediante MiSeq™ System-Illumina.

**Resultados:** Se logró obtener librerías de muestras de pacientes infectados por ANDV mediante las dos estrategias con los requerimientos de tamaño y concentración esperados. Estas muestras fueron exitosamente secuenciadas obteniendo genoma completo de ANDV.

**Conclusiones:** Las estrategias de amplificación de genoma fueron óptimas para desarrollar librerías de calidad que nos permitieran obtener una alta fidelidad en la secuenciación. Este enfoque de secuenciación brinda una valiosa herramienta para conocer el panorama genético de este virus zoonótico.

Keywords: Genome, Hantavirus, Sequencing, Molecular biology, Nucleotide sequence

Financing: Este trabajo fue financiado por proyecto Anillo Ate220061 y proyecto FONDECYT 1201240

Tipo de presentación: Panel

**Analysis of genomic evidence of electron transport chains of microorganisms from volcanic environments provides insights into the initial phases of evolution of life on Earth**

**Eva Vergara**<sup>1,2</sup>, Jorge Valdés<sup>3</sup>, Haley Hood<sup>4</sup>, Himel Khaleque<sup>5</sup>, Elizabeth Watkin<sup>5</sup>, David Holmes<sup>1,2</sup>

(1) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Lota 2465, 7510602 Santiago, Chile

(2) Centro Ciencia & Vida, Center for Bioinformatics and Genome Biology, Fundación Ciencia & Vida, Avenida del Valle Norte 725, 8580704 Santiago, Chile

(3) Universidad Andrés Bello, Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Facultad de Ciencias de la Vida, República 239, Santiago, Chile

(4) University of Victoria, Biochemistry & Microbiology, Faculty of Science, Bob Wright Centre, Victoria BC, Canada

(5) Edith Cowan University, School of Science, 270 Joondalup Dr, Joondalup WA 6027, Australia

During the formative epochs of Earth's history, volcanic processes played a pivotal role in sculpting the planet's surface and atmospheric composition. Volcanic phenomena were notably intense throughout the Hadean and Archean eras, spanning approximately from Earth's inception to about 2.5 billion years ago. These volcanic occurrences were instrumental in establishing the prerequisites for the eventual emergence of life. The emission of minerals and nutrients from volcanic rock into the oceans and atmosphere served as potential foundational elements and sources of energy for the earliest life forms.

This study focused on microbial polyextremophiles, which thrive in acidic and/or saline conditions, utilizing iron, sulfur, and hydrogen as their primary energy sources. Employing bioinformatics and comparative genomic tools as MAUVE Progressive alignment to predict the synteny blocks and the visualization between the genomes, OrthoFinder to predict orthologous families and multiple sequence alignment by MAFFT with IQTree to do phylogeny and clustering analysis of the family proteins selected and the conserved domains analysis using Aliwiew; we dissected the genomes of four species within the *Acidihalobacter* genus (*Ah. prosperus*, *Ah. aeolianus*, *Ah. ferrooxydans*, and *Ah. yilgarnensis*) isolated from volcanic regions in Italy and an acidic saline lake drain in Australia. From the phylogenomic classification, it's noteworthy that *Ah. ferrooxydans* holds the most ancient position in the constructed phylogenetic tree.

Comparative genomic and metabolic reconstruction analysis reveals key differences in electron transport chain composition and organization, as well as differences in the gene repertoires for iron, sulfur and hydrogen oxidation. Similarities and differences in nitrogen and carbon assimilation pathways were found providing evidence to establish potential relationships between genotypic richness and phenotypic diversity in this genus. Moreover, our scrutiny of the *Acidihalobacter* genomes has started to reveal genome dynamics (insertions, deletions, and rearrangements) that might contribute to defining distinctions in the metabolism and ecophysiology of different polyextremophiles by shedding light on potential molecular mechanisms that elucidate the occurrence of early life forms on Earth.

Keywords: Acidihalobacter, electron transport chain, evolution, polyextremophiles, comparative genomic

Financing: ANID/BASAL/FB210008

Acknowledgments: Centro Ciencia & Vida, FB210008, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia de ANID



Tipo de presentación: Panel

**Effect of a bacteriophage cocktail to prevent *Salmonella* Infantis multidrug-resistant infection in Caco-2 cells**

**Diana Claudia Marcela Alvarez Espejo**<sup>1</sup>, Vivien Cadet Arenas<sup>1</sup>, Miltha Hidalgo<sup>2</sup>, Omar Porras<sup>2</sup>, Angélica Reyes-Jara<sup>3</sup>, Susan Bueno<sup>4</sup>, Andrea Moreno-Switt<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile,, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Facultad de Ciencias Biológicas., Avenida Vicuña Mackena 4860 Macul, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Laboratorio de Investigación en Nutrición Funcional., Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos,, El Libano 5524, Macul, Santiago, Chile

(3) Universidad de Chile, Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos, El Libano 5524, Macul, Santiago, Chile

(4) Pontificia Universidad Católica de Chile, Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Ciencias Biológicas, Avenida Libertado Bernardo O´Higgins 340, Santiago, Santiago, Chile

*Salmonella* Infantis (SI) is causing a global emerging public health problem attributed mainly to contaminated poultry meat, among other food types. Bacteriophages or lytic phages are viruses that infect and lyse bacteria with the potential to be used as biocontrol of bacterial contamination. Previously, our laboratory characterized two phages F1 (*Myovirus*) and F2 (*Tlsvirus*) that infected SI-MDR strains. Characterization includes genome sequencing, host range, and transmission electron microscopy. Our aim was to evaluate the effect of a phage cocktail (F1 and F2) on human colon cell cultures (Caco-2) infected with a SI-MDR strain, using prophylaxis (PA), remedial (RA) and bacterial invasion assays. In the PA, cells were treated with F1 and F2 (MOI 10), during 30, 60, and 120 minutes; later, cells were infected with SI-MDR for one-hour. To evaluate RA, cells were infected with SI-MDR, and one-hour post-infection were treated with F1 or F2 (MOI 10) for one hour. To evaluate the bacterial invasion, cells were infected with SI-MDR, and one-hour post-infection were treated with 100 mg/mL of gentamycin for one hour. Later, cells were treated with F1 or F2 (MOI 10) for one hour. Bacterial adhesion and invasion to confluent cells and phage titer were quantified by colony forming unit (CFU) and plaque forming unit (PFU) count. Assays were performed in two biological replicates with duplicate wells. In PA, the phage cocktail for two hours showed a significant bacterial reduction of 4 log<sub>10</sub>/mL in comparison with infected cells (SI-MDR). In the RA, we observed that SI-MDR had adherence to epithelial cells (10<sup>7</sup> CFU/mL), and after phage application the SI-MDR adhesion was reduced in 5 log<sub>10</sub>/mL for F1 and 7 log<sub>10</sub>/mL for F2. In the bacterial invasion evaluation, we found that SI-MDR invades Caco-2 cells (10<sup>4</sup> CFU/mL), and phage treatment reduced SI invasion in 2 log<sub>10</sub>/mL for F2 and 4 log<sub>10</sub>/mL for F1 phage. In PA, RA and bacterial invasion assays, we recovered high titers of phages at all times points. Our results support that phages F1 and F2 could be use as candidates for therapeutical control of salmonellosis in human culture cells using a prophylaxis approach.

Keywords: Bacteriophage, *Salmonella* Infantis, Multidrug-resistant, Caco-2 cells, cocktail.

Financing: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID) Chile Fondecyt Grants 1231082 (AM-S) and 3210317 (DAE).

Acknowledgments: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID)

Tipo de presentación: Panel

**Contribution of the *Salmonella* Typhimurium effector GtgE in the proteolytic inactivation and subcellular distribution of the monomeric GTPase Rab32A in the amoeba *Dictyostelium discoideum***

**Contribución del efector GtgE de *Salmonella* Typhimurium en la inactivación proteolítica y la distribución subcelular de la GTPasa monomérica Rab32A en la ameba *Dictyostelium discoideum***

**Fernando A. Amaya Inzunza**<sup>1</sup>, Andrea Avilés Thöm<sup>1</sup>, Gabriela Osses Serrano<sup>1</sup>, Sergio A. Álvarez<sup>1</sup>, Carlos A. Santiviago<sup>1</sup>

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

*Salmonella* sobrevive intracelularmente en un compartimiento membranosos especializado llamado "vacuola contenedora de *Salmonella*" (SCV). Para establecer la SCV, la bacteria transloca proteínas efectoras (también llamadas "efectores") hacia la célula hospedera mediante dos sistemas de secreción de tipo III (T3SS) independientes. Muchos efectores subvierten la función de GTPasas monoméricas de la familia Rab, como Rab32. Esta GTPasa contribuye a restringir el crecimiento de bacterias patógenas intracelulares. Los efectores GtgE (cisteína 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. Nuestro grupo reportó que *S. Typhimurium* requiere de sus dos T3SS para sobrevivir intracelularmente en la ameba *Dictyostelium discoideum*, residiendo en un compartimiento tipo SCV. El genoma de esta ameba codifica 4 proteínas homólogas a Rab32 (A–D), siendo Rab32A la única identificada en fagosomas y vacuolas contenedoras de *Legionella*. Nuestros análisis bioinformáticos muestran que las 4 proteínas Rab32 de *D. discoideum* comparten una alta similitud aminoacídica con proteínas Rab32 de mamífero, conservando la secuencia reconocida por GtgE. Para evaluar la actividad proteolítica de GtgE mediante *Western blot*, generamos una fusión Rab32A-6xHis para su expresión recombinante en una cepa de *Escherichia coli* que también expresa el efector GtgE silvestre o una variante sin actividad catalítica (GtgE<sup>H151A</sup>). La proteólisis de Rab32A-6xHis se observó al expresar GtgE silvestre y no la variante GtgE<sup>H151A</sup>. Paralelamente, generamos una fusión GFP-Rab32A para monitorear su localización subcelular mediante microscopia confocal en amebas infectadas con la cepa silvestre o una mutante  $\Delta$ gtgE  $\Delta$ sopD2 de *S. Typhimurium*. En ausencia de infección, GFP-Rab32A se acumuló alrededor de compartimientos intracelulares de tamaño variable. Esta distribución no se vio alterada en amebas infectadas con la cepa silvestre o con la mutante  $\Delta$ gtgE  $\Delta$ sopD2. En conjunto, nuestros resultados indican que todas las proteínas Rab32 de *D. discoideum* serían blancos potenciales de GtgE, siendo Rab32A proteolizada por el efector. Por otro lado, Rab32A se asocia a compartimientos membranosos en la ameba, lo cual no cambia durante la infección por *S. Typhimurium* bajo las condiciones experimentales analizadas.

Keywords: *Salmonella*, *Dictyostelium*, T3SS, GtgE, Rab32

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

Tipo de presentación: Panel

### **Higher calprotectin expression in adventitial layer of Cystic Echinococcosis cysts in cattle compared with sheep**

**María Baquedano**<sup>1</sup>, Caroll Stoores<sup>1</sup>, Christian Hidalgo<sup>2</sup>, Ismael Pereira<sup>1</sup>, Rodolfo Paredes<sup>1</sup>

(1) Universidad Andres Bello, Laboratorio Medicina Veterinaria, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, República 440, Santiago, Chile

(2) Universidad de las Américas, Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, República 71, Santiago, Chile

Cystic Echinococcosis (CE) is a worldwide zoonotic disease caused by *Echinococcus granulosus* metacestode that is a cyst produced in humans and livestock, that are considered intermediate hosts. Cysts are composed by three layers: germinal and laminated layer from parasite origin and the adventitial layer that corresponds to the immune response to cyst formation by the host. These cysts can produce protoscoleces in the cyst fluid, that correspond to the infective unit to the definitive host, thus continuing the life cycle of the parasite, cysts with these structures are called fertile cysts. In the absence of protoscoleces, cysts can not continue the cycle and are therefore called non-fertile cysts. The reasons behind the formation of fertile or non-fertile cysts remain unknown. The immune response in adventitial layer is composed by different cells type, as macrophages, T cells and B cells, among others. Calprotectin has been related to inflammatory responses and is expressed particularly in macrophages and neutrophils. Notably, non-fertile cysts are associated with inflammatory responses and are more frequently found in cattle, while fertile cysts align more with anti-inflammatory responses and are more frequently found in sheep. To explore the differences between the local immune response against fertile and non-fertile CE cyst, we aimed to evaluate the calprotectin expression level in the adventitial layer of CE cysts from cattle and sheep. To this extent, we obtained histological slices to perform immunohistochemistry using an  $\alpha$ -calprotectin antibody and a secondary antibody conjugated with horseradish peroxidase. After DAB reaction with horseradish peroxidases, hematoxylin was used for nuclei staining and microscope images were obtained, and calprotectin expression was quantified using ImageJ software. Calprotectin expression was increased in cattle adventitial layer cysts over sheep samples, in further analysis we identified the location of this expression and found that the mayor proportion of calprotectin expression was in proximity of the laminated layer in the case of cattle CE cysts. The expression of calprotectin was not fertility-dependent nor cyst organ origin dependent. Therefore, cattle CE cysts have more calprotectin expression that could relate to the inflammatory state of the adventitial layer, over sheep CE cysts.

Keywords: *Echinococcus granulosus*, cattle, sheep, Echinococcosis, adventitial layer

Financing: Funding: FONDECYT 1231620.

Tipo de presentación: Panel

**Activation of innate immunity via DDX41 receptor in Atlantic salmon (*Salmo salar*) during infection with *Piscirickettsia salmonis* and *Renibacterium salmoninarum***

**Activación de la inmunidad innata a través del receptor DDX41 en salmón del Atlántico (*Salmo salar*) durante infección con *Piscirickettsia salmonis* y *Renibacterium salmoninarum***

**Claudia Barrientos**<sup>1</sup>, Sandra Flores<sup>1</sup>, Marcelo Aguilar<sup>1</sup>, Adolfo Isla<sup>1,2</sup>, José Blanco<sup>1</sup>, Alejandro Yáñez<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias, Isla Teja s/n, Valdivia, Chile

(2) Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Facultad de Ciencias, Isla Teja s/n, Valdivia, Chile

DDX41, es un sensor intracelular perteneciente a la familia de proteínas DExD/H-box (DDX) involucrado en la activación y regulación de la inmunidad innata antiviral y antibacteriana, altamente reportado en mamíferos. Este estudio es el primer reporte del gen DDX41 en salmón del Atlántico. Los objetivos fueron identificar y analizar el gen y expresión del transcrito de DDX41, sus vías de señalización y moléculas inflamatorias en condiciones *in-vitro* e *in-vivo* utilizando riñón anterior de *S. salar* ante infección con bacterias intracelulares. Se realizó la identificación de la secuencia codificante de DDX41 utilizando la base de datos NCBI. Además, se realizó el análisis de las secuencias nucleotídica y aminoacídica utilizando ClustalW y modelamiento tridimensional de proteínas por homología de secuencias. La expresión del gen se evaluó en una cinética de infección en la línea celular SHK-1 con cepas de *Piscirickettsia salmonis* y de *Renibacterium salmoninarum* a un MOI: 10 UFC/mL. La cinética de infección fue realizada a las 1, 3, 6 y 24 horas post infección (hpi) para la posterior extracción de RNA, síntesis de cDNA y análisis de la expresión de los genes DDX41, STING, IRF3, IL-1 $\beta$  y TNF $\alpha$  mediante RT-qPCR. Los resultados de las cinéticas de infección con los patógenos *P. salmonis* y *R. salmoninarum* mostraron un aumento en la expresión de DDX41, STING, IRF3, IL-1 $\beta$  y TNF $\alpha$  a las 3 hpi. Además, el desafío *in-vivo* con *P. salmonis* mostró un aumento en la expresión de DDX41 e IL-1 $\beta$  en riñón anterior de *S. salar* durante la etapa temprana de infección. El gen DDX41 es un gen único presente en el cromosoma 5 del genoma de *S. salar* y presenta una identidad aminoacídica de 92% con respecto a *Danio rerio*. Además, mostró ser un gen transcripcionalmente activo, expresándose desde las primeras fases de infección con bacterias intracelulares en células SHK-1. Así mismo, se expresa de forma constitutiva en todos los tejidos examinados de *S. salar*. Finalmente, se evidencia una relación entre DDX41, las vías de señalización STING e IRF3 y moléculas efectoras de la respuesta inmune innata (IL-1 $\beta$  y TNF $\alpha$ ) mostrando una homología con respecto a su contraparte mamíferos.

Keywords: DDX41, *Salmo salar*, Inmunidad innata, *Piscirickettsia salmonis*, *Renibacterium salmoninarum*

Financing: Proyecto FONDEF ID21I10066 e Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR) FONDAP-ANID 1522A00004.

Acknowledgments: VIDCA UACH

Tipo de presentación: Panel

**Construction of recombinant plasmids for expression, purification and evaluation of in vitro proteolytic activity of *Salmonella* Typhimurium effector GtgE on *Dictyostelium discoideum* Rab32A protein**

**Construcción de plasmidios recombinantes para expresar, purificar y evaluar la actividad proteolítica in vitro del efector GtgE de *Salmonella* Typhimurium sobre la proteína Rab32A de *Dictyostelium discoideum***

**Carolina Calquín Bahamondes<sup>1</sup>**, Andrea Avilés Thom<sup>1</sup>, Fernando Amaya Inzunza<sup>1</sup>, Sergio Álvarez<sup>1</sup>, Carlos Santiviago<sup>1</sup>

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

GtgE es un efector translocado por los sistemas de secreción de tipo III codificados en las islas de patogenicidad SPI-1 y SPI-2 de *Salmonella* Typhimurium. En células de mamífero, este efector tiene actividad cisteína proteasa contra algunas GTPasas monoméricas, como Rab32. Entre otras funciones, esta GTPasa es requerida para restringir el crecimiento de bacterias patógenas intracelulares. Normalmente, Rab32 es reclutada hacia la vacuola contenedora de *Salmonella* (SCV), compartimiento membranoso en el que la bacteria sobrevive intracelularmente en una célula hospedera. La proteólisis de Rab32 por GtgE interfiere con el reclutamiento de la GTPasa hacia la SCV, lo cual promueve la supervivencia intracelular de *Salmonella* en macrófagos. Nuestro grupo reportó que *S. Typhimurium* requiere el efector GtgE para sobrevivir dentro de un compartimiento similar a la SCV en la ameba *Dictyostelium discoideum*. Por otro lado, nuestros análisis bioinformáticos muestran que las 4 proteínas Rab32(A-D) codificadas en el genoma de *D. discoideum* comparten un alto porcentaje de similitud aminoacídica con proteínas Rab32 de mamífero y presentan la secuencia blanco reconocida por GtgE. Más recientemente, mediante ensayos de expresión heteróloga en *Escherichia coli* nuestro grupo determinó que GtgE proteoliza a Rab32A, que es la única proteína Rab32 de *D. discoideum* cuya expresión ha sido confirmada experimentalmente. En este trabajo, generamos construcciones plasmidiales que permitirán expresar, purificar y evaluar la actividad proteolítica *in vitro* del efector GtgE sobre la proteína Rab32A. Para esto, el marco de lectura de las fusiones génicas *gtgE*-6xHis y *rab32A*-6xHis previamente generadas, se movilizó mediante amplificación por PCR y clonamiento hacia el vector de expresión pSEVA254. Adicionalmente, el marco de lectura que codifica una variante de GtgE sin actividad catalítica (GtgE<sup>H151A</sup>) se amplificó mediante PCR para incorporarle el epítipo 6xHis y se clonó en el vector pSEVA254. Los plasmidios recombinantes obtenidos se transformaron separadamente en *E. coli* TOP10 y la expresión de cada proteína de fusión se determinó mediante SDS-PAGE y *Western blot* en lisados bacterianos totales. Actualmente, estamos trabajando en la purificación de las proteínas de fusión mediante cromatografía de afinidad para su posterior utilización en ensayos de proteólisis *in vitro*.

Keywords: *Salmonella*, GtgE, Rab32A, *Dictyostelium*, SCV

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

Tipo de presentación: Panel

**Microalgae Exopolysaccharides isolated from the Antofagasta Region: Study of immunomodulatory properties in Antigen Presenting Cells.**

**Exopolisacáridos de microalgas de la Región de Antofagasta: estudio de las propiedades inmunomoduladoras en Células Presentadoras de Antígenos.**

**Andrés Canales**<sup>1,4</sup>, Angello Retamal<sup>1,2,4</sup>, Mariella Rivas<sup>1,4</sup>, Yesica Botero<sup>3</sup>, Manuel Zapata<sup>4</sup>

(1) Universidad de Antofagasta, Centro de Investigación en Inmunología y Biotecnología Biomédica de Antofagasta, Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Biológicos, Avenida Universidad de Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile

(2) Universidad de Antofagasta, Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Biológicos, Avenida Universidad de Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile

(3) Universidad de Antofagasta, Ingeniería química y procesamientos minerales, Facultad de Ingeniería, Av. Universidad de Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile

(4) Universidad de Antofagasta, Biotecnología, Ciencias del Mar y Recursos Biológicos (FACIMAR), Av. Universidad de Antofagasta 02800, Antofagasta, Chile

Los Exopolisacáridos (EPS) son polímeros complejos formados por carbohidratos, estos son secretados por diversos microorganismos, entre ellos las microalgas. Los EPS presentan una rica diversidad estructural con variaciones en la composición de azúcares, la longitud de las cadenas y los patrones de ramificación. Esta amplia gama de estructuras puede influir en sus actividades biológicas, incluyendo sus interacciones con el sistema inmunológico. Los EPS son capaces de interactuar con las células del sistema inmunológico y modular las respuestas inmunitarias como activadores o inmunosupresores. Además, muchos de los EPS generados por estos microorganismos muestran biocompatibilidad y baja toxicidad, lo que los posiciona como posibles candidatos en aplicaciones biomédicas, como Inmunomoduladores y adyuvantes en vacunas. En este trabajo caracterizamos EPS aislados desde cuatro microalgas extremófilas aisladas desde ambientes acuáticos en el litoral y en los salares del Desierto de Atacama en la Región de Antofagasta: *Nannochloropsis oceanica*, *Nitzschia closterium*, *Oscillatoria sp.* y *Dunaliella tertiolecta*. Las cepas seleccionadas, fueron cultivadas en condiciones optimizadas para laboratorio. Realizamos la purificación de los EPS mediante precipitación alcohólica. Determinamos el contenido bioquímico de los EPS cuantificando carbohidratos, proteínas y material genético, además de identificar grupos funcionales mediante espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR). Para evaluar la interacción de los EPS con las células presentadoras de antígenos, examinamos la viabilidad celular, marcadores de maduración, el perfil de expresión de citoquinas y llevamos a cabo ensayos funcionales para evaluar su capacidad para procesar antígenos. Hemos estandarizado un protocolo de purificación eficiente que garantiza la ausencia de contaminación detectable de proteínas o ácidos nucleicos en los EPS. Los espectros de FTIR revelan patrones característicos de carbohidratos y no se han detectado grupos tiol o fosfato, confirmando su pureza. Los EPS presentan una baja toxicidad en las células, ya que no afectan la viabilidad en un amplio rango de concentraciones. Los EPS que evaluamos estimulan en los macrófagos un perfil proinflamatorio, junto con un aumento en su capacidad fagocítica y en la degradación de antígenos. Estos hallazgos respaldan el potencial rol de los exopolisacáridos como moléculas adyuvantes, por lo tanto, estudios en un modelo de inmunización podrían complementar estos resultados.

Keywords: Microalgas, Inmunomoduladores, Exopolisacáridos, Adyuvante, Células presentadoras de Antígenos

Financing: Centro de Investigación en Inmunología y Biotecnología Biomédica de Antofagasta Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Biológicos Universidad de Antofagasta

Tipo de presentación: Panel

**Neutralizing antibody response to the original SARS-CoV-2 virus and the Omicron variant in Chile.**

**Lina Jimena Cortes**<sup>1</sup>, Juan Hormázabal<sup>1</sup>, Loreto Nuñez-Franz<sup>2</sup>, Paola Rubilar<sup>3</sup>, Mauricio Apablaza<sup>4</sup>, Cecilia Vial<sup>1</sup>, Natalia Gonzalez<sup>1</sup>, Pablo Vial<sup>1</sup>, Macarena Said<sup>2</sup>, Claudia Gonzalez<sup>3</sup>, Kathia Olivares<sup>5</sup>, Ximena Aguilera<sup>3</sup>, Muriel Ramírez-Santana<sup>5</sup>

(1) Universidad de Desarrollo, Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Facultad de Medicina Clínica Alemana, Avenida Plaza 680, Santiago, Chile

(2) Universidad de Talca, Departamento de Salud Pública, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad 16 de Talca, Talca, Chile

(3) Universidad del Desarrollo, Centro de Epidemiología y Políticas de Salud, Facultad de Medicina Clínica Alemana, Avenida Plaza 680, Santiago, Chile

(4) Universidad del Desarrollo, Facultad de Gobierno, Facultad de Gobierno, Avenida Plaza 680, Santiago, Chile

(5) Universidad del Desarrollo, Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Facultad de Medicina Clínica Alemana, Avenida Plaza 680, Santiago, Chile

The SARS-CoV-2 virus has a high mutation rate, resulting in progressive appearance and circulation of multiple variants. Studying these variants might help determine immunization strategies. The study compared immunity to the original virus (Wuhan) and the Omicron variant using neutralizing antibodies (NAbs), that provide a good approximation of protective immunity. Chile grants a unique case for understanding the relationship between immunization and predominant variants due to its high incidence during the initial waves and extensive immunization coverage (98.7%). Unlike previous studies, we analyzed a random population-based sample of 110 individuals from two Chilean cities. Serum neutralization capacity against the original Wuhan strain was measured using a pseudotyped vesicular stomatitis virus, plus coding the enhanced green fluorescent protein (eGFP) as a reporter gene (VSV-GFP-Spike SARS-CoV-2 original Wuhan strain). To measure NAbs against the Omicron variant, we used a VSV Pseudotyped  $\Delta G\Box GFP$  rVSV decorated with Omicron spike protein of SARS-CoV-2, which has been generated according to a modified protocol from manufacturer. Serially diluted serum previously incubated with pseudovirus VSV-GFP-Spike SARS-CoV-2 was transferred into a HeK293-T ACE2-TMPRSS2 cell monolayer. The infection was measured in each well by determining GFP+ cells from 16 acquired images using a Cytation3 plate reader and counting in an automated manner using Fiji software. Our findings indicate that 98.2% of individuals had NAbs against Wuhan, 65.5% against Omicron, and 32.7% tested positive for Wuhan but not Omicron. Factors influencing protective immunity included a prior natural infection and the number of vaccines received. NAbs titers against the original virus were high, demonstrating vaccine effectiveness in the population. However, the level of antibodies decreased when measuring NAbs against Omicron, particularly among older individuals, indicating a decline in vaccine protection. Previous COVID-19 episodes acted as a natural booster, increasing NAbs titers against both virus strains. Updating vaccine to target emerging variants and continued monitoring of effectiveness at the population level are necessary.

Keywords: SARS-CoV-2, Vaccines, NAbs, Omicron

Financing: This research was funded by ANID, Grant code FONIS SA21I0009. The research has been supported by WHO Unity Studies, a global sero-epidemiological standardization initiative, with funding to WHO by the COVID-19 Solidarity Response Fund and Proyecto Anillo Gene2DIS code ATE 220061.

Acknowledgments: We thank K. Chandran for the provision of a seed stock of VSV-GFP-Spike SARS-CoV-2 pseudo type.

Tipo de presentación: Panel

**Mucosal vaccination using a vaccine based on probiotic against Group B Streptococcus promotes bacterial protection in a preclinical model**

**La vacunación mucosal en base a una vacuna a base de probióticos frente a Streptococcus del grupo B promueve la protección bacteriana en un modelo preclínico**

**Michal Díaz Samirín**<sup>1,2</sup>, Daniel Soto<sup>1</sup>, Diego Diaz-Dinamarca<sup>1</sup>, Abel E. Vasquez<sup>1,3</sup>

(1) Instituto de Salud Pública, ANDID, Sección de Biotecnología, Av. Marathon 1000, Santiago, Chile

(2) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de ingeniería química y bioprocesos, Facultad de ingeniería, Av. Libertador Bernardo O'Higgins, 9170022, Santiago, Chile

(3) Universidad del Alba, Departamento de Investigación Posgrado y Educación Continua (DIPEC), Facultad de Ciencias de la Salud., Santiago, Chile

Group B *Streptococcus* (GBS) is the primary etiological agent of sepsis and meningitis in newborns. It is also associated with premature birth and stillbirth. The only current treatment for vertical transmission is the administration of intrapartum antibiotics. However, developing a licensed vaccine against GBS remains a pending challenge for the World Health Organization.

Therefore, we propose using *Lactococcus lactis* as an antigen carrier capable of generating a protective immune response and reducing rectovaginal colonization. This study aims to characterize the effect of a prototype vaccine based on recombinant *Lactococcus lactis* secreting immunogenic factors against GBS in immunized and subsequently colonized murine models.

Using BALB/c murine models, we determined that the group provided with the prototype vaccine decreased GBS colonization compared to the other control groups, which were provided with *Lactococcus lactis* NZ9000 and physiological saline solution. Our experimental observations strongly support the notion that a vaccine based on *Lactococcus lactis* could be considered a novel alternative with low production costs in developing GBS vaccines.

Keywords: Group B streptococcus, Oral Vaccine, Adjuvant, mucosal vaccine, Defeating Meningitis by 2030

Financing: Funding: FONDEF ID21I10370 and ID23I10207 (AEV), Instituto de Salud Pública de Chile Funding (AEV, DD-D).



Tipo de presentación: Panel

### **Characterization of *Pseudomonas syringae* bacteriophages**

### **Caracterización de bacteriófagos de *Pseudomonas syringae***

**Michelle Garcés<sup>1</sup>**, Roberto Bastías Romo<sup>1</sup>, Catalina Crespo Barrera<sup>1</sup>, Mauricio Nuñez Rodríguez<sup>1</sup>, Jorge Araya Quijanes<sup>1</sup>, Marcela León Villanueva<sup>1</sup>, Carolina Escobar Unamuno<sup>1</sup>

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

La especie *Pseudomonas syringae* es uno de los fitopatógenos más versátiles. Esta especie está compuesta por más de 50 patovares capaces de infectar distintos cultivos agrícolas, muchos de los cuales están presentes en Chile. Uno de los factores que puede regular las poblaciones de estas bacterias en el ambiente son los bacteriófagos. A pesar de lo anterior, es poco lo que se conoce sobre fagos capaces de infectar esta especie en nuestro País. En este estudio se aislaron y caracterizaron parcialmente fagos capaces de infectar *Pseudomonas syringae* pv *actinidiae* (Psa), *Pseudomonas syringae* pv *tomato* (Pst) y *Pseudomonas viridiflava* (Pv), esta última, es una especie que comúnmente se encuentra desarrollando coinfecciones junto a *Pseudomonas syringae*. En total se logró aislar 11 bacteriófagos, de los cuales seis lograron infectar eficientemente solamente 1 patovar de *Pseudomonas syringae*, mientras que el resto infectó 3 o más patovares. Asimismo, 3 fagos son capaces de lisar completamente un cultivo de Psa, 7 un cultivo de Pst, 5 un cultivo de *Pseudomonas syringae* pv *syringae* (Pss), 7 un cultivo de *Pseudomonas syringae* pv *morsprunorum* (Psm) y 7 un cultivo de Pv. Dos de los fagos (SVC y CSS) fueron caracterizados morfológicamente, revelando una estructura tipo podoviridae, mientras que los mismos en conjunto a CAR, MPP, JMIA son fagos que fueron secuenciados y actualmente sus genomas están siendo analizados.

Estos resultados muestran que, así como existe una diversidad de patovares de *P. syringae* en el País, también existen bacteriófagos que muestran distintos rangos de hospedero y capacidad infectiva sobre estas bacterias. Esperamos que futuros análisis nos permitan entender de mejor forma la diversidad genética de estos fagos así como las interacciones entre ellos y sus bacterias hospederos.

Keywords: Bacteriófagos, Fitopatógenos, Rango de hospedero, *Pseudomonas*

Financing: Proyecto Vinculab (20CEIN2-142145) del Consorcio Science UP

Acknowledgments: Agradecemos al Consorcio Science UP que mediante la iniciativa Vinculab pudo financiar este proyecto y a la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso que es dónde se llevan a cabo estos ensayos.

Tipo de presentación: Panel

**From fish to amoeba: Studying Hypervirulent ST23 *Klebsiella pneumoniae* through Zebrafish Larvae and *Dictyostelium discoideum***

**Matías Gálvez Silva**<sup>1</sup>, Diego Rojas<sup>2</sup>, Antonia Ramos<sup>2</sup>, Daniel Acuña<sup>1</sup>, Macarena A. Varas<sup>1</sup>, Francisco Chávez<sup>2</sup>, Andrés Marcoleta<sup>1</sup>, Miguel Allende Connelly<sup>3</sup>

(1) Grupo de Microbiología integrativa, Laboratorio de Biología Estructural y Molecular BEM, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Las palmeras 3425, Santiago, Chile

(2) Laboratorio de Microbiología de Sistemas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Las palmeras 3425, Santiago, Chile

(3) Millenium Institute Center for Genome Regulation, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile

*Klebsiella pneumoniae* is a high-priority gram-negative pathogen due to the increasing detection of multidrug-resistant and hypervirulent strains (hvKp), causing severe and hard-to-treat infections in healthy patients. In particular, hvKp from the globally disseminated ST23 clone is of special concern. Considering the high risk of these strains, insightful and relatively simple assays are needed to study hvKp pathogenesis. Although mammalian models (primarily mice) have been traditionally used as hosts for hvKp, they are constrained by cost-related, logistical, technical, and ethical concerns. To overcome these limitations, we validated using zebrafish larvae and *Dictyostelium discoideum* as surrogate hosts for ST23 hvKp, providing a set of assays to evaluate its virulence. For this, we used the model hvKp strain SGH10 and the capsule-null mutant  $\Delta wcaJ$ , shown to be attenuated in mice, comparing their virulence over the surrogate hosts by different approaches, including live-cell imaging, bacterial titration, and flow cytometry. As outcomes, we measured lethality over zebrafish larvae, intestinal colonization, immune cell recruitment, resistance to phagocytosis by amoebae, and delaying effect on the amoeba's social development. The results showed that both models were susceptible to infection by ST23 hvKp. Moreover, we got contrasting virulence readouts comparing the wild-type SGH10 and the  $\Delta wcaJ$  mutant, which behaved as the avirulent control strain in most assays. These results validated zebrafish larvae and the social amoeba as model hosts for ST23 hvKp, expanding the toolbox of assays available to evaluate its virulence.

Keywords: Zebrafish, *Dictyostelium discoideum*, Hypervirulent *K. pneumoniae*

Financing: Grants FONDECYT 1211852 and FONDECYT 1221193.

Tipo de presentación: Panel

**The host RNA helicase DDX3X regulates Zika virus RNA metabolism and innate immune response during replication in human microglia**

**Tomás Hernandez-Díaz**<sup>1,2</sup>, Aarón Oyarzun-Arrau<sup>1,2</sup>, Fernando Valiente-Echeverría<sup>1,2</sup>, Tommaso Cupido<sup>3</sup>, Ricardo Soto-Rifo<sup>1,2</sup>  
(1) Universidad de Chile, Virology Program, Faculty of Medicine, Independencia 1027, Santiago, Chile  
(2) Millenium Institute of Immunology and Immunotherapy, Santiago, Chile  
(3) St Jude Children's Research Hospital, Chemical Biology and Therapeutics, Memphis, USA

Zika virus (ZIKV) is a mosquito-borne virus with pandemic potential considered a global threat to public health by the WHO since 2016. This pantropic virus infects different cell types from neurons to immune cells including microglia in the central nervous system. During ZIKV infection, host cells activate the innate immune response and previous reports suggest that ZIKV uses host proteins to avoid/abrogate cellular defenses to favor its own replication. Indeed, different RNA viruses including HIV-1, dengue virus and Hepatitis C virus usurp immune response-related cellular factors, such as the RNA helicase DDX3X, to avoid the innate immune response and promote viral replication.

In this work, we explored the involvement of DDX3X during ZIKV replication in a human microglia cell line. We observed that viral RNA (vRNA) and proteins reach a peak at 24 hours post-infection (hpi) decreasing at 48 hpi. Surprisingly, our data show that the levels of DDX3X increase from 12 to 24 hpi concomitant with the intracellular accumulation of viral elements. Strikingly, both knockdown or pharmacological inhibition of DDX3X in human microglia resulted in a decrease of viral protein levels and viral titers, but in a marked increase in the cytoplasmic levels of vRNA and innate immune response-related mRNAs. Confocal microscopy analyses revealed that vRNA accumulates and remains retained in the endoplasmic reticulum in the absence of DDX3X. By using a ZIKV-derived reporter RNA in DDX3X knockdown cells, we show that the host RNA helicase participates in vRNA translation. Moreover, in vitro experiments show that DDX3X binds to the 5'UTR of vRNA and this binding stimulates DDX3X ATPase activity. Together, these results indicate that DDX3X binds ZIKV the 5'UTR of the vRNA to promote viral protein synthesis. Nevertheless, this phenomenon does not exclude the possible participation of DDX3X in other steps of viral RNA metabolism such as packaging and therefore, we are performing further experiments to explore and confirm this hypothesis.

Keywords: Microglia DDX3X Zika virus translation

Financing: This work was supported by ANID through the FONDECYT Program N° 1190156 and 1230102 (to RSR) and N° 1211547 (to FVE) and ANID-ICM grant ICN2021\_045 (to RSR). THD holds a ANID Doctoral Fellowship N° 2019-21191987.

Tipo de presentación: Panel

***Helicobacter pylori* infection promotes the disruption of the  $\beta$ -catenin/TCF-4 complex, but does not affect the expression of TCF-4-dependent genes**

**Safka Hernández-Gutiérrez**<sup>1,3</sup>, Hector Tapia García<sup>1,2,3,4</sup>, Jessica Díaz E.<sup>1,3</sup>, Vicente Torres G.<sup>2,3,4</sup>, Denisse Bravo<sup>1,3</sup>

(1) Laboratory of Microbial Interactions. Faculty of Dentistry, National University Andrés Bello, Echaurren 277, Santiago, Chile  
(2) Laboratory of Cellular and Molecular Biology. Faculty of Dentistry, University of Chile, Olivos 943, Santiago, Chile  
(3) Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDIS), Faculty of Chemical and Pharmaceutical Sciences, University of Chile, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Santiago, Chile  
(4) Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy (IMI)

The main risk factor for intestinal gastric carcinoma is chronic infection with *Helicobacter pylori*. This bacterium colonizes the gastric epithelium of approximately 50% of the world's population and its infection triggers the activation of numerous signaling pathways related to gastric carcinogenesis.

It is established that under tumor hypoxic conditions HIF-1 $\alpha$  can form a complex with  $\beta$ -catenin, inducing the expression of genes dependent on HIF-1 $\alpha$ . This transcription factor is recognized for its involvement in various cancer-related processes such as proliferation, migration and angiogenesis.

Our group's findings have established that *H. pylori* infection promotes the stabilization of HIF-1 $\alpha$ , the formation of the  $\beta$ -catenin/HIF-1 $\alpha$  complex, and that this protein complex promotes the expression of genes dependent on HIF-1 $\alpha$  in gastric cancer cells. Furthermore, these results have shown that *H. pylori* infection not only promotes the formation of the  $\beta$ -catenin/HIF-1 $\alpha$  complex, it also interferes with the interaction between  $\beta$ -catenin and TCF-4 without modifying the latter's nuclear localization.

This investigation aimed to explore the possible role of *H. pylori* infection in the disruption of the  $\beta$ -catenin/TCF-4 complex as a result of the interaction between  $\beta$ -catenin and HIF-1 $\alpha$  and its impact on the expression of genes dependent on TCF-4.

Immunofluorescence analysis of *H. pylori*-infected AGS cells showed that the nuclear localization of TCF-4 remained unchanged in response to the infection. However, a noticeable decrease in co-localization between TCF-4 and  $\beta$ -catenin was observed. We then assessed changes in TCF-4's transcriptional activity by qPCR analysis of infected AGS cells. Surprisingly, these findings didn't show a decrease in the mRNA levels of the TCF-4 target c-Myc, and there was an increase in the mRNA levels of CA9 when compared to a non-infected control.

Taken together, these observations illustrate that *H. pylori* infection disrupts the association between  $\beta$ -catenin and TCF-4. However, our results did not demonstrate a reduction in the transcriptional activity of TCF-4, which could suggest the presence of an unknown compensatory mechanism independent of the  $\beta$ -catenin/TCF-4 complex.

Keywords: Gastric cancer, *Helicobacter pylori*,  $\beta$ -catenin, TCF-4, HIF-1 $\alpha$

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" (V.A. Torres), and CONICYT-FONDAP 15130011 (D. Bravo; V. A. Torres).

Tipo de presentación: Panel

### **Elucidating the function of key genes involved in clinical course of hantavirus cardiopulmonary Syndrome**

**Juan Hormazabal**<sup>1</sup>, Grazielle Esteves<sup>1</sup>, Lina Jimena Cortés<sup>1</sup>, Natalia Gonzalez<sup>1</sup>, Mindy Muñoz<sup>1</sup>, Carolina Ramirez-Riffo<sup>1</sup>, Aldo Barrera<sup>2</sup>, Contanza Martinez-Valdebenito<sup>2</sup>, Marcela Ferres<sup>2</sup>, Pablo Vial<sup>1</sup>, Cecilia Vial<sup>1</sup>

(1) Universidad Del Desarrollo, Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Facultad de Medicina Clínica Alemana, Avenida La Plaza 680, Edificio o, Piso -2, Santiago, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica, Laboratorio Infectología y Virología Molecular, Facultad de Medicina, Marcoleta 340, 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. Although the same virus infects people in Chile and Southern Argentina, the clinical course varies significantly in every infected individual, however, in our hantavirus laboratory we are studying the differences in the immune response to ANDV in mild and severe patients.

Furthermore, additional components from host networks could be acting in hantavirus entry, replication, and inflammation, being the more relevant to explore mainly the host cellular and immune response. In an unbiased manner, high-throughput transcriptomic analysis from our group found 78 genes differentially expressed in peripheral blood monocytes cells (PBMCs) extracted from HCPS patients. Thus, using criteria to choose candidate genes both with the highest fold change and adjusted p-value score, and belonging to biological pathways enriched in severe patients, we selected PCSK9 and ANXA3. All cellular pathways in which ANXA3 and PCSK9 are involved are tightly related with hantavirus infection development, which leads to the hypothesis PCSK9 and/or ANXA3 could be determinant in the severity of HCPS.

**Methods.** In samples from our hantavirus collection, we perform expression profile and a RT-qPCR for PCSK9 and ANXA3. Viral entry assays were performed in endothelial cells, which were incubated with recombinant PCSK9, then infected using a vesicular stomatitis virus (VSV)-Luciferase (Luc)-Gn/Gc Spike complex ANDV or VSV-Luc-G native protein. The pro-inflammatory response was measured in modified epithelial cells lines (Wild Type; KO PCSK9; KO ANXA3) that were infected with ANDV to measure Cytokines.

**Results.** We show that PCSK9 inhibit the ANDV-VSV entry in a dose dependent manner, and we also show that PCSK9 KO inhibit the increase of TGF- $\alpha$  to ANDV infection. To another side, the pro-inflammatory response is altered mainly by ANXA3 in the A549 cells.

Keywords: Hantavirus, HCPS, PCSK9, ANXA3, Transcriptomics

Financing: ANID Postdoctorado 3230499; ANID Fondecyt Regular 1201240

Tipo de presentación: Panel

**Evaluation of the phytopathogenicity of SAP54, effector of the phytoplasma that belongs to the group 16SrXIII "Strawberry Phyllody Chilean strain" (StrPh-CL) in *Nicotiana benthamiana* plants.**

**Evaluación de fitopatogenicidad de efector SAP54 del fitoplasma del grupo 16SrXIII "Strawberry Phyllody Chilean strain" (StrPh-CL) en plantas de *Nicotiana benthamiana*.**

**Dominique Jaras**<sup>1</sup>, Sergio Álvarez<sup>1</sup>, Weier Cui<sup>2</sup>, Alan Zamorano<sup>2</sup>

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

(2) Universidad de Chile, Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Av. Santa Rosa 11315, La Pintana., Santiago, Chile

Los fitoplasmas son bacterias fitopatogénicas no cultivables globalmente distribuidas que se diseminan de manera natural a través de insectos vectores. En hospederos vegetales causan síntomas como enanismo, alteraciones florales (filodia) y pérdida de la dominancia apical, afectando tanto cultivos comerciales como especies nativas. En general, los mecanismos de patogenicidad de los fitoplasmas en plantas involucran péptidos llamados efectores que son responsables directos de la aparición de síntomas.

Nuestro laboratorio en 2022 secuenció el genoma del fitoplasma "Strawberry Phyllody Chile" (StrPh-CL), quedando disponible por primera vez un genoma de fitoplasma del grupo 16SrXIII, nativos de América. En su genoma se encuentran genes que codifican para efectores fitopatogénicos, dentro de los cuales destaca el gen homólogo a SAP54, previamente identificado como causante de filodia en otras especies de fitoplasma. Con el propósito de comprobar que este gen homólogo se relacionaría con los síntomas observados en frutilla, en este trabajo se clonó SAP54 de StrPh-CL en un vector viral de Virus de Mosaico del Tabaco (TMV) y se inocularon en las plantas modelo *Nicotiana benthamiana* (*N. benthamiana*) con el objetivo de recrear un fenotipo de infección con fitoplasma StrPh-CL.

15 días después de la inoculación, se realizó un análisis de RT PCR en hojas distales a los puntos de inoculación para verificar la presencia de TMV/SAP54, resultando positivas 2 plantas del total de plantas inoculadas. 30 días después de la inoculación, se observó un fenotipo de inhibición del desarrollo de estructuras reproductivas en las plantas positivas de *N. benthamiana* inoculadas con el vector TMV/SAP54, en comparación con aquellas plantas inoculadas con TMV/GFP y sin inocular, validándose la hipótesis de que el gen SAP54 de StrPh-CL es responsable de la inducción de alteraciones florales en hospederos vegetales. Actualmente, se está trabajando en la determinación de la patogenicidad de otros candidatos a efectores identificados en el genoma de StrPh-CL, con el objetivo de comprender los mecanismos moleculares de patogenicidad de este fitoplasma nativo de América.

Keywords: Phytoplasma, SAP54, Phytopathogen, Plant-pathogen interactions

Tipo de presentación: Panel

**Behavior of the LF-89 strain of *Piscirickettsia salmonis* under different temperature and salinity scenarios from the perspective of in vitro virulence in the SHK-1 cell line**

**Comportamiento de la cepa LF-89 de *Piscirickettsia salmonis* bajo distintos escenarios de temperatura y salinidad desde la perspectiva de la virulencia in vitro en la línea celular SHK-1**

**Galax Joya**<sup>1,2</sup>, Jaime Eugenio Figueroa Valverde<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Laboratorio de Biología Molecular de Peces, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Campus Isla Teja, Valdivia, Chile

(2) Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Centro Fondap, O'Higgins 1695, Concepción, Chile

No solamente el cambio climático sino fenómenos asociados como El Niño, afectan todos los sistemas biológicos, principalmente el marino, aumentando cada vez más la temperatura, de hecho, julio 2023 fue el mes más caluroso registrado hasta ahora, y se ha observado que esto incide en la virulencia de patógenos marinos incrementando el metabolismo y tasas de transmisión. La Piscirickettsiosis, es una infección sistémica de salmónidos ocasionada por *Piscirickettsia salmonis*, con significativas pérdidas económicas y altas mortalidades de peces en los meses más cálidos. Se establece como hipótesis que la Piscirickettsiosis es favorecida por un aumento de temperatura y salinidad estacional.

Se propuso estudiar las condiciones de temperatura y salinidad que influyen en supervivencia, infectividad y patogenicidad de *P. salmonis* en la línea celular SHK-1 de salmón. Para ello, se estudió el crecimiento de la cepa LF-89 con variaciones de salinidad (11, 17, 21, 26 y 31g/L) y temperatura (4, 15, 19 y 21°C).

A temperaturas de 10 y 4°C y salinidad de 37g/L el crecimiento es mínimo, pero cuando se combina baja temperatura (4°C) y salinidad alta (31g/L) se favorece el crecimiento de LF-89. En general, esta cepa presenta un comportamiento diferencial de acuerdo con la condición abiótica, destacando una rápida adaptación a los cambios de salinidad y una más gradual a la temperatura. Cuando se aumenta tanto la temperatura como la salinidad dicha adaptación también es gradual.

Adicionalmente, se estudió el efecto citopático de LF-89 a través de la evaluación microscópica de infecciones de células SHK-1, y viabilidad celular por ensayo de MTT a las 24, 96 y 120hpi, con bacterias crecidas a una salinidad de 11g/L y 19°C; 21g/L y 21°C; y 31g/L y 21°C a un MOI (multiplicidad de infección) de 200, y se apreció un mayor daño citopático y por ende una menor viabilidad celular a 11g/L y 19°C a todos los tiempos estudiados, y a 21g/L y 21°C a 120hpi. Análisis de expresión indican que genes de virulencia como *Liso* podrían estar relacionados a un aumento de patogenicidad cuando la cepa crece a salinidades bajas y a una temperatura de 21°C.

Keywords: Cambio climático, Virulencia, Temperatura, Salinidad

Financing: Proyecto Centro INCAR: FONDAP-ANID 15 22A0004

Acknowledgments: Agradezco a la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo de Chile (ANID) y al Centro Interdisciplinario para la Investigación Acuícola (INCAR), por haber financiado esta investigación y permitirme participar de este congreso.

Tipo de presentación: Panel

**SARS-CoV-2 infection alters nasopharyngeal microbiota increasing population of pathogenic microorganisms and biomarkers.**

**Infeción por SARS-CoV-2 altera microbiota nasofaríngea aumentando población de microorganismos patógenos y biomarcadores**

**Mario A. Maulén Cabañas<sup>1</sup>**, Daniel A. León Guajardo<sup>1</sup>, Waldo A. Díaz-Vásquez<sup>1</sup>

(1) Universidad San Sebastián, Molecular Microbiology and Food Research Laboratory, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de ciencias para el cuidado de la salud, Escuela de nutrición y dietética, Carmen Sylva 2444, Providencia, Santiago, Chile

**Background:**

El SARS-CoV-2 persiste como un problema a nivel global, debido a su capacidad infectiva y a su tasa de mutación se mantiene aún en alerta por posible nuevos brotes del virus o aparición de nuevas variantes. Se ha demostrado recientemente que debido a la infección por SARS-CoV-2, se genera una disbiosis reduciendo la diversidad alfa del microbioma. Del mismo modo se ha demostrado que diferentes variantes de SARS-CoV-2 producen distintas sintomatologías y cargas virales en su mayoría similares a la gripe común, siendo las fallas respiratorias, las mas peligrosas. El cambio en la sintomatología de la enfermedad entre variantes nos lleva a preguntarnos si la microbiota cumple un factor en este proceso.

**Methods:**

Hemos realizado análisis utilizando secuenciaciones de la región hipervariable V3 -V4 gen 16S rRNA de 547 muestras nasofaríngeas en la región metropolitana de Chile durante la primera semana de infección. sometidas a detección de COVID-19. Evaluamos la diversidad alfa y abundancia relativa de dichas muestras donde pudimos determinar la presencia de diferentes patógenos oportunistas y cambios significativos entre la microbiota nasofaríngea de sujetos sanos y contagiados tanto en hombres como mujeres la región metropolitana de Chile en diferentes rangos etarios a lo largo del segundo y tercer año de pandemia.

**Results:**

Hemos determinado una disbiosis a nivel nasofaríngeo en sujetos infectados por medio del cálculo por ANOVA ( $p = 0.05$ ) entre ambos grupos siendo esta más significativa en adultos mayores que los otros rangos etarios, siendo el aumento significativo en la población de los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Corynebacterium* independiente de su sexo, a nivel socioeconómico, siendo este último genero prevalente en muestras infectadas con la variante Gamma y Delta, pero no prolifera en muestras infectadas con Ómicron

**Conclusions:**

Los resultados sugieren que el SARS CoV-2 promueve un proceso de disbiosis el cual se ve acentuado según la edad del paciente donde a mayor edad parecen tener una mayor susceptibilidad al aumento en la población de bacterias asociadas a infecciones primarias y secundarias del tracto respiratorio. Finalmente determinamos qué géneros asociados a infecciones secundarias y síntomas como la tos, desaparecen en la variante circulante en 2022.

Keywords: SARS-CoV, microbiota nasofaríngea, 16S rRNA, marcadores inflamatorios, patógenos oportunistas  
Financing: Universidad San Sebastián, CU90LAMI00



Tipo de presentación: Panel

### Impact of elevated CO<sub>2</sub> on the bacterial biocontrol ability against the 'take-all' disease on wheat plants

Isabel Méndez<sup>1,2</sup>, Giovanni Larama<sup>1</sup>, Patricio Javier Barra<sup>1,3</sup>, Paola Duran<sup>1,4</sup>

(1) Laboratorio de Investigación en Biocontrol, Universidad de La Frontera, Temuco 4811230, Chile

(2) Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco 4811230, Chile

(3) Núcleo Científico Tecnológico en Biorecursos BIOREN, Universidad de La Frontera, Temuco 4811230, Chile

(4) Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, Universidad de La Frontera, Temuco 4811230, Chile

Carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) is accumulating rapidly over time, which has led to changes in climate that affect ecosystems. Plant pathogens are highly adaptable to changes and could become more aggressive in infecting plants (i.e., emerging infectious diseases). Therefore, it is necessary to study the behavior of pathogens and biocontrol microorganisms under climate change scenarios. *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Ggt) is the pathogenic fungus that affects cereals, mainly wheat, reducing at least 50% of production in the absence of efficient control strategies. Our research group has worked on suppressive soils and we confirmed that soil suppression was caused by endophytic bacteria: *Bacillus* sp., *Serratia* sp. and *Acinetobacter* sp. We tested the ability of these bacteria and demonstrated a decrease in the incidence of the "take-all" disease from 30 to 80%. In addition, the bacterial consortium showed biocontrol mechanisms: ACC deaminase activity, phenazine production, chitinase activity (CWDE) and siderophores, which directly help plants to improve stress response. The effect of eCO<sub>2</sub> on both Ggt and biocontrol microorganisms is still unknown. Therefore, the objective of this study was to determine the impact of eCO<sub>2</sub> on Ggt growth and the effect of bacteria-based biocontrol (BBB) under *in vitro* conditions. Antagonism assay between Ggt and the consortium bacteria was performed under environmental control conditions and CO<sub>2</sub> elevated to 1000 ppm. The percentage of inhibition and relative growth of the fungus, as well as the activity of the enzyme superoxide dismutase (SOD) of mycelial samples taken at 2, 5 and 7 days were measured. The biocontrol capacity of bacteria under eCO<sub>2</sub> decreased with the consortium, due to a higher relative growth of Ggt compared to Ggt under ambient conditions. *Bacillus* sp. was the only strain that was enhanced by the effect of eCO<sub>2</sub>, as it caused a decrease in the growth of Ggt. The oxidative stress of Ggt was elevated under eCO<sub>2</sub> conditions and the presence of the bacterial consortium. Finally, the previously tested bacteria decreased their ability to biocontrol Ggt in the *in vitro* assay when under eCO<sub>2</sub>, so it is necessary to continue investigating the effect of eCO<sub>2</sub> on biocontrol bacteria and plant-pathogen interaction.

Keywords: Biological Control, Abiotic/Biotic Stress, *Triticum aestivum*

Financing: Beca ANID N° 21211649

Acknowledgments: Beca ANID N° 21211649, Proyecto FONDECYT Regular N° 1201196, Anillo EN ÁREAS TEMÁTICAS ATE220038 y al Laboratorio de Investigación en Biocontrol (BIOREN-UFRO).

Tipo de presentación: Panel

**Role of cyclooxygenases COX-1 and COX-2 over the function of Herpes Simplex virus type-1 infected dendritic cells**

**Rol de las ciclooxigenasa COX-1 y COX-2 sobre la función de células dendríticas infectadas por el virus herpes simple tipo 1**

**Areli J. Navarro**<sup>1</sup>, Mónica A. Farías<sup>1</sup>, Felipe Cancino<sup>1</sup>, Eduardo Tognarelli<sup>1</sup>, Abel Soto<sup>1</sup>, Pablo González<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Marcoleta 49, Santiago, Chile

Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) is a prevalent microorganism that produces lifelong infections in humans by establishing latency in sensory and autonomic neurons. HSV-1 also infects dendritic cells (DCs), which are professional antigen-presenting cells that initiate and regulate antiviral immune responses. Importantly, HSV-1 modulates DC function and kills these cells. Cyclooxygenases (COXs) are host enzymes that metabolize arachidonic acid into prostaglandin G2 (PGG2), which is subsequently converted into prostaglandin H2 (PGH2). PGH2 acts as a precursor for PGE2, PGD2, and PGI2 synthesis, as well as thromboxane (TXA2), which are involved in inflammatory and non-inflammatory processes. COXs and their products have been reported to participate in the modulation of pro-inflammatory responses in Kaposi's sarcoma herpes virus (KSHV) infections. Furthermore, COX-2 products can suppress the functions of DCs, natural killer cells, and T cells. We explored the role of COXs over the modulation of DC function after infection with HSV-1. Importantly, we found that HSV-1 infection significantly modulates the expression of COX-2 in infected-DCs, as determined by RNA-seq, RT-qPCR and Western Blot, and that the modulating COX activity has effects over the viability and function of DCs infected with this virus. Authors are supported by the Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy #ICN09\_016.

Keywords: Cyclooxygenases, Dendritic cells, herpes simplex virus

Financing: Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy #ICN09\_016.

Acknowledgments: Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy #ICN09\_016.

Tipo de presentación: Panel

**Individual knockdown of HIV-1 latency-promoting genes by CRISPR-Cas9 enables provirus reactivation in microglial cell model.**

**El apagamiento individual de genes que promueven la latencia de VIH-1 mediante CRISPR-Cas9 permiten la reactivación del provirus en modelo celular de Microglía.**

**Valeria Olavarría Gutiérrez<sup>1,3</sup>**, Chantal L. Márquez<sup>1,3</sup>, Fernando Valiente<sup>1,2,3</sup>, Ricardo Soto Rifo<sup>1,2,3</sup>

(1) Molecular and Cellular Virology Laboratory, Virology Program, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Universidad de Chile, Santiago, Chile

(2) Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Faculty of Medicine, Universidad de Chile, Santiago, Chile

(3) HIV/AIDS Workgroup (CHAIR), Faculty of Medicine, Universidad de Chile, Santiago, Chile

El VIH-1/SIDA, una pandemia global que ha cobrado la vida de millones de personas, sigue siendo uno de los desafíos más apremiantes en la salud pública. Aunque la terapia con antirretrovirales (TAR) ha mejorado la esperanza de vida de los pacientes al inhibir la replicación viral y la progresión de la infección, sin embargo aún no existe una cura definitiva. Uno de los principales obstáculos en la lucha contra el VIH-1 es la presencia de la infección latente.

Las células infectadas de forma latente albergan el ADN proviral de VIH-1 integrado en su genoma, permaneciendo inactivas y evitando la detección por el sistema inmunológico del hospedero. Estas células actúan como reservorios virales, manteniendo la infección a lo largo de la vida del individuo. En determinadas condiciones, la replicación viral de los reservorios se reactiva, generando partículas virales capaces de infectar nuevas células.

A pesar de los avances en la investigación, aún no comprendemos completamente los mecanismos que controlan la latencia de VIH-1 en los diversos tipos celulares, como las microglías, que forman parte importante del reservorio latente. En nuestro laboratorio, hemos dado un paso significativo hacia la comprensión de este enigma.

Utilizando la innovadora técnica de CRISPR-Cas9, llevamos a cabo un estudio exhaustivo para identificar nuevos factores en las células hospederas involucrados en la latencia de VIH-1 en microglías. Para ello, empleamos una librería de 71,000 ARN guías, dirigidas a 18,053 genes, con el objetivo de descubrir los genes que, cuando se silenciaban, permitían la reactivación de la replicación viral. Los resultados de este *screening* revelaron cientos de genes candidatos que podrían regular la latencia de VIH-1 en este contexto.

Entre los candidatos, seleccionamos cinco de los genes que destacaron por su recurrencia y que previamente no se habían asociado con la latencia de VIH-1: MNT, SLC16A7, NDUFS2, FITM1 y MSR1. Estos genes fueron sometidos a validaciones individuales utilizando técnicas como inmunofluorescencia, citometría de flujo y *western blot*. Nuestros hallazgos ofrecen una nueva perspectiva sobre los posibles mecanismos involucrados en la infección latente en microglías y tienen el potencial de respaldar el desarrollo de estrategias terapéuticas innovadoras para combatir el VIH.

Keywords: HIV-1 latency, Microglia, CRISPR-Cas9

Acknowledgments: Fondecyt 3200556 (CL-M), 1211547 (FV-E), 1190156 (RSR). Anillo inflammation in HIV/AIDS ATE220016 (InflammaIDS) (FV-E, RSR). ANID-ICM ICN2021 045 (FV-E, RSR). ICGEB Early Career Grant CRP/CHL20-05\_EC (CL-M).

Tipo de presentación: Panel

### **Isopeptide bonds as an adaptive tool for streptococci present in the oral microbiota**

#### **Enlaces isopeptídicos como herramienta adaptativa de estreptococos presentes en la microbiota oral**

**Ivana Orellana Beltrán**<sup>1</sup>, J. Andres Rivas Pardo<sup>1</sup>

(1) Universidad Mayor, Laboratorio de biología mecánica, Centro de Genómica microbiana, camino la pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile

*Streptococcus mutans* is a Gram positive bacteria, well known as a keystone pathogen in dental cavities disease. During the first step of the infection, *S. mutans* establish a strong binding with the tooth's surface, allowing the formation of a complex multispecies biofilm. Current treatments for attending teeth infection are normally not enough, biofilm or dental plaque are usually refractory to the use of antibiotics leading to the removal of part of the tissue or the entire tooth.

The extraordinary ability of *S. mutans* to adhere to the host's surface is due to the presence of protein filaments projected from the cell wall, also known as fimbriae or pili. On the most popular pili filament used by *S. mutans* during the colonization of the tooth is AgI/II, which contains within its structure internal isopeptide bonds-covalent bond between the side chain of Arg and Lys residue-. These bonds are proposed to delimit the maximum extension of the pili filament.

Here, we used a combination of phylogenomic/phylogenetic analysis with structural protein characterization based on force spectroscopy, aiming to understand the evolutive pathway of the isopeptide bond implementation. Our results suggest that Streptococcus have early developed modifications in their adhesion mechanisms, in particular in pili-like proteins such as AgI/II, introducing the key residues for the formation of isopeptide bond. *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis*, and *Streptococcus sanguinus*, are only a few examples of modern streptococcal oral pathogens which also include the isopeptide bond. Moreover, preliminary force spectroscopy experiments allowed us to determine that the elasticity of AgI/II is highly limited but the introduction of the isopeptide bond, reaching extraordinary mechanical forces above the 500 pN.

Together, our findings could be useful for the design of future therapies based on interfering with the mechanical adhesion of streptococcal bacteria, aiming to prevent the formation of the intramolecular isopeptide bond.

Keywords: Pili, isopeptide

Acknowledgments: Agradecimientos al Doctorado en genómica integrativa de la Universidad Mayor, al grupo de biología mecánica, a la beca ANID y FONDECYT 1221064

Tipo de presentación: Panel

**The coculture of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* promotes the loss of intercellular junctions, therefore contributing to the development of a mesenchymal phenotype in a non-cancerous epithelial cell line.**

**El cocultivo entre *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* promueve la pérdida de uniones intercelulares, contribuyendo al desarrollo de un fenotipo mesenquimal en una línea celular epitelial no cancerígena.**

**Gabriela Osses Serrano**<sup>1,2,3</sup>, Martin Pacheco<sup>1,2,3</sup>, Lucas Benjamin Yanez Guzman<sup>1,2</sup>, Javiera Mysan Tapia Pino<sup>1,2,3</sup>, Christopher Soto<sup>1,2</sup>, Jessica Díaz<sup>1,2</sup>, Denisse Bravo<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Interacciones Microbianas, Facultad de Odontología, Echaurren 277, Santiago, Chile

(2) ACCDiS, Olivos 943, Santiago, Chile

(3) Universidad de Chile, Microbiología Oral, Facultad de Odontología, Olivos 943, Santiago, Chile

La periodontitis se caracteriza por una inflamación crónica que afecta a los tejidos de soporte dental, y se produce en respuesta a una condición disbiótica que afecta a la comunidad microbiana subgingival, provocando un desbalance en el estado inmunoinflamatorio del hospedero. A su vez, la periodontitis es considerada un factor de riesgo para el desarrollo de una serie de enfermedades sistémicas, como los cánceres orodigestivos.

Existe una amplia evidencia que demuestra que especies como *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) y *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*), dos patógenos periodontales muy abundantes y prevalentes en la periodontitis, activan directa e indirectamente las vías de transducción que conducen al desarrollo de la transformación celular, como la transición epitelio-mesénquima (TEM), un proceso crucial en la tumorigénesis. Sin embargo, aún se desconoce el efecto que tiene el cocultivo en la expresión de moléculas de adhesión que son consideradas *hallmarks* de la TEM, como E-cadherina y N-cadherina.

El objetivo de esta investigación consistió en evaluar si la infección con el cocultivo de *P. gingivalis* y *F. nucleatum*, promueve la pérdida de uniones intercelulares que caracterizan el desarrollo de la TEM en células epiteliales gingivales (GECs).

Para visualizar esto, se preparó un cocultivo líquido incubado por 24 horas de *P. gingivalis* W50 y *F. nucleatum* ATCC 10953, se realizó la infección en GECs a una MOI=100, y 24 horas post infección se llevó a cabo la fijación celular con paraformaldehído. La expresión de N-cadherina y E-cadherina fue evaluada mediante inmunofluorescencia.

Nuestros resultados han revelado que la infección con el cocultivo mostró aumento en la expresión de N-cadherina, mientras que, la inmunofluorescencia mostró pérdida de E-cadherina en uniones intercelulares.

En conclusión, la infección con el cocultivo aumentó la expresión de N-cadherina y redujo la expresión de E-cadherina, lo cual es característico del desarrollo de la TEM en células epiteliales, ya que la participación de ambas proteínas en uniones intercelulares es fundamental para mantener el fenotipo epitelial. Esto permitiría comprender, en parte, la contribución que tiene el cocultivo en la transformación de células cancerosas en fenotipos invasivos más agresivos y la progresión del cáncer a un estado metastásico.

Keywords: Periodontitis, coculture, epithelial-mesenchymal transition, E-cadherin, N-cadherin

Financing: FONDECYT regular 1200877//ACCDiS 15130011

Acknowledgments: Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Interacciones Microbianas, Facultad de Odontología ACCDiS Universidad de Chile, Microbiología Oral, Facultad de Odontología

Tipo de presentación: Panel

**Coculture of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* promotes the expression of biomarkers related to epithelial-mesenchymal transition (EMT) in a non-cancer epithelial cell line.**

**El cocultivo de *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*, promueve la expresión de biomarcadores relacionados con la transición epitelio mesénquima (TEM) en una línea celular epitelial no cancerígena.**

**Martin Pacheco**<sup>1,2,3</sup>, Gabriela Osses Serrano<sup>1,2,3</sup>, Lucas Benjamin Yanez Guzman<sup>1,2</sup>, Javiera Mysan Tapia Pino<sup>1,2,3</sup>, Hector Tapia García<sup>1,2,3</sup>, Christopher Soto<sup>1,2</sup>, Jessica Díaz<sup>1,2</sup>, Denisse Bravo<sup>1,2,3</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Interacciones Microbianas, Odontología, Echaurren 277, Santiago, Chile

(2) ACCDiS, Santiago, Chile

(3) Universidad de Chile, Laboratorio Microbiología Oral, Odontología, Olivos 943, Santiago, Chile

La periodontitis es la inflamación crónica (IC) del tejido de soporte dental, producida en parte, por una respuesta aberrante del sistema inmune frente a un microbioma oral disbiótico, que crece y se sustenta en una biopelícula dentro del surco subgingival. Esta IC genera el microambiente óptimo para promover procesos de transformación celular como la transición epitelio mesénquima (TEM), importante en metástasis y la progresión de malignidades como el cáncer oral.

*Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*, son patobiontes periodontales estrechamente relacionados con periodontitis, disbiosis, IC y cáncer oral. Nuestro equipo de investigación comprobó anteriormente cómo el cocultivo de estas bacterias provoca un aumento sinérgico en la expresión de importantes biomarcadores y vías de señalización relacionados con inflamación crónica, así como aumentos en la migración de células epiteliales. Sin embargo, aún se desconoce el impacto del cocultivo a nivel molecular en procesos de transformación celular profundos como la TEM.

El objetivo de la investigación fue evaluar si la infección con el cocultivo de *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* promueve un aumento en la expresión de biomarcadores de TEM en células epiteliales gingivales no cancerígenas (GECs).

Para visualizar esto, se preparó un cocultivo líquido incubado por 24 horas entre *Porphyromonas gingivalis* W50 y *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953, se llevó a cabo la infección en GECs a una MOI=100, y 24 horas *post* infección se extrajo mRNA, proteínas y se realizó la fijación celular. La expresión de biomarcadores de TEM (Vimentina, ZEB1, SNAIL, E-Cadherina,  $\beta$ -Catenina) fue evaluada mediante qRT-PCR, *Western blot* e inmunofluorescencia.

Nuestros resultados revelan que la infección con el cocultivo disminuye los niveles proteicos de E-cadherina y aumenta la expresión de Vimentina y ZEB1. Por otro lado, la inmunofluorescencia demostró la pérdida de  $\beta$ -Catenina en uniones intercelulares.

En conclusión, la infección con el cocultivo aumenta la expresión de biomarcadores ampliamente relacionados con TEM y promueve la pérdida de uniones intercelulares en cultivo de células epiteliales. Lo anterior explica, en parte, el aumento en la migración celular producto de la infección con el cocultivo, entregándonos una visión más profunda a nivel molecular sobre los efectos del cocultivo en procesos relacionados con la transformación celular.

Keywords: Periodontitis, Coculture, Epithelial-mesenchymal transition, Vimentin, ZEB1

Financing: FONDECYT regular 1200877//ACCDiS 15130011

Acknowledgments: Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Interacciones Microbianas, Facultad de Odontología. Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS) Universidad de Chile, Laboratorio de Microbiología Oral, Facultad de Odontología.

Tipo de presentación: Panel

**Comparison of persistent phenotype in Adherent-Invasive *E. coli* (AIEC) associate to Crohn's disease in response to antibiotic treatment**

**Comparación del fenotipo persistente en *E. coli* Adherente-Invasiva (AIEC) asociada a la enfermedad de Crohn, en respuesta al tratamiento con antibiótico**

**Valeria Pérez Villalobos<sup>1</sup>**, Paula Bustamante Ara<sup>1</sup>

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

Una estrategia que los patógenos bacterianos poseen para evadir la respuesta inmune del hospedero y su eliminación mediante el tratamiento con antibióticos, es la formación de células persistentes. Estas corresponden a una subpoblación bacteriana, con un fenotipo transitorio, que sobreviven a tratamientos con antibióticos, sin proliferar ni mediar cambios genéticos.

La enfermedad de Crohn es una afección inflamatoria multifactorial, con alteración de la microbiota intestinal y la presencia de *Escherichia coli* Adherente-Invasiva (AIEC). AIEC, a diferencia de otros patotipos de *E. coli*, se caracteriza por adherirse e invadir las células epiteliales, sobrevivir y replicarse en los macrófagos. Se ha demostrado, que al interior del macrófago, AIEC forma células persistentes.

El objetivo de este trabajo es comparar el fenotipo persistente de AIEC mediante curvas de letalidad, generadas en respuesta al tratamiento con ciprofloxacino (20X - 80X MIC). Se comparó cepas de referencia AIEC: LF82, NRG857c y NRG857c(Cu) (cepa curada de su plásmido multirresistente) y otros patotipos de *E. coli*.

Nuestros resultados mostraron que hay diferencias en la formación de células persistentes entre AIEC y otros patotipos. La cepa NRG857c presentó una curva de letalidad bifásica, demostrando un fenotipo hiperpersistente y formando alrededor de 100 veces más células persistentes que su contraparte AIEC LF82. Retirado el antibiótico, las bacterias vuelven a comportarse como la cepa original, manteniendo sus valores de MIC y su comportamiento bifásico en las curvas de letalidad, validando el fenotipo persistente. La cepa NRG857c(Cu) también presenta un fenotipo hiperpersistente, por lo cual el plásmido multirresistente no contribuye a este fenotipo. Los otros patotipos de *E. coli*, se comportan igual que la cepa LF82, generando bajos niveles de células persistentes.

En conclusión, el fenotipo persistente es variable dentro de las AIEC, lo que refuerza la variabilidad fenotípica y genómica que hay dentro de este grupo. La hiperpersistencia presentada por la cepa NRG857c y posiblemente otras AIEC, es preocupante y podría ser un factor que contribuya a la cronicidad de la enfermedad y afecte la eficacia del tratamiento con antibióticos.

Keywords: AIEC, Células persistentes, Antibióticos, *Escherichia coli*, Curvas de letalidad

Financing: Proyecto Fondecyt 11230634Proyecto PAI 77190004

Tipo de presentación: Panel

**Respiratory infection by the fungus *Pneumocystis* induces oxidative stress and fibrosis in the airways of animals with chronic obstructive pulmonary disease (COPD).**

**La infección respiratoria con el hongo *Pneumocystis* induce estrés oxidativo y fibrosis en vías aéreas de animales con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).**

Krishna Coronado<sup>1</sup>, Carla Herrada<sup>1</sup>, Viersoska Lorca<sup>1</sup>, Valentina Hueichapán<sup>1</sup>, Camila Contreras<sup>1</sup>, **Diego A. Rojas<sup>1</sup>**  
(1) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Ciencias de la Salud, El Llano Subercaseaux 2801, Santiago, Chile

La enfermedad crónica obstructiva pulmonar (EPOC) genera cuadros graves, principalmente en población adulta mayor fumadora. Una de las características más frecuentes en estos pacientes es la inflamación crónica lo que lleva a problemas obstructivos en las vías aéreas y al aumento de moco. Una de las principales vías inducidas en EPOC son las asociadas a estrés oxidativa, generando inflamación y fibrosis. Se ha observado que en pacientes con cuadros clínicos graves, la prevalencia del hongo *Pneumocystis* es más alta; además, en modelos animales de EPOC se ha observado que la inflamación está aún más aumentada 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 las vías asociadas a estrés oxidativo y fibrosis. Los estudios se realizaron en un modelo animal de EPOC, en donde ratas inmunocompetentes desarrollaron la enfermedad luego de ser instiladas con elastasa (ELT). 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 genes inducidos por estrés oxidativo: *Hmox1*, Catalasa y SOD. Finalmente, se logró determinar un aumento de los niveles de acumulación de colágeno alrededor de las vías aéreas de los animales infectados y enfermos, complementado con el aumento del nivel de mRNA de *Tgfb1*. Estos resultados muestran que la presencia de *Pneumocystis* en la vía aérea puede generar una inducción de vías de respuesta a estrés oxidativo asociándose con un aumento de la inflamación y del aumento de los depósitos de colágeno, lo que significaría un potencial aumento de la gravedad de la enfermedad.

Keywords: Inflammation, *Pneumocystis*, Oxidative Stress, Fibrosis  
Financing: Proyecto FONDECYT de Iniciación 11191121.



Tipo de presentación: Panel

**Impact of High Osmolarity on the Internalization Pathway of OMVs from *Salmonella enterica* serovar Typhi in Cultured Epithelial Cells**

**Diego Rojas Jacob<sup>1</sup>**, Jan Nevermann Schell<sup>1</sup>, Francisco Parra Lathrop<sup>1</sup>, Diana Majluf Osorio<sup>1</sup>, Juan A Fuentes<sup>1</sup>

(1) Universidad Nacional Andrés Bello, Laboratorio de Genética y Patogénesis Bacteriana, Facultad de Ciencias de la Vidas, República 330, Santiago, Chile

Outer membrane vesicles (OMVs) are nano-sized proteoliposomes ranging from 50 - 500 nm. These OMVs are released from the outer membrane of Gram-negative bacteria without causing bacterial lysis or bacterial death. OMVs serve as carriers for various factors, possessing the capability to internalize within the host cell. This export pathway offers advantages over other secretion mechanisms, such as cargo protection and long-distance delivery. The internalization of OMVs in epithelial cells is mediated through various entry routes, including clathrin-dependent endocytosis, caveolin-dependent endocytosis, lipid rafts, and macropinocytosis. Both cargo protein content and OMV size play pivotal roles in determining the internalization route in eukaryotic cells.

*Salmonella* Typhi (*S. Typhi*), a Gram-negative bacterium responsible for causing typhoid fever in humans. This pathogen across different microenvironments during infection. Within the intestinal tract, various environmental factors come into play, with high osmolarity being the most relevant factor for this study. Our laboratory studies have demonstrated that under intestinal conditions (presence of mainly Bile), *S. Typhi* OMVs exhibit a distinct protein profile compared to standard laboratory conditions. Therefore, we hypothesize that high osmolarity alters protein profiles and size of *S. Typhi*'s OMVs, consequently impacting their internalization pathway in cultured epithelial cells. Being the novelty of this work is the effect of high osmolarity on the internalization pathway of *S. Typhi* OMVs in cultured epithelial cells.

To assess changes in the protein profile and size of OMVs, SDS-PAGE and transmission electron microscopy (TEM) were conducted under conditions of high and low osmolarity, respectively. Finding differences in the production of different porins and flagellin in OMV obtained in both conditions. In terms of size, it was observed that OMVs purified under high osmolarity conditions are significantly larger compared to OMVs obtained under low osmolarity conditions. To determine the internalization pathway, inhibitors of internalization routes were employed, and OMV internalization was quantified using flow cytometry. The protein profile and size of *S. Typhi* OMVs were found to be influenced by the culture conditions. Additionally, high osmolarity had a significant impact on the internalization pathway of OMVs in epithelial cells.

Keywords: High Osmolarity, Outer Membrane Vesicles, *Salmonella* Typhi, Internalization Pathway

Financing: FONDECYT 1220584

Acknowledgments: FONDECYT 1220584

Tipo de presentación: Panel

### **Exploring HIV-1 Pathogenesis: Differential Gene Expression induced by replication in CD4+ T-lymphocytes and Microglial Cells**

**Cecilia Rojas-Fuentes**<sup>1,2</sup>, Catarina Ananías-Sáez<sup>1,2</sup>, María Díaz-Camus<sup>1</sup>, Fany Garrido-Meléndez<sup>1</sup>, César Navarrete-Mesias<sup>1,2</sup>, Fernando Valiente<sup>1,2</sup>, Ricardo Soto Rifo<sup>1,2</sup>

(1) Laboratory of Molecular and Cellular Virology, Virology Program, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Universidad de Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile

(2) Millennium Institute of Immunology and Immunotherapy, Santiago, Chile.

The HIV-1 pandemic has globally impacted millions since its identification in the 1980s. The virus primarily targets CD4+ T-cells, critical for immune function, leading to their depletion and consequent immunosuppression. Additionally, the virus can infect myeloid cells including tissue resident macrophages and microglia, which are specialized immune cells in the central nervous system. Interestingly, while HIV-1 infection primarily induces death of CD4+ T cells, macrophages and microglia exhibit resistance to the cytopathic effects of the infection. This resilience allows macrophages and microglia to act as viral reservoirs, fostering chronic infection and persistence. Moreover, these cell types play pivotal roles in persistent immune activation and chronic inflammation, which is a hallmark of people living with HIV. Chronic inflammation, especially in the brain, can lead to tissue damage and the development of non-AIDS comorbidities such as HIV-Associated Neurocognitive Disorders (HAND). The discrepancies in the viral replication cycles observed in T-lymphocytes and myeloid cells like microglia further underscore the complexity of HIV-1 pathogenesis. A deeper understanding of these differential replication mechanisms across cell types is vital for advancing therapeutic interventions and elucidating disease progression.

In the present study, we undertook a comprehensive analysis of RNA-Seq datasets sourced from CD4+ T cells and microglia infected with HIV-1, with the objective of identifying differentially expressed genes (DEGs) that define the replication cycle in lymphoid and myeloid cells. We identified 234 and 288 upregulated, 69 and 267 downregulated genes in T-cells and microglia, respectively. Our study uncovered distinct gene expression patterns in response to viral infection. Only two genes, HBEGF and SPANXA2-OT1, were upregulated, while GRIK2 and AEBP1 were downregulated in both cell types. This divergence underscores unique cellular responses to the infection. To explore these changes, we conducted qPCR focusing on the Heparin-Binding EGF-Like Growth Factor (HBEGF). Our findings, confirming HBEGF expression changes, provide preliminary insights into its potential role in HIV-1 infection. Ongoing research aims to further elucidate its significance, contributing to our comprehension of diverse cellular responses and emphasizing the potential importance of HBEGF in our investigations.

Keywords: HIV-1 pandemic, CD4+ T-cells, Myeloid cells, Inflammation, Differential gene expression

Financing: This work was supported by ANID through the FONDECYT Program N° 1190156 (to RSR) and N° 1211547 (to FVE), ANID-ICM grant N° ICN2021\_045 (to RSR) and ANILLO ATE220016

Tipo de presentación: Panel

**The effector protein SopF and its ADP-ribosyl transferase activity contribute to intracellular survival of *Salmonella* Typhimurium in *Dictyostelium discoideum***

**La proteína efectora SopF y su actividad ADP-ribosil transferasa contribuyen a la supervivencia intracelular de *Salmonella* Typhimurium en *Dictyostelium discoideum***

**Carolina Rubilar<sup>1</sup>**, Gabriel Vera<sup>1</sup>, Andrea Avilés Thom<sup>1</sup>, Sergio Álvarez<sup>1</sup>, Carlos Santiviago<sup>1</sup>

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

*Salmonella* utiliza dos sistemas de secreción de tipo III (T3SS) para introducir proteínas efectoras dentro de la célula eucarionte, con el fin de manipular procesos celulares del hospedero. Una vez dentro de la célula, la bacteria permanece en la "vacuola contenedora de *Salmonella*" (SCV), donde sobrevive y se replica activamente durante la infección. Nuestro laboratorio reportó que *S. Typhimurium* requiere de los T3SS y de sus efectores para sobrevivir dentro de una SCV en la ameba *Dictyostelium discoideum*. Por su parte, recientemente se determinó que el efector SopF de *S. Typhimurium* posee actividad ADP-ribosil transferasa sobre una subunidad de la H<sup>+</sup> ATPasa vacuolar (*v*-ATPasa) y está involucrado en la supervivencia de la bacteria en células de mamífero mediante el bloqueo de la vía de activación de la xenofagia. De esta forma, nos propusimos determinar si el efector SopF y su actividad ADP-ribosil transferasa contribuyen a la supervivencia intracelular de *S. Typhimurium* en *D. discoideum*. Para esto, se generó una mutante  $\Delta$ *sopF* derivada de la cepa virulenta *S. Typhimurium* 14028s. Paralelamente, el gen *sopF* silvestre y un alelo mutante que codifica una proteína sin actividad catalítica (*sopF*<sub>E325A</sub>) se clonaron en el vector pBAD-TOPO. Posteriormente, la mutante  $\Delta$ *sopF* se transformó con los plasmidios recombinantes y se evaluó su supervivencia intracelular en *D. discoideum* mediante ensayos de infección. Nuestros resultados muestran que la mutante  $\Delta$ *sopF* presenta defectos de supervivencia intracelular en la ameba. La presencia del vector pBAD::*sopF* fue capaz de complementar el fenotipo de la mutante  $\Delta$ *sopF*, a diferencia de lo observado en el caso del plasmidio pBAD::*sopF*<sub>E325A</sub>. Estos resultados sugieren que SopF y su actividad catalítica son requeridos para la supervivencia de *S. Typhimurium* en *D. discoideum*, posiblemente mediante la inhibición de la vía xenofágica en la ameba. Finalmente, para continuar nuestra caracterización se clonó el ORF del gen *sopF* silvestre en el plasmidio pDM334, lo que permitió generar una fusión N-terminal del reportero GFP al efector. La expresión recombinante de esta fusión en *D. discoideum* permitirá monitorear la distribución subcelular del efector en la ameba mediante microscopia confocal.

Keywords: *Salmonella*, *Dictyostelium*, SopF, ADP-ribosil transferasa, supervivencia intracelular

Financing: Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1171844 y 1212075.

Tipo de presentación: Panel

**Bioinformatic analysis to characterize the structure and diversity of the locus *pap*, coding for P-fimbria, in genomes of *Escherichia coli* strains**

**Análisis bioinformático para caracterizar la estructura y diversidad del locus *pap*, codificante de la fimbria-P, en genomas de cepas de *Escherichia coli***

**Patricio Suazo-Soto**<sup>1</sup>, Valentina Fernandez<sup>1</sup>, Claudia Hormazabal<sup>1,2</sup>, Felipe Del Canto<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomedicas, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

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

Las fimbrias P son determinantes de adherencia de *Escherichia coli* patógenas extraintestinales, al promover la adherencia bacteriana. Estas estructuras son codificadas por el locus *papAHCDJKEFG* y son antigénicamente diversas, presentándose 12 variantes serológicas de la subunidad estructural principal PapA, denominadas F7-1, F7-2, F8 al F16 y F48. Conocer la distribución del locus *papAHCDJKEFG* y las variantes de PapA, en asociación con los genotipos de las cepas que las producen, puede ser valioso en el contexto epidemiológico y de investigación básica, en vista al desarrollo de estrategias preventivas y terapéuticas.

En este trabajo, se analizaron 2559 genomas completos de cepas de *E.coli*, disponibles en la base de datos Assembly Refseq de NCBI, para determinar la presencia del locus *papAHCDJKEFG*, las variantes de *papA* y el número de copias del locus por cada genoma. Se realizó screening de las 12 variantes de *papA* con LS-BSR (large scale - Blast score ratio). Luego, utilizando Nblast, se determinó el número de copias de *papA* y, mediante la anotación de cada genoma, se determinó si formaban parte de loci completos (*papAHCDJKEFG*). En paralelo, se determinó el genotipo (secuenciotipo) de cada cepa, utilizando la herramienta *mlst*. Los resultados indicaron que 141 genomas fueron positivos para el locus *papAHCDJKEFG*, con un índice BSR >0.9. La gran mayoría de ellos (132 genomas) presentaron solo una variante de *papA* y representaron a diversos genotipos, con predominio de cepas ST95 (35 genomas), ST127 (15 genomas), ST73 (16 genomas) y ST69 (12 genomas). Ocho genomas presentaron simultáneamente dos variantes de *papA*, en el contexto de un locus fimbrial completo. Los secuenciotipos de dichas cepas fueron ST12 (2 cepa), ST73 (2 cepas) y ST127 (4 cepas). Solo un genoma analizado presentó tres copias íntegras del locus, con variantes de *papA* F13, F14 y F16. En este caso, no se identificó ninguno de los secuenciotipos conocidos hasta la fecha. En conclusión, este trabajo muestra que la gran mayoría de los genomas de *E. coli* que portan el locus *papAHCDJKEFG* presentan sólo una copia de este, pero que algunas cepas pueden portar simultáneamente dos y hasta tres loci completos, con diferentes variantes de *papA*.

Keywords: *mlst*, *papA*, locus fimbrial, *Escherichia coli*, variantes *papA*

Financing: FONDECYT Regular 1200979

Tipo de presentación: Panel

**Co-culture of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* increases NF-κB phosphorylation and decreases STAT-3 phosphorylation in gingival epithelial cells.**

**El cocultivo de *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* aumenta la fosforilación de NF-κB y disminuye la fosforilación de STAT-3 en células epiteliales gingivales.**

**Javiera Mysan Tapia Pino**<sup>1,2,3</sup>, Lucas Benjamin Yanez Guzman<sup>1,2</sup>, Gabriela Osses Serrano<sup>1,2,3</sup>, Martin Pacheco<sup>1,2,3</sup>, Jessica Díaz<sup>1,2</sup>, Denisse Bravo<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Interacciones Microbianas, Facultad de Odontología, Echaurren 277, Santiago, Chile

(2) ACCDiS, Olivos 943, Santiago, Chile

(3) Universidad de Chile, Microbiología Oral, Facultad de Odontología, Olivos 943, Santiago, Chile

La periodontitis es una enfermedad que se caracteriza por la acumulación de placa bacteriana en el surco gingival, lo que produce inflamación crónica y conduce a la destrucción del tejido conectivo adherido al diente, reabsorción del hueso alveolar y la pérdida del diente. Esta enfermedad surge como consecuencia de una disbiosis de la microbiota oral, siendo *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) y *Fusobacterium nucleatum* (*Fn*) bacterias claves en el proceso disbiótico. Estudios previos de nuestro grupo establecieron un método de cocultivo en condiciones de anaerobiosis para estas bacterias analizando su impacto sobre el montaje de la respuesta inflamatoria.

En concordancia con lo descrito anteriormente, se estudió *in vitro* el efecto de la infección de un cocultivo de *Pg* y *Fn* sobre células epiteliales gingivales (OKF6/TERT2). Para ello se infectaron células OKF6/TERT2 por 90 min con un cocultivo de 24 h de incubación. Como controles se realizaron infecciones por 90 min con monocultivos de *Pg* y *Fn* y, adicionalmente, células sin infectar. Posteriormente, se evaluó la activación de las vías de señalización asociadas a inflamación de NF-κB y STAT-3 mediante Inmunofluorescencia y Western blot. Como resultado, tras la infección de las células OKF6/TERT2 con el cocultivo, observamos un aumento de la fosforilación de NF-κB y una disminución en la fosforilación de STAT-3 respecto de las condiciones control de infección con el monocultivo de *Pg* y sin infectar. La infección con el monocultivo de *Fn* mostró un aumento en la fosforilación de STAT-3 en comparación con las otras condiciones.

En conclusión, se observó que el cocultivo de *Pg* y *Fn* a 24 h de incubación, modularía de manera diferencial las vías proinflamatorias NF-κB y STAT-3 a los 90 min de infección, ya que cuando la primera se encuentra activa la segunda se encuentra desactivada. Adicionalmente, podemos observar que la interacción entre *Pg* y *Fn* es necesaria para aumentar la fosforilación de NF-κB y la disminución en la fosforilación de STAT-3 estaría mediada por la acción de *Pg* sobre *Fn*. Estos resultados sugieren que es necesaria la interacción de ambas bacterias para la activación de la vía inflamatoria mediada por el factor transcripcional NF-κB.

Keywords: Periodontitis, Dysbiosis, Inflammation, NF-κB, STAT-3

Financing: Fondecyt regular 1200877

Acknowledgments: Universidad de Chile, Microbiología Oral, Facultad de Odontología. Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Interacciones Microbianas, Facultad de Odontología. Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS).

Tipo de presentación: Panel

**Interaction of heparin with the surface domains of the usher proteins FimD y PapC in *Escherichia coli*.**

**Interacción de la heparina con los dominios de superficie de proteínas ujier fimbriales FimD y PapC de *Escherichia coli*.**

**Claudia Tarazona Bermúdez<sup>1</sup>**, Jorge Rubio<sup>1</sup>, Ignacio Muñoz<sup>1</sup>, Andrea Olivos<sup>2</sup>, Claudia González<sup>2</sup>, Mauricio Arenas-Salinas<sup>2</sup>, Felipe Del Canto<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile

(2) Centro de Bioinformática, Simulación y Modelado, Facultad de Ingeniería, Universidad de Talca, Talca, Chile

Las fimbrias chaperona-ujier (CU) son estructuras de superficie importantes en la adherencia bacteriana a tejidos del hospedero. Las fimbrias CU están compuestas por una subunidad estructural principal repetitiva y una o más subunidades accesorias, en menor proporción. Para su ensamblaje, requieren de chaperonas periplásmicas que asisten la exportación de las subunidades estructurales a través del ujier, una porina de membrana externa. Los glicosaminoglicanos, como la heparina, actúan como receptores para muchos microorganismos, incluyendo virus y bacterias. Se ha demostrado, por ejemplo, que la subunidad principal fimbrial FimD2 de *Bordetella pertussis*, une heparina. En el caso de *Escherichia coli*, que produce múltiples fimbrias CU, esta interacción ha sido poco estudiada. No hay datos acerca de un posible rol de las subunidades fimbriales, pero sí se ha reportado que el ujier YcbS une heparina, lo que sugiere un potencial rol de los dominios superficiales de proteínas ujier. En este trabajo, se determinó la unión de heparina a cepas de *E. coli* patogénicas y no patogénicas y se evaluó el efecto de potenciales bloqueadores de dicha interacción: manosa (bloqueo de FimH, subunidad accesoria de fimbria tipo 1) y anticuerpos policlonales anti-FimA (subunidad principal de fimbria tipo 1), anti-FimD (ujier de fimbria tipo 1), anti-EcpA (subunidad principal de fimbria común de *E. coli*), anti-PapA (subunidad principal de fimbria P) y anti-PapC (ujier de fimbria P). Para esto, se realizaron ensayos de unión con heparina (1 µM) marcada con isotiocianato de fluoresceína (FITC) sobre bacterias fijadas, no permeabilizadas. Todas las cepas evaluadas, incluyendo cinco cepas patogénicas y dos no patogénicas, mostraron capacidad de unir heparina. Posteriormente, se seleccionaron la cepa de laboratorio, no patogénica, *E. coli* HB101 y la cepa de *E. coli* uropatogénica (UPEC) CFT073, para evaluar el efecto de los potenciales bloqueadores. Solo en dos casos se evidenciaron efectos significativos, con disminuciones de la unión de heparina a la cepa *E. coli* HB101 al incubarse con el anticuerpo anti-FimD, y de la unión a UPEC CFT073 al incubarse con el anticuerpo anti-PapC. Estos datos soportan un potencial rol de los dominios de superficie de proteínas ujier en la interacción con moléculas del hospedero.

Keywords: *Escherichia coli*, Fimbrias Chaperona-Ujier, Dominios superficiales Ujier, Heparina

Financing: Proyecto FONDECYT Regular 1200979

Acknowledgments: Proyecto FONDECYT 1200979

Tipo de presentación: Panel

### **Comparing Gram-negative and Gram-positive Adhesion Elasticity**

#### **Comparando la Elasticidad de Adhesión en Bacterias Gram-negativas y Gram-positivas**

**Benjamin Ulloa**<sup>1</sup>, Vicente Colarte<sup>1</sup>, Jaime Andrés Rivas Pardo<sup>1</sup>

(1) Universidad Mayor, Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Camino La Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile

Bacteria use multiple mechanism to adhere to the host's surface, including fimbriae proteins, also known as pili. These extracellular hair-like appendages are made of several Immuno-globulin (Ig)-like domains, which can even exceed the 0.5 mm of extension from the cell wall. Nevertheless, the adhesion mechanisms between bacteria are quite different. *Corynebacterium diphtheriae*, a well-known Gram-positive bacillus, use Ig-like domains containing isopeptide bonds, limiting the final extension. On the other hand, Gram-negative bacteria, such as *Salmonella enterica*, use a single polypeptide chain made of 53 Ig-like domains without any internal covalent bond. Thus, we hypothesize how the presence of isopeptide bonds in the Ig-like domains could modify the elasticity of the pilus.

To prove the role of the isopeptide bonds in the pilus mediated adhesion, we assayed the elasticity of SpaD and Siie—adhesive proteins from *Corynebacterium diphtheriae* and *Salmonella enterica*-. Through a combination of protein engineering and single molecule force spectroscopy, we simulate the adhesion to the host's surface and measure the elasticity of pilus of two model proteins, SpaD and Siie. Our results suggest that the lack of internal covalent bonds allows Siie pilus protein to be extended at low force regime, while protein SpaD containing isopeptide bond reaches shorter extensions at higher forces.

Keywords: Isopeptide Bond, Pili, Adhesion Mechanisms, AFM

Acknowledgments: Centro de Genómica y Bioinformática Universidad Mayor

Tipo de presentación: Panel

### **Interaction between ArcA Response Factors and CpxA Sensor in Oxidative Stress and Virulence in Salmonella Typhimurium**

### **Interacción entre los Factores de respuesta ArcA y el Sensor CpxA en el Estrés Oxidativo y Virulencia en Salmonella Typhimurium**

**Francisca Urbina**<sup>1</sup>, Alejandro Hidalgo<sup>2</sup>, Gabriel Krüger<sup>1</sup>, Nicolás Pacheco<sup>1</sup>, Valentina Pavez<sup>1</sup>, Coral Pardo-Esté<sup>1,3</sup>, Juan Castro-Severyn<sup>4</sup>, Claudia Saavedra<sup>1</sup>

(1) Laboratorio de Microbiología Molecular, Universidad Andrés Bello, Facultad Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

(2) Laboratorio de Microbiología, Universidad Andrés Bello, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(3) Laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada, Universidad Católica del Norte, Facultad de Ciencias, Antofagasta, Chile

(4) Laboratorio de Microbiología Aplicada y Extremófilos, Universidad Católica del Norte, Departamento de Ingeniería Química, Antofagasta, Chile

*Salmonella* serovar Typhimurium es un patógeno que provoca gastroenteritis en humanos y una infección sistémica en el ratón, esto la hace un buen modelo de estudio ya que utiliza diferentes mecanismos para sentir y sobrevivir en el ambiente que ofrece el hospedero, como los sistemas de dos componentes (TCS), que consiste de un sensor histidina quinasa y un regulador de respuesta el cual actúa como un factor de transcripción que se une al ADN.

Estudios previos del TCS ArcA/ArcB, en nuestro laboratorio, han demostrado que el sensor ArcA responde al estrés oxidativo y a cambios redox en el ambiente intracelular del neutrófilo y macrófago, permitiendo la replicación intracelular. Sin embargo, se sabe que se puede activar de forma independiente de su sensor canónico ArcB. El TCS CpxA/CpxR responde al estrés en la envoltura bacteriana causado por un mal plegamiento proteico en presencia de especies reactivas de oxígeno (ROS). Estudios previos sugieren la posible interacción entre CpxA y ArcA. Con estos antecedentes, hipotetizamos que, **ArcA es activado en presencia del sensor CpxA en respuesta al estrés oxidativo generado en el macrófago.**

Para demostrar la hipótesis, se realizaron ensayos de infección y sobrevivencia en macrófagos RAW 264.7 tras 1 y 3 hora post infección (hpi), utilizando *S. Typhimurium* WT y mutantes simples en los loci  $\Delta arcA$ ,  $\Delta cpxA$ , Isla de patogenicidad 1 ( $\Delta SPI-1$ ),  $\Delta SPI-2$ ,  $\Delta ssrB$ ,  $\Delta invA$ ,  $\Delta pta$ , y una mutante doble  $\Delta arcA/\Delta cpxA$ . Por otra parte, se realizó el ensayo Phos-tag para visualizar la fosforilación y por lo tanto la interacción entre las proteínas ArcA y CpxA.

En su conjunto los resultados muestran que las mutantes  $\Delta arcA$ ,  $\Delta cpxA$ ,  $\Delta arcA/\Delta cpxA$  y  $\Delta SPI-1$  disminuyen la sobrevivencia en macrófagos en la 3hpi, y nos sugiere que existiría una conversación cruzada entre ArcA y CpxA en respuesta al estrés oxidativo.

Keywords: *Salmonella* Typhimurium, Sistema de dos componentes (TCS), estrés oxidativo, Macrófagos  
Financing: FONDECYT N°1210633ANILLO N°ATE220007



Tipo de presentación: Panel

**Contribution of the Type III Secretion System (T3SS2) to mitochondrial health and cell death in human intestinal cells infected with the pandemic *Vibrio parahaemolyticus***

**Contribución del sistema de secreción de tipo III (T3SS2) en el estrés mitocondrial y muerte celular en células intestinales humanas infectadas con la cepa pandémica de *Vibrio parahaemolyticus***

Nicolás Plaza<sup>1</sup>, Katherine García<sup>1</sup>, Carlos J. Blondel<sup>2</sup>, **Ítalo M. Urrutia<sup>1</sup>**

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

(2) Universidad Andrés Bello, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

*Vibrio parahaemolyticus* es un importante patógeno humano que actualmente es la principal causa de gastroenteritis transmitida por mariscos en el mundo. Particularmente, la cepa pandémica tiene la capacidad de generar citotoxicidad y enterotoxigenidad por medio de su Sistema de Secreción de Tipo 3 (T3SS2). El T3SS2 entrega distintas proteínas efectoras en el citosol de las células infectadas, lo que conduce a una muerte celular masiva, sin embargo, no han sido descritas las perturbaciones generadas por estas proteínas efectoras para generar muerte celular. En este trabajo, evaluamos como el estrés mitocondrial podría contribuir en generar muerte celular inducido por el T3SS2 de *V. parahaemolyticus* en células HT-29. Para esto, se construyeron las cepas mutantes que puede usar solamente el T3SS2 ( $\Delta vscn1$ ), cepas mutantes en algunos genes que codifican para proteínas efectoras del T3SS2 ( $\Delta vscn1\Delta vopA$ ,  $\Delta vscn1\Delta vopC$ ,  $\Delta vscn1\Delta vopG$ ,  $\Delta vscn1\Delta vopL$ ) y la cepa control que no puede usar ninguno de sus T3SSs ( $\Delta vscn1\Delta vscn2$ ). Posteriormente, se llevaron a cabo ensayos de infección usando una multiplicidad de infección de ~10 bacterias/célula hasta 5h de infección a 37°C en 5% de CO<sub>2</sub>. A cada hora de infección, se evaluó la viabilidad celular por exclusión con azul de tripán, cuantificación de ATP celular por bioluminiscencia y apertura del poro de transición mitocondrial por fluorescencia. Nuestros resultados mostraron que la cepa mutante  $\Delta vscn1$  genera una apertura sostenida del poro de transición mitocondrial desde 1 hora de infección. Además, genera una masiva muerte celular desde las 3 horas de infección. Estos resultados no mostraron diferencias con las cepas mutantes para las proteínas efectoras evaluadas. Por su parte, al evaluar los niveles de ATP celular observamos un aumento inicial que finalmente disminuye significativamente su concentración durante la infección. Estos niveles de ATP tuvieron una temporalidad diferencial al comparar las distintas cepas mutantes para las proteínas efectoras. Nuestros resultados sugieren que el T3SS2 de *V. parahaemolyticus* contribuiría en generar muerte celular por medio del estrés mitocondrial en las células intestinales humanas HT-29. Sin embargo, todavía no es clara la contribución de las distintas proteínas efectoras en el estrés mitocondrial y muerte celular.

Keywords: Sistema de Secreción, Vibrio, Muerte celular, Mitocondria

Financing: Financiamiento: Proyectos FONDECYT 11231192, 1190957, 1201805 y 3200874

Tipo de presentación: Panel

### **Role of Microbiota in Modulating the Immune Response to SARS-CoV-2 vaccination in elderly people**

**Ivania Valdes**<sup>1,2</sup>, Carlos Márquez<sup>3</sup>, Cecilia Albalá<sup>3</sup>, Estefania Nova<sup>5</sup>, Felipe Court<sup>1</sup>, Felipe Salech<sup>4</sup>, Erick Riquelme<sup>2</sup>

(1) Universidad Mayor, Facultad de Ciencias, Vicerrectoría de investigación, Center for integrative Biology, Camino La piramide 5750, huechuraba, Santiago, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Enfermedades Respiratorias, Facultad de Medicina, Marcoleta 391, Santiago, Chile

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

(4) Universidad de Chile, Departamento de Neurociencias, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile

(5) Universidad de Concepción, Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Edmundo Larenas 234, Concepción, Chile

Vaccination is one of the most effective strategies to prevent infectious diseases. However, the adult population strongly decreases their capacity to induce protective immunity against infections. Given the close functional link between the microbiota and the immune system, evidence suggests that the gut microbiota influences the immune response, modulating the ability to generate an efficient response to vaccination. Here we demonstrate that there is a high correlation between the composition of the gut microbiota and the ability to generate an efficient immune response to SARS-CoV-2 vaccination in elderly people. Using 16S rRNA sequencing, detection of circulating levels of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies, SARS-CoV-2 Spike-Receptor-Binding-domain (S-RBD) IgG and Human cytokine level using Magnetic Luminex Assay we characterize the host gut microbiota and immune profile. We demonstrate that aged people with a high microbial diversity present a high response to vaccination reflected in higher levels of antiviral antibodies, compared to those with a medium or low immune response. Additionally, bacteria such as *Christensenellaceae* and *Oscillospiraceae* related to a healthy gut were enriched in patients with a high response to vaccination and anti-inflammatory cytokines such as IL5. Furthermore, a decrease in such bacterial members, and the enrichment of *Parabacteroides* associated with the pro-inflammatory cytokine MCP-1, was found in a group of patients with worsening response to vaccination, and increased pro-inflammatory cytokines, including MCP-1, TNF $\alpha$  and IL1 $\alpha$ . Our results identified specific microbial communities differentially represented in aged people with low or high immune response to vaccination, where some of these bacteria considered as contributors to a healthy gut, could be also participating in a positive immune modulation in the context of vaccination in the elderly. This information can be used as a predictive biomarker of the immune response and to design strategies to restore or modify the composition of the gut microbiota to stimulate and increase the response capacity of the immune system and the effectiveness of vaccination. As a novel therapeutic strategy, this would reduce the susceptibility to infections and their complication, and will increase the general health of aged individuals, improving their quality of life.

Keywords: Microbiome, Vaccination, Aging

Financing: FONDECYT 1231629NAM21I0059

Acknowledgments: FONDECYT 1231629NAM21I0059ANID-Subdirección de capital humano/Doctorado Nacional/2023/21231386

Tipo de presentación: Panel

**The coculture of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* promotes cell migration and synergically increases the expression of proinflammatory mediators through TLR4**

**El cocultivo de *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* promueve la migración celular y aumenta sinérgicamente la expresión de mediadores inflamatorios vía TLR4**

**Lucas Benjamin Yanez Guzman**<sup>1,2</sup>, Christopher Soto<sup>1,2</sup>, Martin Pacheco Armijo<sup>1,2,3</sup>, Hector Tapia García<sup>1,2,3</sup>, Javiera Mysan Tapia Pino<sup>1,2,3</sup>, Gabriela Osses Serrano<sup>1,2,3</sup>, Jessica Díaz Elizondo<sup>1,2</sup>, Denisse Bravo<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Interacciones Microbianas, Facultad de Odontología, Echaurren 277, Santiago, Chile

(2) ACCDiS, Olivos 943, Santiago, Chile

(3) Universidad de Chile, Microbiología Oral, Facultad de Odontología, Olivos 943, Santiago, Chile

La periodontitis es una enfermedad polimicrobiana de carácter disbiótico, que produce una respuesta inflamatoria de carácter crónico y cuya prevalencia a nivel mundial es alarmantemente alta. Hoy en día es aceptado que el proceso disbiótico generado en el microbioma subgingival es el impulsor del progreso de la periodontitis. En este contexto, se propone a *P. gingivalis* como uno de los patógenos angulares que inician este proceso y, además, a *F. nucleatum* como un contribuyente del mismo.

En virtud de lo anterior, se generó -por primera vez- un modelo de cocultivo de *P. gingivalis* y *F. nucleatum* y posterior infección de células epiteliales gingivales (OKF6/TERT2). En este contexto, generamos un cocultivo que luego de 24 h de cultivo en anaerobiosis, ambas bacterias se encuentran en una razón similar. Utilizando Microscopía Electrónica de Barrido comprobamos que estos microorganismos interactúan físicamente al ser cocultivados en estas condiciones. Por otro lado, al infectar células OKF6/TERT2 determinamos un incremento en la expresión de TNF- $\alpha$ , y un aumento sinérgico en la expresión de IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8, mediante la técnica de qRT-PCR. Adicionalmente, mediante Western Blot, reportamos un incremento en la producción de NF- $\kappa$ B al estimular con la coinfección. Asimismo, observamos que el cocultivo aumenta la migración de células OKF6/TERT2. Finalmente, se realizó un silenciamiento de TLR4 para evaluar su posible rol en los cambios reportados anteriormente y se determinó que este contribuye a la migración y a la expresión génica de IL-1 $\beta$  e IL-6.

En conclusión, se estandarizó un cocultivo entre *P. gingivalis* y *F. nucleatum* el cual se encuentra a una razón de 1:1,3 respectivamente, tras 24 h de incubación. En estas condiciones, las bacterias son capaces de interactuar físicamente. Adicionalmente, la infección de células OKF6/TERT2 con el cocultivo de *P. gingivalis* y *F. nucleatum* incrementó la expresión génica de TNF- $\alpha$ , así como también de las citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8, de manera sinérgica y dependiente de TLR4. Asimismo, en concordancia con el incremento observado en la expresión de TNF- $\alpha$  e IL-8, el cocultivo de *P. gingivalis* y *F. nucleatum* aumentó la migración de células epiteliales gingivales línea OKF6/TERT2.

Keywords: Disbiosis, Inflamación, Periodontitis, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*

Financing: FONDECYT regular 1200877

Acknowledgments: Universidad de Chile Universidad Andrés Bello Laboratorio de Microbiología Oral Laboratorio de Interacciones Microbianas

Tipo de presentación: Panel

### The effect of AIEC NRG857c infection on the exosomal microRNA (exomiR) content of intestinal epithelial cells

#### Efecto de la infección por AIEC NRG857c en el contenido de microRNAs exosómicos (exomiR) de células epiteliales intestinales

**Alhejandra Álvarez Gallardo**<sup>1</sup>, Carolina Arellano<sup>1</sup>, Leonardo Enríquez<sup>1</sup>, Camila Ibarra<sup>1</sup>, Edio Maldonado<sup>2</sup>, Roberto Vidal<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Programa de Microbiología y Micología-ICBM, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Independencia, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Programa de Biología Celular y Molecular-ICBM, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Independencia, Santiago, Chile

**Introducción:** Hemos estudiado el efecto de la infección de *E. coli* adherente invasiva (AIEC) en la composición de los microRNAs exosómicos liberados desde células epiteliales intestinales invadidas por este patógeno. Se han reportado hallazgos que dan cuenta que AIEC modifica el contenido de exosomas de células epiteliales intestinales infectadas lo que podría estar relacionado con su replicación intracelular, propagación y mecanismo de patogenicidad. Poco se ha descrito de los cargos y las diferencias en composición de los exosomas entre células infectadas y sin infectar por AIEC, por esto nuestro objetivo es caracterizar la composición de los microRNAs en exosomas de células Caco-2 infectadas por la cepa NRG857c (cepa de referencia de pacientes con Crohn). **Materiales y métodos:** Se purificaron exosomas a partir de un medio condicionado obtenido del co-cultivo de células Caco-2 y las cepas de *E. coli* HS y NRG857c, respectivamente. Se utilizó como control el medio condicionado de células Caco-2 sin bacterias. El proceso de infección fue realizado durante 3 horas (MOI=10). Transcurrido este tiempo las condiciones se incubaron con gentamicina (para eliminar bacterias no invasivas), durante 24 horas a 37°C con 5% CO<sub>2</sub>. En los tres ensayos el medio condicionado fue recuperado, clarificado y concentrado por ultrafiltración. Este medio condicionado concentrado fue utilizado para la purificación de exosomas con el kit "MagCapture Exosome Isolation" (Fujifilm). Para la obtención de los microRNAs, estos se purificaron usando el kit "microRNA Extractor" (Fujifilm). Los microRNAs fueron caracterizados por RNAseq (MR. DNA, EEUU). **Conclusiones:** Se ha caracterizado la composición de microRNAs exosómicos de células epiteliales intestinales (Caco-2) infectados por la cepa patógena NRG 857c y la cepa comensal HS. La composición de exomiR es diferente en cada condición y caracterizamos un grupo de microRNAs que está presente sólo en la cepa NRG 857c. Estos microRNAs son: hsa-miR-182-5p, hsa-miR-146a-5p, hsa-miR-371a-5p y hsa-miR-24-3p. Además hallamos que el hsa-miR-10b-5p se encuentra sobreexpresado en la condición infectada con AIEC al comparar con la condición control (sin infección) y la cepa comensal HS. Queda aún por dilucidar el rol de estos exomiR en el proceso infeccioso de AIEC.

Keywords: Escherichia coli, Exosomas, AIEC, exomiR, microRNAs

Financing: Proyecto FONDECYT Regular 1211647.

Acknowledgments: Laboratorio de Enteropatógenos, Programa de Microbiología y Micología-ICBM, Facultad de Medicina, U. de Chile. Dra. Ana Riveros y al Dr. Marcelo Kogan del Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile.

Tipo de presentación: Panel

**Impact of mutations on genetic and evolutionary diversity in the nonstructural protein S-segment (NSs) of the Andes hantavirus genome**

**Impacto de mutaciones sobre la diversidad genética y evolutiva en la proteína no estructural del segmento S (NSs) del genoma de hantavirus Andes**

**Denisse Alegría<sup>1</sup>**, Juan Ugalde<sup>1</sup>, Cecilia Vial<sup>2</sup>, Lisette Olloa Zepeda<sup>2</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Bioinformática y Biología integrativa, Ciencias de la vida, República 330,, santiago, Chile

(2) Universidad del Desarrollo, Centro de Genética y Genómica Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Facultad de Medicina, Av Plaza 680, Santiago, Chile

Andes hantavirus is a single-stranded negative-stranded RNA (-ssRNA) virus and the etiologic agent of hantavirus cardiopulmonary syndrome in Chile and Argentina, with a death rate ranging from 30-40%. The NSs protein is known to play a critical role in viral replication and immune system evasion. However, little is known about the genetic diversity and evolutionary dynamics of this protein. Therefore, this study aimed to determine the location and frequency of mutations in the gene encoding the nonstructural NSs protein of hantavirus Andes, using clinical samples from infected patients, and to investigate evolutionary patterns by phylogenetic analysis. Clinical samples were collected from confirmed cases of Andes hantavirus, viral RNA was extracted and cDNA synthesis was performed. Using specific partitioners, the S-segment of the genome was amplified and the library was constructed for subsequent sequencing by Illumina. The bioinformatics tool "iVar" was used to identify mutations and evaluate their frequency. Phylogenetic analysis was carried out using maximum likelihood and Bayesian inference methods to elucidate evolutionary relationships between sequences. Analysis of clinical samples revealed the presence of several mutations in the Andes hantavirus NSs gene. Mutation frequency varied in different regions of the gene, with certain mutations occurring more frequently than others. Phylogenetic analysis demonstrated the existence of distinct genetic lineages and revealed evolutionary relationships between viral strains. In particular, several branches showed geographic clustering, suggesting local transmission patterns. Our results provide valuable information on the genetic diversity and evolutionary dynamics of Andes hantavirus. The identification of specific mutations in the NSs gene highlights potential targets for future research on viral pathogenesis and vaccine development. Phylogenetic analysis revealed the existence of distinct lineages and provided a better understanding of virus transmission patterns. This study contributes to the knowledge of Andes hantavirus and lays the foundation for future studies on its epidemiology.

Keywords: hantavirus Andes, NSs, mutaciones, genoma viral, síndrome cardiopulmonar

Financing: Proyecto Anillo ATE220061

Tipo de presentación: Panel

### Genetic features of a carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolate co-producing NDM-1 and VIM-80 belonging to the 'High-Risk' clone O4/ST654

#### Características genéticas de un aislado de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a los carbapenemes y coproductor de NDM-1 y VIM-80 perteneciente al clon de "alto riesgo" O4/ST654

Luis Amsteins Romero<sup>1</sup>, Paulina González Muñoz<sup>1</sup>, Nilton Lincopán Huenumán<sup>2,3</sup>, Ignacio Torres Avello<sup>4</sup>, Felipe Aguilera Muñoz<sup>4</sup>, Gerardo González Rocha<sup>1</sup>, Andrés Opazo Capurro<sup>1</sup>

(1) Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos (LIAA), Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

(2) Department of Microbiology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, Brazil.

(3) Department of Clinical Analysis, School of Pharmacy, University of São Paulo, São Paulo, Brazil.

(4) Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

#### Introduction.

The emergence of carbapenem-resistant *P. aeruginosa* (CRPA) strains in healthcare facilities poses a serious problem since carbapenems are the last line of treatment against this microorganism. Worryingly, the number of carbapenemases-producing *P. aeruginosa* isolates has been increasing, which is associated with pandemic 'high-risk' clones. Due to the above, the aim of this work was to characterize the genomic features of a VIM-80 and NDM-1 co-producing CRPA isolate collected from an infection.

#### Materials and methods.

CRPA strain P-469, co-producing VIM-80 and NDM-1, was recovered from a bronchoalveolar lavage from a patient in Temuco, Chile. It was tested for antimicrobial susceptibility by disc diffusion test and colistin-agar test, according to CLSI guidelines. Carbapenemases genes were screened by PCR, and then the isolate was subjected to whole genome sequencing (WGS) by short- and long-reads sequencing to generate a hybrid assembly. Bioinformatic analyses were performed to identify the sequencing type (ST), antibiotic resistance genes (ARGs), virulence factors (VFs), and to characterize the mobile genetic elements associated to ARGs. Conjugation experiments were carried out using *Escherichia coli* K12 as a recipient.

#### Results.

The isolate displayed an extensively-drug resistant (XDR) profile as resulted resistant to fluoroquinolones, carbapenems, cephalosporins, and aminoglycosides, and  $\beta$ -lactams/ $\beta$ -lactamases combinations; whereas remained susceptible to colistin (2  $\mu$ g/mL). *In silico* analyses designated P-469 as part of the O4/ST654 lineage and presented several ARGs, including the carbapenemases genes *bla*<sub>VIM-80</sub> and *bla*<sub>NDM-1</sub>, which were located within two distinct integrative conjugative element (ICE) with a size of 129 kbp and 99 kbp, respectively, out of a total of three embedded in the chromosome of P-469. There also several VFs, but the most remarkable ones were *exo* genes (*exoS*, *exoT* and *exoY*) associated with T3SS. Conjugation experiments that were unsuccessful under the conditions used.

#### Conclusions.

Our findings demonstrated that carbapenemases-genes can be located on ICEs that are integrated in the chromosome, which could help them to be maintained among CRPA 'high risk' isolates, representing a serious threat for public health. Importantly, further experiments are needed in order to determine the ability of the ICEs to be mobilized.

Keywords: Carbapenemase, Integrative conjugative element, High-risk clone, Whole Genome Sequencing, Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*

Tipo de presentación: Panel

**Characterization of the genetic relationships of carbapenem-resistant strains of *K. pneumoniae* isolated in a health precinct**

**Caracterización de las relaciones genéticas de cepas de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenémicos aisladas en un recinto de salud.**

**Gustavo Araya Orellana**<sup>1</sup>, Alhejandra Álvarez<sup>1</sup>, Leonardo Enríquez<sup>1</sup>, Carolina Arellano<sup>2</sup>, Francisco Silva<sup>3</sup>, Roberto Vidal<sup>2</sup>

(1) Universidad de Chile, Estudiante Magíster en Microbiología, Facultad de Medicina

(2) Universidad de Chile, Programa de Microbiología, Facultad de Medicina

(3) Hospital Clínico Universidad de Chile, Unidad de Microbiología

**Introducción:** Las infecciones por *Klebsiella pneumoniae* (*Kp*) resistentes a los carbapenémicos son un importante problema de salud pública. Este estudio se centró en caracterizar y determinar las relaciones genéticas entre aislados de *Kp* resistentes a carbapenémicos en el contexto de un aumento de casos en un recinto de salud. **Materiales y métodos:** Se estudiaron 45 aislados de pacientes hospitalizados en las unidades de paciente crítico del Hospital Clínico de la Universidad de Chile entre los años 2021 y 2022. Estos se obtuvieron tanto de muestras clínicas como de portación en el contexto de vigilancia epidemiológica secundaria a un aumento de casos de *Kp* resistentes a carbapenémicos. Todos fueron identificados a nivel de especie mediante espectrometría de masas con una confianza del 99.9% utilizando VITEK MS (bioMérieux, Francia). Se comprobó su resistencia a carbapenémicos mediante el método automatizado VITEK II (bioMérieux, Francia) y la producción de carbapenemasas mediante test CarbaNP con confirmación con inmunocromatografía (O.K.N.V.I RESIST-5, Coris BioConcept). La tipificación de los aislados se realizó a través de electroforesis de campo pulsado (PFGE). **Resultados:** Un 95.6% de los aislados producían carbapenemasas (37 KPC, 3 VIM, 2 NDM y 1 KPC+VIM). Mediante PFGE se identificaron 9 clones, todos provenientes de una misma unidad. En los aislados con relaciones clonales se detectaron distintas carbapenemasas siendo KPC la más prevalente (80%). Respecto a los pacientes desde donde se obtuvieron los clones estos fueron principalmente de sexo femenino (58.3%), la edad promedio fue de 54 años y el grupo etario más prevalente fue entre 41 y 60 años. Todos los pacientes poseían co-morbilidades y un 50% fue sometido a cirugía antes del aislamiento. Un 91.7% de estos pacientes recibió tratamiento con antibióticos. **Conclusiones:** Este estudio permitió establecer relaciones clonales entre aislados de *Kp*. Al estar estrechamente ligados genéticamente y proceder de una misma unidad, esto determinaría su diseminación a otros pacientes, lo cual probablemente se enmarca en el contexto de un brote.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, Carbapenémicos, Resistencia a antimicrobianos, Clonalidad

Financing: FONDECYT 1211647

Acknowledgments: Laboratorio de Enteropatógenos, Programa de Microbiología y Micología; Facultad de Medicina Universidad de Chile Hospital Clínico Universidad de Chile

Tipo de presentación: Panel

**EnviDiscovery of *Streptococcus pneumoniae* serotypes different from the vaccine types in patients with invasive pneumococcal disease in the Antofagasta Region**

**Descubrimiento de serotipos de *Streptococcus pneumoniae* diferentes a los tipos vacunales en pacientes con enfermedad neumocócica invasiva en la Región de Antofagasta**

**Angelica Bravo**<sup>1,2</sup>, Margarita K. Lay<sup>1</sup>, Camila C. Valdivia<sup>1</sup>, Valeria Garcia<sup>1</sup>, Freddy Roach<sup>2</sup>, Juan Araya<sup>1,2</sup>, Nicole Arrue<sup>2</sup>, Daniza Jaldin<sup>3</sup>, Carolina Jaldin<sup>3</sup>, Antonio Cardenas<sup>3</sup>

(1) Biotechnology Center-CIIBBA, Department of Biotechnology, Faculty of Marine Sciences and Biological Resources, University of Antofagasta, Chile.

(2) Microbiology Area, Clinical Laboratory, Regional Hospital of Antofagasta, Dr. Leonardo Guzman, Chile.

(3) Pediatric Service, Regional Hospital of Antofagasta, Dr. Leonardo Guzman, Chile.

**Background:** *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) is a bacterial pathogen that leads to invasive pneumococcal disease (IPD) with significant morbidity and mortality affecting mainly young children and adults over 65 years old. The current pneumococcal conjugate vaccine, PCV13, formulated with 13 serotypes administrated to children less than 1 year old, and the pneumococcal polysaccharide vaccine, PPV23, formulated with 23 serotypes, for the immunization of older adults, have been shown to alleviate the burden of IPD in Chile and in the world. The most common and virulent serotypes, such as 3, 19A, 7F, 14 and 12F, are included in both vaccine formulations. However, studies have described annual increases in the incidence of IPD due to the appearance of several non-vaccine serotypes. According to the most recent surveillance report of *S. pneumoniae* from the National Public Health Institute of Chile (ISP, Spanish abbreviation), Antofagasta had the highest rate of IPD cases in Chile in 2020. Taking together, we propose the following hypothesis: new serotypes of *S. pneumoniae* are found in patients with IPD in the Region of Antofagasta in the most recent years that differ from those included in the PCV13 and PPV23 vaccines, and there is a positive variation of percentual contribution of these non-vaccine types compared to the current vaccine types.

**Methods:** Data regarding serotyping was collected and analyzed from clinical records of patients with IPD who were attended in the Regional Hospital of Antofagasta in the period 2016-2023.

**Results:** Remarkably, as it was hypothesized, we found new serotypes 23A, 23B, 35B and 6C, which are not included in the current PCV13 and PPV23 vaccine formulations. Additionally, it was shown that these new serotypes have a positive variation of percentual contribution compared to the vaccine types.

**Conclusion:** Four new *S. pneumoniae* serotypes were found in the Antofagasta Region in the period 2016-2023, which are not included in the current pneumococcal vaccines. In addition, the increase in cases of new serotypes that are not included in these vaccine formulations emphasizes the importance of monitoring the *S. pneumoniae* serotypes that cause IPD to develop new vaccines that prevent us from contracting this serious disease.

Keywords: IPD, Serotype, *Streptococcus pneumoniae*, vaccine

Financing: Pfizer Medical Grants ID#76443505



Tipo de presentación: Panel

**Comparison of different techniques for determining *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents from gastric biopsy and plasma samples.**

**Comparación de distintas técnicas para determinación de infección por *Helicobacter pylori* en niños y adolescentes desde muestras de biopsia gástrica y plasma.**

Dinka Ivulic<sup>1</sup>, **Camila Cabrera**<sup>1</sup>, Diego Tapia<sup>1</sup>, Felipe Del Canto<sup>1</sup>, Francisco Alliende<sup>2</sup>, Marcela Toledo<sup>3</sup>, Gabriela Roman<sup>4</sup>, Tomeu Viver<sup>5</sup>, Valeria Galvez<sup>1</sup>, Miguel O’Ryan<sup>1</sup>, Yalda Lucero<sup>1,2,3</sup>

(1) Universidad de Chile, Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile

(2) Clínica Alemana de Santiago, Vitacura 5951, Santiago, Chile

(3) Hospital Roberto del Río, Profesor Zañartu 1085, Santiago, Chile

(4) Hospital Exequiel Gonzalez Cortés, Gran Avenida José Miguel Carrera 3300, Santiago, Chile

(5) Universidad de las Islas Baleares, Departamento de Diversidad Animal y Microbiana, Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados, Islas Baleares, España

*Helicobacter pylori* es una infección crónica altamente prevalente a nivel mundial, que puede adquirirse en la infancia y promover el desarrollo de inflamación y eventualmente cáncer gástrico. Debido a las dificultades para cultivar *H. pylori* de forma rutinaria, ha sido difícil encontrar un estándar de referencia de diagnóstico. Lo más aceptado es utilizar la combinación de  $\geq 2$  ensayos (sin cultivo) que permitan identificar la bacteria directamente en biopsias gástricas. Existe poca literatura respecto al rendimiento de estas técnicas en niños. Objetivo: Comparar la proporción de muestras positivas por distintas técnicas directas, su concordancia y rendimiento de las distintas combinaciones de tests. Comparar con la detección serológica. Métodos: estudio observacional analítico que incluyó pacientes de 8 a 20 años que se realizaron endoscopia por estudio de dolor abdominal. Se determinó presencia de *H. pylori* mediante test de ureasa, histología (tinción Giemsa), amplificación de ureA por PCR en tiempo real, estudio de microbioma de biopsias gástricas e IgG anti *H. pylori*. Resultados: Se analizaron muestras de 118 pacientes de 7-20 años (promedio=13,4). De estos, 29 resultaron positivos por test de ureasa, 41 por histología, 37 por PCR de ureA, 37 por datos de microbioma y 21 positivos por IgG contra *H. pylori*. La combinación histología + PCR UreA fue la que tuvo mejor concordancia de detección. Hubo 2 muestras positivas por histología (con moderada cantidad de bacilos tipo *Helicobacter*) que no amplificaron por PCR UreaA y en estudio microbiota no se identificó *H. pylori*. Conclusión: Si bien no hay total concordancia entre los métodos diagnósticos evaluados, la combinación histología-PCR UreaA es la que logró mayor frecuencia de detección con mejor concordancia. La detección de bacilos por histología en algunos casos podría corresponder a otras especies bacteriana. En este contexto la serología no fue un método adecuado de diagnóstico.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Real time PCR, Histology, ureA gene, Microbiome

Financing: Proyecto Fondecyt 1190456

Tipo de presentación: Panel

### **Robotics and computational thinking in the teaching of Clinical Microbiology**

#### **La robótica y el pensamiento computacional en la enseñanza de la Microbiología Clínica**

**Isabel Cantillana**<sup>1</sup>, Paulina Sepúlveda<sup>2</sup>, Alessandro Roco<sup>2</sup>, Arturo Levican<sup>1</sup>, Jorge Martínez<sup>1</sup>

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

(2) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Matemáticas, Ciencias, Blanco Viel 596, Valparaíso, Chile

El Tecnólogo Médico es un profesional de la salud que realiza exámenes apoyando el diagnóstico en diferentes áreas; entre ellas Bacteriología Clínica. El alumno debe conocer las bacterias e identificarlas en una muestra clínica a través de una serie de pruebas que se realizan e interpretan en una secuencia lógica. Existe un gran desarrollo en la tecnología aplicada al diagnóstico con herramientas basadas en la Inteligencia Artificial analizando muchos datos generados y fomentando el desarrollo del Pensamiento Computacional. Se ha afirmado que la formación de los profesionales de la salud debe responder a los desafíos actuales, ser integradora e interdisciplinaria de manera que los prepare para responder a los desafíos del futuro en vez de dejarlos estancados en pensamientos obsoletos.

El objetivo de este estudio fue aplicar el pensamiento computacional mediante la programación de robots educativos para resolver problemas de Bacteriología Clínica.

Para esto, se plantearon clases de lógica matemática a estudiantes de Tecnología Médica de Bacteriología Clínica, para buscar soluciones a problemas existentes que fueron evaluadas con: Aplicación del pensamiento computacional por medio de la programación de robots educativos, Presentación de los algoritmos ya existentes en el mercado para resolver estos problemas y reflexionar sobre las similitudes y diferencias.

Los estudiantes de Tecnología Médica conocieron los principios de lógica básicos aplicados en el lenguaje computacional. Resolvieron problemas comunes en el diagnóstico microbiológico a través de la programación de un robot educativo. Determinaron el efecto y la percepción de la aplicación del pensamiento computacional en la resolución de casos de Bacteriología Clínica.

Al respecto, se concluye que es posible adaptar metodologías de enseñanza del pensamiento computacional utilizadas en el contexto escolar a un escenario más complejo como es la formación de profesionales de la salud, específicamente en los aprendizajes de Bacteriología Clínica por medio de la programación de robots educativos.

Keywords: Pensamiento Computacional, Bacteriología Clínica, Robótica, Metodología de Enseñanza

Financing: Proyecto UMDU 2023.20INV.TEM.01

Acknowledgments: Estudiantes de tercer año de la asignatura de Bacteriología Clínica. Escuela de Tecnología Médica PUCV, Instituto de Matemáticas PUCV (IMA) y Facultad de Ciencias PUCV. Unidad de Mejoramiento en Docencia Universitaria (UMDU).

Tipo de presentación: Panel

**Identification of *Streptococcus pneumoniae* serotypes by *cpsB* gene-based sequencing directly from pleural fluid**

**Tipificación capsular de *Streptococcus pneumoniae* por secuenciación del gen *cpsB* directamente de líquido pleural**

**Cecilia D´Albora**<sup>1</sup>, Claudia Gutierrez<sup>1</sup>, Analía Rial<sup>2</sup>, Gabriela Algorta<sup>1</sup>, Laura Betancor<sup>1</sup>, María Inés Mota<sup>1</sup>

(1) Universidad de la República, Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Dr. Alfredo Navarro 3051. Instituto de Higiene., Montevideo, Uruguay

(2) Universidad de la República, Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Medicina, Dr. Alfredo Navarro 3051. Instituto de Higiene., Montevideo, Uruguay

**Introducción:** El empiema pleural es una complicación grave que se presenta en 10-15 % de los niños hospitalizados por neumonía aguda comunitaria. *Streptococcus pneumoniae* es el agente etiológico más frecuente. El cultivo logra recuperar el agente en menos del 40% de los casos, impidiendo la serotipificación por método de Quellung (gold standard). Los métodos moleculares aplicados directamente sobre las muestras clínicas prometen ser una herramienta importante para evitar este problema.

**Metodología:** Se incluyeron 99 muestras de líquido pleural de niños con diagnóstico de empiema pleural hospitalizados entre 2015 y 2022 en un hospital pediátrico de referencia de Uruguay en las cuales neumococo fue identificado mediante cultivo y/o técnicas moleculares. La tipificación capsular de *S. pneumoniae* se realizó a partir de ADN total de la muestra mediante PCR y posterior secuenciación del gen *cpsB* (Gonzalez-Siles L. et. al., 2019). El serotipo fue asignado en función del porcentaje de identidad de secuencia contra la base de datos GenBank: mayor a 98% serotipo definido, menor a 98% y mayor a 90% serotipo probable y menor a 90% serotipo indeterminado. Las secuencias obtenidas mediante edición con SeqMan se analizaron filogenéticamente utilizando MEGA 6.0. La validación del método se realizó por análisis comparativo entre los resultados de 17 muestras con cultivo identificadas y serotipificadas mediante técnica de Quellung y los resultados de la secuenciación de *cpsB*.

**Resultados:** Se pudo determinar el serotipo por secuenciación de *cpsB* en 56/99 (57%) muestras, serotipo 3(N=42), 1(N=5), 19A(N=4), 8(N=2), 9N(N=1), 15A/F(N=1), 12F(N=1). En 40 (71%) de los casos el porcentaje de identidad fue mayor al 98%. En el análisis comparativo con la tipificación por Quellung se obtuvo un 100% de concordancia entre ambas técnicas.

**Conclusiones:** La aplicación de técnicas moleculares permitió aumentar significativamente la tipificación capsular de *S. pneumoniae* en muestras clínicas. Conocer los serotipos presentes en este tipo de complicaciones aporta datos para la optimización de medidas de prevención y tratamiento.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, *cpsB*

Financing: Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII). Fondo Clemente Estable 2019.

Tipo de presentación: Panel

**Gut microbiota: A case study on people with autism spectre disorder and without the condition**

**Microbiota intestinal: Un estudio de casos sobre las personas con trastornos del espectro autista y sin la condición**

**Paola González Rodríguez<sup>1</sup>**, Scarlett Merino Contreras<sup>1</sup>, Vayttiare Solar González<sup>1</sup>, Andrea Ortiz Barahona<sup>1</sup>, Ivania Cortes Cortes<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, República #239, Santiago, Chile

La microbiota intestinal es un conjunto de microorganismos que habitan en el tracto gastrointestinal cumpliendo funciones esenciales en el organismo humano que ayudan a mantener la homeostasis del cuerpo. Para que dichas funciones se puedan llevar a cabo debe existir un equilibrio entre estos microbios, la alteración de este equilibrio se conoce como disbiosis en donde hay una proliferación de microorganismos que se encuentran en menor cantidad y/o una disminución de los más prevalentes, todo esto debido a factores internos y/o externos. Este desequilibrio en la microbiota se puede presentar en algunos trastornos de la conducta como los Trastornos del Espectro Autista (TEA), donde el problema en el neurodesarrollo y los síntomas gastrointestinales que padecen estas personas tienen una estrecha relación con la disbiosis intestinal. Este trabajo de investigación se destaca por ser un estudio de caso, y como tal el objetivo principal fué comparar la microbiota intestinal en personas con trastornos del espectro autista y sin la condición. Para su desarrollo se estudiaron muestras de coprocultivo, del grupo con la condición y del grupo control (sin la condición), las cuales fueron cultivadas en medios de cultivo selectivos y diferenciales, luego se realizaron pruebas bioquímicas para su identificación microbiológica y análisis mediante MALDI-ToF MS. Los resultados de este estudio evidenciaron una diferencia entre las microbiotas de ambos grupos con la presencia de *Escherichia coli* y *Enterococcus faecium* en el grupo control (sin la condición de TEA), mientras que las personas con TEA presentaron una mayor diversidad bacteriana con el desarrollo de *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, esto según la literatura sería indicativo de presentar un metabolismo distinto entre ambos grupos.

Keywords: Enterobacterales, Microbiota, Intestinal, TEA

Financing: Universidad Andrés Bello, Escuela de Tecnología Médica.

Acknowledgments: Agradecimientos a la Escuela de Tecnología Médica por apoyar con insumos y el establecimiento y al profesor Francisco Hernández por su ayuda y buena disposición.

Tipo de presentación: Panel

**Egress and isolation of *Helicobacter pylori* from the vacuole of candida albicans after exposure to antifungal agents.**

**Egreso y aislamiento de *Helicobacter pylori* desde la vacuola de candida albicans tras la exposición a antifúngicos.**

**Francisca Greco Nova<sup>1</sup>**, Francisca Gacitúa Fuentes<sup>1</sup>, Apolinaria García Cancino<sup>1</sup>, Cristian Parra Sepúlveda<sup>1</sup>

(1) Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

*H. pylori* es una bacteria patógena que infecta el epitelio gástrico humano, posee una prevalencia aproximada de 50% en la población mundial, desencadenando lesiones gástricas de distinta gravedad, desde gastritis superficial hasta cáncer gástrico. Presenta resistencia a diversos antibióticos, siendo clave para la eficacia de su tratamiento la claritromicina, debido a esto, la OMS la incluyó en la categoría de prioridad 2 (elevada), en la lista de bacterias que necesitan urgentemente nuevos antibióticos. Es una bacteria de cultivo complejo, que se aísla desde el humano, la cual no se ha logrado recuperar o cultivar desde el medio ambiente. Las vías de transmisión no están del todo claras, lo que genera incertidumbre considerando su alta prevalencia. Esto hace pensar que este patógeno puede ocupar otro microorganismo como refugio transitorio para resistir el estrés ambiental. Se ha demostrado que levaduras del género *Candida*, en particular a *Candida albicans*, levadura comensal que comparte varios nichos de colonización en el cuerpo humano junto a *H. pylori*, específicamente la vacuola de *C. albicans* sirve como sitio de refugio y nutrientes para *H. pylori* cuando se encuentre bajo condiciones desfavorables.

En este estudio expusimos cultivos de *C. albicans* con *H. pylori* al interior de su vacuola a distintos antifúngicos como fluconazol, clotrimazol y ketoconazol en concentraciones subletales de 0,5µg/ml y 1µg/ml para inducir el egreso de *H. pylori* debido al estrés generado. Luego se filtró los microorganismos, se cultivó en placas con agar columbia para aislar *H. pylori*. Este fenómeno se analizó mediante microscopía óptica y de epifluorescencia, FISH, PCR, por tinción de Gram y test de ureasa. La exposición a clotrimazol al 1µg/ml fue la mejor concentración para el egreso de *H. pylori* y la exposición a fluconazol al 1µg/ml mantuvo en mayor cantidad la interacción *C. albicans*-*H. pylori*. Con esto se buscó evidenciar el rol que presenta *C. albicans* como vehículo de propagación y recolonización de *H. pylori*, al demostrar el cultivo de *H. pylori* tras su egreso de la vacuola de *C. albicans*. Además, aportar información para contribuir a terapias efectivas en la erradicación de este patógeno de interés mundial.

Keywords: Interacción Bacteria-levadura, Concentración subletal antifúngica, Egreso bacteria intracelular

Tipo de presentación: Panel

## Gut microbiota in subjects diagnosed with high blood pressure from the Valparaíso region

### Estudio de la microbiota intestinal de pacientes con hipertensión arterial de la Región de Valparaíso

**Claudia Ibacache-Quiroga**<sup>1,2</sup>, Karoll González-Pizarro<sup>2</sup>, Juan Ugalde<sup>3</sup>, Alejandro Dinamarca<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Valparaíso, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Farmacia, Gran Bretaña 1093, Valparaíso, Valparaíso

(2) Universidad de Valparaíso, Centro de Micro-Bioinnovación, Facultad de Farmacia, Gran Bretaña 1093, Valparaíso, Valparaíso

(3) Universidad Andrés Bello, Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Facultad de Ciencias de La Vida, República 330, Santiago, Chile

Las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) son uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, generando el 68% del total las muertes. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las ECNT causan 41 millones de muertes al año, y se estima que esta cifra alcanzará los 52 millones en 2030. Entre las ECNT, las cardiovasculares generan 17,9 millones de muertes, entre las cuales la hipertensión y sus complicaciones son responsables de 12,8 millones de muertes en todo el mundo. Debido a esto, estudiar los factores que contribuyen a su desarrollo es de gran importancia, entre los cuales destaca el rol de la microbiota intestinal. En este contexto, este estudio tuvo por objetivo estudiar la diversidad bacteriana en voluntarios adultos sanos e hipertensos de la Región de Valparaíso.

Para esto, se reclutaron 30 voluntarios por grupo y se realizó la extracción de ADN desde deposiciones. A partir de éste se amplificó y secuenció la región V4 del ADNr 16S. Tras la filtración de las secuencias de alta calidad, la asignación de Amplicon Sequence Variants se realizó con el paquete DADA2. La diversidad alfa (índices Chao y Shannon) y beta-diversidad se determinó utilizando los paquetes phyloseq y microbiome. La abundancia relativa diferencial entre los grupos de estudio se determinó con DESeq2.

De acuerdo a los resultados obtenidos no se observan diferencias en la diversidad alfa entre el grupo control y los voluntarios con HTA. En relación con la diversidad beta se existen diferencias significativas entre ambos grupos de estudios. A nivel de géneros bacterianos, los resultados obtenidos indican que los sujetos con HTA presentan una menor abundancia relativa de géneros productores de ácidos grasos de cadena corta como *Ruminococcus*, *Lachnospiraceae* UCG-003, *Faecalibacterium*, *Coprobacter*, *Prevotellaceae*-NK3B31. Por otra parte, entre los géneros bacterianos que presentaron un aumento en los pacientes con HTA se encuentran *Turicibacter* y *Mogibacterium*, asociado al metabolismo de lípidos y a la inducción de citoquinas pro-inflamatorias, respectivamente. Adicionalmente, se observa un aumento en la abundancia relativa de géneros bacterianos principalmente asociados a la cavidad oral como *Oribacter* y *Solobacterium*

Keywords: microbiota intestinal, hipertensión arterial

Financing: Universidad de Valparaíso, DIUV-CIDI 4/2016, ANID PAI79170114ANID, PAI79170114

Acknowledgments: Universidad de Valparaíso, DIUV-CIDI 4/2016, ANID PAI79170114

Tipo de presentación: Panel

### **Antigenic peptides of *Campylobacter jejuni* detected by immunoproteomic approach**

#### **Detección de péptidos antigénicos de *Campylobacter jejuni* a través de un enfoque inmunoproteómico**

**Arturo Levican<sup>1</sup>**, Isabel Briceño<sup>2</sup>

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

(2) Hospital Naval Almirante Nef, Laboratorio clínico, Subida Alessandri S/N, Viña del Mar, Chile

*Campylobacter* es una bacteria patógena más comúnmente asociada con la producción de diarrea relacionada al consumo de alimentos. Además, se han reportado algunas complicaciones y secuelas post-infección. Más aún se ha observado una emergencia de cepas resistentes al tratamiento de elección. Pese a su importancia, existe una falta de información sobre su epidemiología y dinámica de transmisión en los países en desarrollo debido principalmente a la dificultad asociada al cultivo. Para esto, la OMS ha recomendado el uso de pruebas diagnósticas independientes del cultivo, entre ellos los métodos inmunológicos. Sin embargo, el desarrollo de estos métodos ha estado limitado por la baja variabilidad antigénica utilizada, incluyendo extractos bacterianos o proteínas recombinantes.

El objetivo de este estudio fue detectar péptidos antigénicos a partir de aislados de origen clínico de *Campylobacter* spp. bien caracterizados, mediante un enfoque inmunoproteómico.

Se obtuvo aislados de *C. jejuni* y suero a partir de pacientes atendidos por cuadros diarreicos en el Hospital Naval Almirante Nef, Viña del Mar (Protocolo aprobado por CEC Hospital Naval y CEC-UV código CEC 186-18). Los sueros de pacientes fueron agrupados en un pool del que se extrajo inmunoglobulinas totales mediante beads magnéticas. Estas fueron incubadas con un extracto trípico de 3 aislados bacterianos representativos más la cepa ATCC 33560 de *C. jejuni*. Luego, se recuperaron los péptidos asociados a inmunoglobulinas y fueron analizados por medio de LC-MS/MS. Las secuencias peptídicas fueron anotadas a partir de sus genomas, identificando en promedio 940 péptidos trípticos correspondientes a 371 proteínas. De estas últimas, en promedio 20 fueron relacionadas con resistencia a antibióticos y 99 con virulencia de acuerdo a las bases de datos CARD y VFDB, respectivamente. Estas proteínas y péptidos identificados representan las proteínas bacterianas presentes en el contexto de infección y los péptidos detectados entre ellas constituyen alternativas para generar métodos diagnósticos inmunológicos independientes de cultivo en el futuro.

**Keywords:** *Campylobacter jejuni*, péptidos antigénicos, LC-MS/MS, Resistencia a antibióticos, virulencia

**Financing:** Fondecyt/ANID Iniciación 11181262

Tipo de presentación: Panel

### **Insertion Sequences & Virulence in South American *Neisseria meningitidis***

#### **Secuencias de Inserción y Virulencia en cepas de *Neisseria meningitidis* de Sudamérica**

**Benjamin Leyton-Carcaman**<sup>1,2</sup>, David Madariaga-Troncoso<sup>1</sup>, Pablo Bruna<sup>1,2</sup>, Michel Abanto<sup>1</sup>

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

(2) Doctorado en Ciencias mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Temuco, Chile

*Neisseria meningitidis* is a pathogen that colonizes the human nasopharynx and can cause invasive diseases such as meningitis or septicemia. While vaccines cover most serogroups, South America has reported *N. meningitidis* lineages causing invasive meningococcal disease (IMD) with elevated mortality rates, particularly associated with serogroup W (MenW) and the clonal complex ST-11 (cc11). Despite the presence of mobile elements like insertion sequences in *N. meningitidis*, their evolutionary impact remains under-investigated. In the context of South American epidemiology, this insight can enhance specific surveillance efforts. In this study, we analyzed the content of insertion sequences (IS) in 356 genomes of invasive and non-invasive lineages of *N. meningitidis*. Using bioinformatics tools and comparative genomics techniques, we identified specific patterns and unique insertion sequences associated with invasive and commensal strains. Through the construction of a pangenome and the application of Hidden Markov Models (HMM) for the prediction of insertion sequences, we conducted a comprehensive and systematic exploration of the genomic context associated with each identified insertion sequence in this study. Our findings indicate that there is a predominance of the IS110 and IS30 families in *N. meningitidis*. Genomic data analysis indicates disparities in the insertion sequence content associated with the *N. meningitidis* clonal complex. Furthermore, we discerned differences between genomes correlated with clinical severity and those associated with asymptomatic carriers. Upon examination of the genomic context, it was discerned that IS110 consistently co-localizes with the zot gene, traditionally situated within prophage domains such as MDA and IMSAR-11, both belonging to the cc11 clonal complex. Additionally, IS5 co-occurs with metabolic operons linked to iron metabolism. These IS potentially act as regulators in the expression of virulence-related genes, offering a new understanding of the molecular mechanisms that provide invasive advantages to certain lineages. Our findings suggest that insertion sequences may play a role in the virulence of *N. meningitidis* to specific host niches and, therefore, in its pathogenic potential. These results open new avenues for the identification of therapeutic targets and the prevention of diseases caused by invasive strains of *N. meningitidis*.

Keywords: insertion sequences, pathogenic bacteria, Clonal complex ST-11 (cc11), *Neisseria meningitidis*

Financing: This study is sponsored by the ANID Beca Doctorado Nacional ANID 2023-21232282

Acknowledgments: The authors acknowledge to the supercomputing infrastructure of Soroban (SATREPS MACH – JPM/JSA1705) at Centro de Modelación y Computación Científica at Universidad de La Frontera.



Tipo de presentación: Panel

**Development of a standardized protocol based on nanopore DNA sequencing for the characterization of the vaginal microbiota**

**Desarrollo de protocolo estandarizado basado en secuenciación de ADN por nanoporos para la caracterización de bacterias presentes en la microbiota vaginal**

**Barbara Oliva-Arancibia<sup>1,2</sup>**, Juan Ugalde<sup>1</sup>, Katia Soto-Liebe<sup>3</sup>

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

(2) Programa Magíster en Biotecnología y Ciencias de la Vida, Universidad Andres Bello, Facultad Ciencias de la Vida, Av. República 470, Santiago, Chile

(3) Universidad de Chile, Escuela de Economía y Administración, Facultad de Economía y Negocios, Diagonal Paraguay 257, Santiago, Chile

La microbiota vaginal saludable está dominada por el género *Lactobacillus* y presenta una baja diversidad bacteriana. Estas bacterias actúan como una barrera protectora para la mucosa epitelial, brindando una defensa eficaz contra los patógenos invasores, manteniendo un microambiente vaginal homeostático. Un desbalance de bacterias de la microbiota vaginal, puede provocar varias complicaciones para la salud de la mujer, siendo más propensas a adquirir diversas enfermedades, como la vaginosis bacteriana (VB), llegando a alcanzar hasta 32% de las consultas ginecológicas en Chile. Actualmente, no existe un examen completo que proporcione información detallada sobre las bacterias de la microbiota vaginal para un diagnóstico y tratamiento preciso. La secuenciación del gen ARNr 16S utilizando *Oxford Nanopore Technologies* (ONT), ofrece lecturas largas y una mayor resolución taxonómica, lo que facilita la identificación de especies bacterianas de manera rápida. Desarrollamos e implementamos un protocolo experimental y bioinformático para caracterizar la microbiota vaginal. Las muestras vaginales se autorecolectaron por 20 mujeres con hisopos estériles que se almacenaron en *buffer shield* Zymo®. Se extrajo ADN genómico y se amplificó el gen completo que codifica para el ARNr 16S por PCR. Las librerías se prepararon con el *kit 16S barcoding* y se secuenciaron en la plataforma MinION (ONT). El *basecalling* de los datos crudos se hizo utilizando *Guppy*. Las secuencias se filtraron según la calidad y longitud con MinIONQC. En la asignación taxonómica se empleó la base de datos SILVA y se determinó la abundancia relativa de los géneros y especies bacterianas de la microbiota vaginal. La composición de bacterias de la microbiota vaginal de mujeres residentes en Chile, reveló una diversidad relativamente baja de la comunidad bacteriana, identificando las especies predominantes de *Lactobacillus* y algunos agentes causantes de la vaginosis bacteriana. El desarrollo de un protocolo estandarizado para la autorecolección de muestras, procesamiento, secuenciación *Nanopore* y análisis bioinformáticos de las secuencias completas de ARNr 16S, permiten la identificación de las bacterias vaginales a nivel de especie, para asociarlas a la salud, prevención y tratamiento de enfermedades de mujeres.

Keywords: Microbiota vaginal, *Lactobacillus*, Secuenciación Nanopore, MinION

Financing: FONDECYT Regular 1221209

Tipo de presentación: Panel

**Genotypic and phenotypic characterization of factors associated with cellular adaptation and their role in antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains isolated from gastric biopsies of patients from the Bío-Bío Region**

**Caracterización de factores genotípicos y fenotípicos asociados a la adaptación celular y su rol en la resistencia antibiótica de cepas de *Helicobacter pylori* aisladas desde biopsias gástricas de pacientes de la Región del Bío-Bío**

Joaquín Olivares-Muñoz<sup>1</sup>, Isabella Calderón<sup>1</sup>, Luciano Arellano<sup>1</sup>, Macarena Deride<sup>1</sup>, Cristian Parra-Sepúlveda<sup>1</sup>, Apolinaria García<sup>1</sup>

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile

*Helicobacter pylori* es una bacteria que coloniza la mucosa gástrica de al menos el 50% de la población mundial y se asocia a diversas patologías gastroduodenales. La prevalencia alcanza aproximadamente un 70% en Chile, reportándose una alta tasa de resistencia a Claritromicina, lo que plantea un problema de salud pública asociado al fracaso terapéutico. El objetivo del estudio fue caracterizar cepas clínicas de *H. pylori* para entender el papel de factores genotípicos y fenotípicos en la respuesta al estrés y resistencia antibiótica. Se ensayaron quince cepas clínicas aisladas desde biopsias gástricas. Estas se cultivaron en agar Columbia con sangre de equino y suplementadas con DENT, en condiciones de microaerobiosis a 37 °C. La resistencia antibiótica se evaluó por dilución en agar y se empleó un protocolo de tinción con Cristal Violeta modificado para analizar la formación de biopelículas. Se seleccionaron 5 cepas al azar para analizar su perfil genotípico de virulencia mediante amplificación por PCR de tiempo final; se empleó PCR-RFLP para detectar la mutación puntual A2143G asociada a resistencia a Claritromicina; también se realizó una tinción de Gram en diferentes tiempos de incubación y se analizó la formación de células cocoides. Se detectaron once cepas resistentes a antibióticos, 8/15 resistentes a Claritromicina, 4/15 a Metronidazol, 6/15 a Levofloxacina y 1/15 a tetraciclina. A las 24h, todas formaron biopelículas; 8/15 débiles, 5/15 moderadas y 2/15 fuertes. Las cinco cepas analizadas genotípicamente fueron positivas para *vacAm1* y *vacAs2a*, cuatro para *cagA*, *vacAm1*, *vacAs1a* y *vacAm1*, sólo una para *dupA*, *vacAi* y *vacAi2*, y ninguna para *babA*. Sólo la cepa HP219A presentó la mutación puntual A2143G. La tasa de células cocoides aumentó en un 50% a las 72h en dos cepas, y otras dos cepas superaron el 50% después de 120h, mientras que solo una se mantuvo lejos del 100% pasadas 168h. El estudio revela una alta tasa de resistencia a Claritromicina, con una alta capacidad de formar biopelículas a las 24h. Destacan la presencia de importantes factores de virulencia. Se sugieren diversos factores implicados en la resistencia a Claritromicina, que se estudiarán en futuros trabajos con un tamaño muestral mayor.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Resistencia a los antibióticos, PCR-RFLP, Adaptación celular, biopelículas

Tipo de presentación: Panel

### Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with decreased susceptibility to vancomycin

### Caracterización de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente con susceptibilidad disminuida a vancomicina

**Lorena Pardo**<sup>1,2</sup>, María Inés Mota<sup>1,3</sup>, Andrés Parnizari<sup>1</sup>, Guillermina Giudice<sup>1</sup>, Cecilia D´Albora<sup>1</sup>, Virginia Machado<sup>1</sup>, Romina Papa<sup>1</sup>, Claudia Gutierrez<sup>3</sup>, Gustavo Varela<sup>1</sup>

(1) Universidad de la República, Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

(2) Universidad de la República, Clínica Pediátrica ;, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

(3) Laboratorio de Microbiología del Centro Hospitalario Pereira Rossell, Administración de los Servicios de Salud del Estado, Montevideo, Uruguay

#### Introducción:

La detección de la resistencia heterogénea a vancomicina (hVISA) es relevante ya que se ha asociado con fallas terapéuticas en infecciones pediátricas.

#### Objetivo:

Realizar tamizaje de cepas hVISA de aislamientos invasivos de *S. aureus* meticilino resistente (SAMR) en el período 2009-2019 en un hospital de referencia de Uruguay y caracterizar las mismas.

#### Metodología:

Se buscó la susceptibilidad disminuida a vancomicina de 52 SAMR de infecciones invasivas en menores de 15 años durante 2009-2019 mediante pesquisa con BHI agar con caseína 16 g/L y vancomicina 4 mg/L. Se estudió la susceptibilidad antibiótica por VITEK2 y se buscó el gen *mecA* y *SCCmec* por PCR.

Las cepas pesquisadas se confirmaron mediante análisis poblacional-área bajo la curva (PAP-AUC). Se comparó el grosor de la pared de aislamientos hVISA con microscopio de transmisión por electrones con las cepas ATCC 259213 y VISA Mu ATCC 700698, previa exposición a concentraciones sub-inhedoras de vancomicina.

Se determinó el *spa* typing, MLST y *SCCmec* con la plataforma *Pathogen watch* y *Galaxy Europe* mediante análisis de la secuencia genómica.

#### Resultados:

Fueron recuperadas de: 17 hemocultivos, 13 osteoarticulares, 7 pleuropulmonares, 6 sistema nervioso central, 5 piel y tejidos blandos y 4 abscesos profundos. Todos portaron el gen *mecA*, y 38 cepas *SCCmec* IV, 12 *SCCmec* II, 1 *SCCmec* I y 1 *SCCmec* V. Mostraron resistencia inducible a eritromicina y clindamicina 4 y constitutiva 9; 7 a ciprofloxacina, 3 a eritromicina y 1 a gentamicina y trimetoprim sulfametoxazol.

El agar screening pesquió 15 cepas, una de ellas con AUC  $\geq 0.9$  con respecto a la cepa de referencia. El espesor de la pared presentó un promedio de 37,81 DE 5,47, mayor que la cepa sensible a vancomicina (31,63 DE 4,49) y menor que la Mu ATCC 700698 (51,40 DE 9,17) (p 0,000). El estudio del genoma determinó el *spa* typing 138, secuenciotipo 30 y *SCCmec* IVc.

#### Conclusiones:

Esta es la primera descripción de una cepa clínica con susceptibilidad disminuida a vancomicina. Conocer sus características es relevante para el manejo de estas infecciones a nivel de salud pública.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Resistencia antibiótica

Tipo de presentación: Panel

### Analysis of the production of biofilms in strains of *Staphylococcus aureus* causing invasive infections in children

### Análisis de la producción de biofilms en cepas de *Staphylococcus aureus* causantes de infecciones invasivas en niños

Andrés Parnizari<sup>1</sup>, María Inés Mota<sup>1,2</sup>, Guillermina Giudice<sup>1</sup>, Luciana Robino<sup>1</sup>, Gustavo Varela<sup>1</sup>, Lorena Pardo<sup>1,3</sup>

(1) Universidad de la República, Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

(2) Laboratorio de Microbiología del Centro Hospitalario Pereira Rossell, Administración de los Servicios de Salud del Estado., Montevideo, Uruguay

(3) Universidad de la República, Clínica Pediátrica &quot;C&quot;, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

#### Introducción:

*Staphylococcus aureus* puede producir *biofilms*, estructuras que protegen a estos microorganismos de condiciones hostiles, células del sistema inmune del hospedero y de antimicrobianos: Resulta un desafío en el abordaje terapéutico de algunas infecciones producidas por este microorganismo.

#### Objetivo:

Estudiar la producción de *biofilms* y algunas características microbiológicas de un conjunto de aislamientos de *Staphylococcus aureus* proveniente de infecciones invasivas en menores de 15 años, asistidos en el Centro Hospitalario Pereira Rossell desde 2011 al 2021.

#### Metodología:

Se estudiaron todos los aislamientos de *S. aureus*, uno por paciente, obtenidos de infecciones invasivas en el hospital pediátrico de referencia en Uruguay durante el período mencionado.

Las variables analizadas fueron: susceptibilidad antibiótica (VITEK 2), tipo de infección e ingreso a Unidad de Cuidados Intensivos. Se buscó el gen de virulencia *pvl* y en cepas con resistencia a meticilina (SAMR) se buscó el gen *mecA* por PCR y se tipificó el SCC*mec* según Kondo y col.

Se analizó la producción de *biofilm* mediante cristal violeta en placas de poliestireno para microtitulación, clasificando los aislamientos según el resultado de la DO<sub>590</sub> en débiles, moderados o fuertemente formadores según Villegas y col.

Se utilizó como Test estadístico Chi<sup>2</sup>.

#### Resultados:

Se estudiaron 139 aislamientos, 79 provenientes de hemocultivos, 27 de sitios osteoarticulares, 7 de líquido cefalorraquídeo y 26 de otras localizaciones anatómicas.

Portaron *pvl* 25 cepas (18%). Del total, 37 (27%) resultaron SAMR todos con *mecA* (19 portaron el SCC*mec* II y 18 SCC*mec* IV).

Presentaron producción de *biofilm* en 103 (74%) aislamientos, de los cuales resultaron débiles 47, moderados 39 y fuertes, 17.

Se asoció la fuerte formación de *biofilm* y presencia de SCC*mec* II ( $p=0,0004$ ).

Treinta (21,5%) ingresaron a Unidad de Cuidados Intensivos.

#### Conclusiones:

Se documentó la capacidad de formar *biofilms* en cepas de *Staphylococcus aureus* recuperadas de infecciones invasivas en menores de 15 años, en su mayoría débiles formadoras. Se encontró asociación estadística entre el tipo de cassette y la fuerte formación de *biofilm*. Será necesario establecer las características genéticas de estos aislamientos con estudios complementarios.

Keywords: *S. aureus*, biofilms, meticilino resistencia

Tipo de presentación: Panel

**The type 7 secretion system in *Streptococcus agalactiae*: A study of diversity and prevalence in Chile**

**Sistema de secreción tipo 7 en *Streptococcus agalactiae*: Estudio sobre su diversidad y prevalencia en Chile**

**Boris Riveros Rodríguez<sup>1</sup>**, Abel E. Vasquez<sup>1,2</sup>

(1) Instituto de Salud Pública de Chile, Sección de Biotecnología, Santiago, Chile

(2) Universidad del Alba, Departamento de Investigación, Postgrado y Educación Continua (DIPEC), Facultad de Ciencias de la Salud, Santiago, Chile

*Streptococcus agalactiae*, also known as Group B Streptococcus (GBS), is a bacterium capable of colonizing the human gastrointestinal and vaginal tracts. It is one of the leading causes of sepsis, pneumonia, and meningitis in newborns. Maternal colonization is the main mode of transmission to newborns, which can result in early-onset disease (EOD) or late-onset disease (LOD). The primary virulence factors of *S. agalactiae* are surface capsular polysaccharides, which can be used to classify this bacterium into various serotypes.

*S. agalactiae* virulence factors include the fibrinogen-binding proteins Fbs and Srr, the plasminogen-binding surface protein PbsP, pili, and the Lmb protein. These factors are involved in host tissue adhesion, invasion, and resistance to the immune response. *S. agalactiae* also utilizes extracellular membrane vesicles, the HvgA adhesin, and ornithine rhamnolipid pigment to facilitate its passage through epithelial barriers.

The type 7 secretion system (T7SS) is a type of molecular machinery used by *S. agalactiae* to export effector proteins into the extracellular environment. This system has been extensively studied in *M. tuberculosis* and *S. aureus*. Different subtypes of T7SSb have been described in *S. agalactiae*, and it has been demonstrated that T7SSb subtype I mediates virulence in murine models of meningitis. This finding highlights the presence of conserved elements such as effectors EsxA and LXG1.

The type 7 secretion system b (T7SSb) in *S. agalactiae* appears to be a novel virulence factor. Better understanding this molecular machinery would shed light on the role it plays in *S. agalactiae* infections. We obtained 200 samples of *S. agalactiae* from pregnant women in Chile and searched for the presence of T7SS in the clinical isolates using genomic sequencing and bioinformatics tools. We expect that our findings will provide valuable information about the distribution and prevalence of T7SSb subtypes in *S. agalactiae* in Chile and will serve as a guide for future *S. agalactiae* research.

Keywords: Sistema de secreción tipo 7, *Streptococcus agalactiae*, Diversidad y prevalencia

Financing: FONDEF ID21I10370 and ID23I10207 (AEV) and ANID Beca de Doctorado Nacional, Año académico 2023 Folio 21231103

Tipo de presentación: Panel

### **Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in adolescents from three regions of Chile**

### **Prevalencia de infección por *Helicobacter pylori* en adolescentes de tres regiones de Chile**

**Joaquín Torres Nuñez**<sup>1</sup>, Camila Cabrera Ampuero<sup>1</sup>, Yalda Lucero Álvarez<sup>1</sup>, Sergio George Carreño<sup>1</sup>, Anne Lagomarcino Josephine<sup>1</sup>, Nora Mamani Manzano<sup>1</sup>, Beatriz Zabala Torres<sup>2</sup>, Lilian Fernandez Fernandez<sup>3</sup>, Jenny Obando Latorre<sup>4</sup>, Miguel O'ryan Gallardo<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile

(2) Universidad de Aysen, Laboratorio de Microbiología Molecular, Dirección de Investigación, Eusebio Lillo 667, Coyhaique, Chile

(3) Universidad de La Frontera, Programa Especialidad Medicina Familiar, Facultad de Medicina, Claro Solar 115, Temuco, Chile

(4) Servicio de Salud Aysen, Departamento de Salud Digital, General Parra 551, Coyhaique, Chile

**Introducción:** *Helicobacter pylori* es una bacteria Gram negativo, cuya infección crónica está relacionada con el desarrollo de úlcera péptica y cáncer gástrico. En latinoamérica su prevalencia es alta, particularmente en Chile donde se ha descrito seropositividad hasta en 70% de la población adulta. Esta infección se adquiere habitualmente en la infancia, sin embargo existen escasos estudios de prevalencia en niños y que comparen distintas zonas geográficas de nuestro país.

**Objetivo:** Determinar y comparar la prevalencia de *H. pylori* en adolescentes sanos de Colina, Temuco y Coyhaique..

**Materiales y métodos:** Estudio descriptivo de corte transversal que incluyó jóvenes sanos de 14 a 16 años asintomáticos digestivos, con residencia en Colina, Temuco y Coyhaique. La detección de *H. pylori* se hizo mediante test de aire espirado con urea marcada con C13. Se consideró infección persistente, la positividad de al menos 2 test separados por 1 mes. En caso de discrepancia en estas 2 muestras, se analizó una tercera muestra. Se excluyeron participantes que hubieran sido tratados con antibióticos en el mes anterior a la toma del examen o que hubieran recibido tratamiento de erradicación de *H. pylori* previamente.

**Resultados:** Se analizaron las muestras de 261 adolescentes. La edad promedio fue  $16,2 \pm 0,81$  años y 54,2% fueron mujeres. Solo se requirió una tercera muestra en 12 participantes (4,6%). La prevalencia global de *H. pylori* fue de 40,9%. Las prevalencias en Colina, Temuco y Coyhaique fueron de 45,8%, 36,4% y 30,6%, respectivamente.

**Conclusión:** La prevalencia de *H. pylori* en adolescentes asintomáticos fue alta. Dicha prevalencia fue mayor en Colina que en las otras 2 zonas. Será necesario analizar los factores que pudieran determinar esta diferencia de frecuencia.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Adolescents, Prevalence of infection, Chile, Urea Breath Test  
Financing: FONDECYT 1220964

Tipo de presentación: Panel

**Reduction of Multidrug-resistant *Salmonella enterica* ser. Infantis in fresh chicken breast at storage temperature using a phage Cocktail**

**Rocio Barron-Montenegro**<sup>1,3</sup>, Diana Alvarez-Espejo<sup>1</sup>, Cristobal Martínez-Padilla<sup>1</sup>, Luis Alejandro Piña-Iturbe<sup>1</sup>, Dacil Rivera<sup>2</sup>, Andrea Moreno-Switt<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela Veterinaria, Ciencias Biológicas, Agronomía e Ingeniería Forestal y Medicina, Av. Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

(2) Universidad Andres Bello, Escuela Veterinaria, Facultad Ciencias de la Vida, Republica 239, Santiago, Chile

(3) Pontificia Universidad Católica de Chile,, Instituto de Ingeniería Medica y Biológica, Facultad de Ingeniería, Ciencias Biológicas y Medicina, Av. Vicuña Mackenna 4860, Macul, Chile

*Salmonella* Infantis (SI) is a globally emerging foodborne pathogen frequently isolated from poultry. SI Poses a significant challenge to the poultry industry and consumer health due to its multidrug resistance. As a key chicken exporter, Chile confronts issues related to SI Multi-Drug Resistance (MDR). In order to develop a serovar-specific intervention, bacteriophages, viruses with the ability to infect and eliminate bacteria, offer a potential biocontrol solution for mitigating SI in the poultry industry.

This study aims to develop and validate a phage cocktail for use in chicken breast to effectively reduce SI MDR and evaluate the effect in the quality parameters of meat.

Assessment of the phage cocktail stability was carried out by exposure to low temperature, marinate solution (1.0 % w/v), and peracetic acid (PA, 200 ppm). After 24 hours of incubation at 0°C, samples were collected at 0, 1, and 24-hour, followed by serial dilution and quantification through spot testing. The cocktail was applied once to chicken breast pre-infected with SI (MOI 100) over a 4-day period at 0°C. A control group treated only with the cocktail and a negative control were included. Additional analyses included Most Probable Number (MPN) for SI quantification, pH measurement, total aerobic count (RAC Petrifilm 3M), and color of the matrix.

The cocktail was stable for 24 hours under the assessed conditions, except for exposure to PA, which led to a significant reduction ( $p < 0.05$ ) in phage titer at time 0. In chicken breast, pH remained steady at 6 over the 4-day period in both the negative control and phage-treated groups. No noticeable differences in color were observed among the groups. Total aerobic count showed a significant reduction in the cocktail-treated group compared to the control on day 4. Initial SI quantification at day 0 fell below the detection limit when compared to the untreated group using MPN, and after 24 hours, SI levels remained under the detection limit in phage treated group.

The developed phage cocktail holds potential for effectively controlling SI MDR in chicken breast under standard storage conditions, while maintaining the meat quality parameters intact.

Keywords: *Salmonella* Infantis, Bacteriophages, Chicken breast, *Salmonella* reduction

Financing: Fondef ID23I10093, Ciencia2030 A2202B and Ph.D. Grant 21220654 ANID.

Acknowledgments: Bacteriophage and Food Protection Laboratory

Tipo de presentación: Panel

### Identification of serotypes of the genus *Salmonella* isolated from surface water of agricultural irrigation in the Central region of Chile

### Identificación de serotipos del género *Salmonella* aislados desde agua superficial de riego agrícola en la region Central de Chile

**Fernando Dueñas**<sup>1</sup>, Natalia Pino<sup>1</sup>, Viviana Toledo Neira<sup>4</sup>, Alejandro Zelaya<sup>1</sup>, Francisca Álvarez<sup>1,3</sup>, María Angélica Fellenberg<sup>2</sup>, Macarena Fernandez<sup>2</sup>, María Consuelo Arias<sup>2</sup>, Carla Vera<sup>2</sup>, Aiko Dora Adell<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello., Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Economía agraria o Ciencias animales, Facultad de agronomía e Ingeniería Forestal, Santiago, Chile

(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina Veterinaria, Santiago, Chile

(4) Universidad de Las Americas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Santiago, Chile

**Introducción:** *Salmonella* es uno de los principales patógenos involucrados en enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs). La presencia de *Salmonella* en aguas superficiales usadas para riego de verduras representa un serio riesgo para la salud pública. Identificar los serotipos de *Salmonella* en el agua de riego es crucial, ya que permite determinar virulencia, patogenicidad y resistencia antimicrobiana presente en *Salmonella* aislada desde esta fuente. El objetivo de nuestro estudio es identificar serotipos del género *Salmonella* en el agua de uso agrícola, que podrían resultar riesgosos para la población gracias a su resistencia a diferentes antibióticos

**Métodos:** *Salmonella* se aisló de 180 muestras de aguas superficiales de uso agrícola siguiendo la metodología de BAM modificada, se filtraron 15 L de agua mediante filtros Moore swab modificado, posteriormente se enriquecieron en agua peptonada tamponada modificada y se aislaron en medios selectivos como caldo Tetrathionate, Rappaport-Vassiliadis, agar XLT4 y Hektoen. Se confirmaron mediante PCR del gen *invA*. La serotipificación de las cepas confirmadas fue basado en el esquema Kauffmann-white-Le Minor. Las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos se basó en la Norma M100 de rendimiento para pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos de CLSI, 33ª edición 2023.

**Resultados:** Durante los 5 muestreos se detectó la presencia de *Salmonella* en las aguas superficiales. Se detectó la presencia de serotipos de *Salmonella* de importancia en salud pública, siendo *S. Infantis* detectada en 32% (7) de las cepas analizadas, *S. Typhimurium* en un 18% (4 cepas), *S. Enteritidis* en un 14% (3 cepas) y en menor medida (menor a 9%) *S. Montevideo*, *S. Newport*, *S. Cubana*, *S. Miami*, *S. Edinburgh* y *S. Schwarzengrund*. Los resultados de susceptibilidad a los antimicrobianos mostraron que las cepas analizadas tienen sensibilidad intermedia a gentamicina. Además, dentro de este grupo de cepas se destaca una cepa de *S. Infantis* con perfil de resistencia a ampicilina, cefazolina, cefotaxima, fosfomicina y con presencia de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido. Con estos resultados preliminares se puede concluir que existe presencia de serotipos de *Salmonella* de importancia para la salud pública y que además presentan resistencia antimicrobiana, aumentando el riesgo de contaminar hortalizas y cultivos destinados para el consumo humano.

Keywords: *Salmonella*, Agua de riego, Productores agrícolas

Financing: FIC 2020 (#40027684-0) de María Angélica Fellenberg y Aiko Dora Adell Fondecyt Regular (#1221536) de Aiko Dora Adell

Acknowledgments: Asesores Prodesal de INDAP y Pequeños productores agrícolas de la VI región



Tipo de presentación: Panel

**Determination of the microbiome of different sourdoughs prepared from amaranth, brown rice, quinoa and wheat flours, evaluation of the changes associated with different incubation and storage situations.**

**Determinación del microbioma de diferentes masas madres preparadas a partir de harinas de amaranto, arroz, quinoa y trigo, evaluación de los cambios asociados a distintas situaciones de incubación y almacenamiento**

**Waldo Andrés Díaz-Vásquez<sup>1</sup>**, Rocío Peñalver Miras<sup>2</sup>, Mario Maulén Cabañas<sup>1</sup>, Camila Vega Bossay<sup>1</sup>, Jazmin Castro Moreno<sup>1</sup>

(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, Santiago, Chile

(2) Universidad de Murcia, Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus Regional de Excelencia Internacional "Campus Mare Nostrum", Campus de Espinardo, 30100 Espinardo, España, Murcia, España

La masa madre es una mezcla de harina, agua y es fermentada espontáneamente por levaduras y bacterias ácido lácticas (BAL) heterofermentativas. Esto produce metabolitos de ácido láctico y acético, aportando un sabor característico. En general, 100 g de harina contienen un millón de levaduras y  $1 \times 10^7$  bacterias. *Lactobacillales* (lácticas) y *Rhodospirillales* (acetobacterias) representan el 97% de las bacterias, donde *Saccharomyces cerevisiae*, son el 70% de los hongos. En este trabajo determinamos la composición de bacterias y hongos en harinas fermentadas de amaranto, arroz, quinoa y trigo.

Los starter espontáneos de amaranto, arroz, quinoa y trigo se prepararon mezclando 1:1 de harina y agua, y se dejó reposar a 26-28°C de 1 día hasta 14 días, paralelamente los fermentos de 1 día fueron inmediatamente refrigerados o congelados. Se realizó secuenciación del gen 16s e ITS para analizar el contenido microbiano.

A 25°C, amaranto mostró *Alternaria sp.*, *Pleospora sp.* y disminución de *Pleospora sp.* entre 4 y 14 días, aparece *Bacillus sp.*, *Curtobacterium sp.*, *Leuconostoc sp.*, *Paenbacillus sp.* y *Pantoea sp.* Se observó un aumento proporcional de microorganismos al 4to día y una disminución a los 14 días. Para arroz se observó *Alternaria sp.*, *Curvularia sp.*, *Bipolaris sp.*, *Cladosporium sp.* y *Stemphylium sp.* y son estables hasta los 14 días, se mostró aumento de *Leuconostoc sp.* similar a lo que ocurre en trigo el día 14, existe un importante aumento de *Curtobacterium sp.* el día 4 y 14 para arroz, quinoa y trigo. En quinoa se observó *Holleys sp.* y *Cladosporium sp.* y, esta se vuelve predominante desde el día 4. Se encontró elevados niveles de *Alternaria sp.* y *Cladosporium sp.* en trigo, donde *Alternaria sp.* es predominante hasta el día 14. En refrigeración y/o congelación las masas tienden a mostrar los mismos microorganismos y una fuerte desaparición del hongo *Stemphylium sp.*

Existen diferencias en los microorganismos presentes en las harinas de masas madres, las poblaciones van cambiando en algunas harinas en el tiempo y en otras se mantienen estables. Existe fuerte modificación de microorganismos al someter masas a refrigeración y congelación, extinguiéndose parte importante de los hongos y bacterias iniciales.

Keywords: microbioma, masa madre, amaranto, arroz integral, trigo

Financing: Universidad San Sebastián, CU90LAMI00

Tipo de presentación: Panel

### The antifungal effect of *Thymus vulgaris* essential oil on *Botrytis cinerea*

#### El efecto antifúngico de aceite esencial de *Thymus vulgaris* sobre *Botrytis cinerea*

Paola Fincheira<sup>1</sup>, Ignacio Jofré<sup>2</sup>, Marcela Levío-Raimán<sup>1</sup>, Olga Rubilar<sup>1,3</sup>

(1) Universidad de La Frontera, Centro de Excelencia en Investigación Biotecnológica Aplicada al Medio Ambiente (CIBAMA), Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN-UFRO), Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Universidad de La Frontera, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

*Botrytis cinerea* es considerado un hongo fitopatógeno de importancia mundial, debido a su impacto en el deterioro de la fruta. El control de *B. cinerea* se realiza principalmente a través de agroquímicos, pero los aceites esenciales (AE) han surgido como alternativa. Este estudio se enfocó en determinar la actividad antifúngica del AE puro de *Thymus vulgaris* (Qenkón® Aromaterapia) sobre *B. cinerea*. La composición del AE de *T. vulgaris* se determinó a través de cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas. Para el ensayo de inhibición de crecimiento de micelio (Día-7) y germinación de esporas (24 h) se aplicaron dosis de AE de *T. vulgaris* a 200, 400, 600, 800 o 1000  $\mu\text{L L}^{-1}$  conteniendo 0,05 % de Tween 80 en agar Papa Dextrosa. Se evaluó el peso seco, pH y material extracelular ( $\text{OD}_{260\text{ nm}}$ ) en caldo de Papa Dextrosa inoculado con  $10^4$ - $10^7$  conidia  $\text{mL}^{-1}$ . Tinciones de Calcofluor White y MitoTracker™ Orange CMTMROS permitieron determinar ancho de hifa y la actividad mitocondrial. Los resultados indicaron que el AE de *T. vulgaris* estaba compuesto principalmente por timol (53,7 %),  $\gamma$ -terpineno (13,7 %), *o*-Cimeno (12,8 %), *endo*-Borneol (12,3 %), y cariofileno (3,3%). Dosis de 600 a 1000  $\mu\text{L L}^{-1}$  de AE inhibieron entre 75,54 y 79,58 % el crecimiento de micelio de *B. cinerea*. Adicionalmente, 1000  $\mu\text{L L}^{-1}$  de AE inhibió completamente la germinación de esporas. La adición de AE a altas concentraciones disminuyó el peso seco (100 %) y el pH ( $\sim 40$  %) e incrementó la liberación de material extracelular ( $\text{OD}_{260\text{ nm}}$ ). La tinción de Calcofluor White reflejó una disminución ( $\sim 30$  %) del ancho de la hifa y el MitoTracker™ Orange CMTMROS indicó que la actividad mitocondrial disminuyó (60 %). Los resultados indicaron que el AE de *T. vulgaris* tiene una fuerte actividad antifúngica contra *B. cinerea* a nivel de crecimiento de micelio y germinación de esporas, lo cual puede ser atribuido principalmente al timol y a la composición de este AE. El AE de *T. vulgaris* actúa como antifúngico debido su capacidad de alterar las propiedades de la membrana celular y la actividad mitocondrial, potenciando su aplicación como alternativa sustentable.

Keywords: Actividad antifúngica, Aceite esencial de *Thymus vulgaris*, *Botrytis cinerea*, Potenciales mecanismos de acción

Financing: Este estudio fue financiado por ANID/ FONDECYT/11220070 y parcialmente por Proyecto de la Universidad de La Frontera DI23-3002 and DI23-10002.

Acknowledgments: Se agradece la contribución de ANID/FONDAP/15130015

Tipo de presentación: Panel

### **Temporal analysis of microbial communities in different sauerkraut matrices**

#### **Análisis temporal de las comunidades microbianas en diferentes matrices de chucrut**

**Francisco Andre Fuentes Santander**<sup>1</sup>, Juan Ugalde<sup>1</sup>, Katia Soto<sup>2</sup>, Trinidad Völker<sup>3</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa, Ciencias de la Vida, Av. República 330, Santiago, Chile  
(2) Universidad de Chile, Escuela de Economía y Administración, Facultad de Economía y Negocios, Diagonal Paraguay 257, Santiago, Chile

(3) La Fermentista, Nicolas de Garnica 160, Santiago, Chile

El chucrut es un alimento fermentado popular en el mundo, este es elaborado fermentando repollo y otras verduras. El proceso es impulsado por bacterias ácido lácticas que generan compuestos beneficiosos para la salud como las vitaminas B12 y K2. Este alimento ha sido relacionado con efectos beneficiosos tales como reducción de la inflamación y fortalecimiento del sistema inmunológico. Además, contiene bacterias probióticas que favorecen la salud intestinal. El proceso de fermentación implica una sucesión de microorganismos, controlada por condiciones como la temperatura y salinidad. Se han utilizado técnicas de secuenciación para estudiar la diversidad microbiana en el chucrut, pero se requiere una investigación más exhaustiva para monitorear y optimizar el proceso de producción.

En este trabajo, se analizaron seis diferentes formulaciones de chucrut del mismo productor. Se recolectaron muestras de los productos fermentados durante seis meses, se extrajo el DNA total, se amplificó y secuenció la región V3V4 del gen codificante para el 16S ARNr. Los datos fueron procesados utilizando DADA2 1.26 y se asignó taxonomía usando la base de datos de SILVA v.138.1. Los análisis de las comunidades se realizaron evaluando métricas de diversidad alfa y beta, usando Phyloseq v.1.40.0. Para evaluar la presencia taxones compartidos entre las muestras, se construyeron redes de co-ocurrencia usando Cooccur v1.3. Las variaciones temporales de los taxones más importantes se visualizaron mediante BiomeHorizon v1.0.0.

Al analizar los resultados se observó que las comunidades microbianas están dominadas en todos los tiempos a nivel de filo por Firmicutes y Proteobacteria y por los géneros *Lactiplantibacillus* y *Leuconostoc*. Los análisis de redes mostraron que los géneros *Lactiplantibacillus*, *Leuconostoc* y *Levilactobacillus* se comparten en todas las muestras durante todo el estudio. Finalmente, los análisis temporales revelaron que *Lactiplantibacillus* tiene sus picos más bajos de abundancia durante los meses finales del estudio, coincidiendo con algunos de los picos más altos de abundancia en *Leuconostoc*.

Este trabajo evidencia la importancia de estudiar la diversidad microbiana en alimentos fermentados para monitorear cambios de diversidad en el tiempo, relacionarlos con la calidad del producto y desarrollar mejores estrategias de monitoreo de la comunidad microbiana.

Keywords: Chucrut, Comunidad microbiana, Secuenciación, 16S

Financing: FONDECYT REGULAR 1221209

Tipo de presentación: Panel

**Microbiological analysis of ready-to-eat street foods from subway stations before and during the COVID-19 pandemic: A comparison of classical versus culture-independent culture techniques**

**Análisis Microbiológico de alimentos de venta callejera listos para el consumo de estaciones de metro antes y durante la pandemia de COVID-19: Una comparación sobre las técnicas clásicas de cultivo versus independientes de cultivo**

**Brigitte A. Meriño Castro**<sup>1</sup>, Mario A. Maulén Cabañas<sup>1</sup>, Isabel A. Díaz Carrasco<sup>1</sup>, Fernanda Waymann Vivanco<sup>1</sup>, Waldo A Díaz-Vásquez.<sup>1</sup>  
(1) Universidad San Sebastián, Escuela de Nutrición y Dietética, Ciencias para el Cuidado de la salud, Carmen Sylva 2444, Providencia, Santiago, Chile

Según la organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), unos 2.500 millones de personas consumen alimentos de venta callejera cada día debido a su fácil y rápido acceso. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año se reportan alrededor de 600 millones de casos de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), causando 420 mil muertes debido al consumo de alimentos contaminados. Este estudio se llevó a cabo en 18 estaciones del Metro de Santiago de Chile con mayor afluencia de público flotante en donde el comercio ambulante es más abundante. Según estadísticas realizadas, se estima que cerca de 703,7 millones de personas viajan diariamente en metro. Fuera de cada estación se ofrece una variada gama de alimentos listos para el consumo como sopaipillas, completos, ensalada de fruta, etc.

Se seleccionaron en total 108 alimentos cocidos, crudos y mixtos durante el periodo 2018- 2019 (Pre pandemia) y periodo 2021-2022 (Pandemia). El objetivo fue analizar la presencia de microorganismos patógenos de interés epidemiológico en salud pública y que causan el mayor número de ETAs como la *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp*, *Listeria spp*, Recuento de aerobios mesófilos RAM, Coliformes no coli, Levaduras y Mohos. Se emplearon métodos microbiológicos tradicionales en base al reglamento sanitario de los alimentos (RSA), Bacteriological Analytical Manual (BAM) y el instituto de salud pública (ISP) y análisis genómicos, por secuenciación del gen 16S rRNA.

Los resultados preliminares de viabilidad mediante conteo de UFC mostró que existe una alta carga microbiana de patógenos oportunistas como *Escherichia coli*, *Listeria spp.*, recuento de aerobios mesófilos, y *Staphylococcus spp*. Sin embargo, por análisis de los amplicones de rRNA 16S se detectó una alta abundancia de *Pseudomonas spp*. en el 100% junto con la presencia de los géneros *Clostridium spp.*, *Enterococcus spp.*, *Klebsiella psp.* y *Streptococcus spp*.

Es importante destacar que para el conteo de microorganismos las técnicas deben complementarse, ya que los métodos clásicos son selectivos y permiten crecer cierto tipo de microorganismos, en cambio con el método de secuenciación, no podemos determinar si están vivas o no porque solo es un análisis genómico.

Keywords: Comida callejera, Microbiología de alimentos, Enfermedades transmitidas por alimentos, Higiene y Seguridad alimentaria, Manipulación de Alimentos

Financing: Universidad San Sebastián, CU90LAMI00

Tipo de presentación: Panel

**Determination of the effects of *Moringa oleifera* consumption on the composition of intestinal microbiota and the presence of inflammatory state markers in a mice model with sarcopenia**

**Determinación de los efectos del consumo de *Moringa oleifera* sobre la composición de la microbiota intestinal y la presencia de marcadores de estado inflamatorio en un modelo murino con sarcopenia**

**Javier Perez-garcia**<sup>1</sup>, Mario A. Maulen<sup>1</sup>, Waldo A. Díaz-Vásquez<sup>1</sup>, Juan Pablo Espinoza<sup>2</sup>, Maria José Acuña<sup>2</sup>, Gema Nieto<sup>5</sup>, Araceli Chávez<sup>3</sup>, Paula García-Milla<sup>4</sup>

(1) Universidad San Sebastian, Molecular Microbiology and Food Research Laboratory, Facultad de Ciencias para el Cuidado de la salud, Escuela de Nutrición y Dietética, Carmen Sylva 2444, Santiago, Chile

(2) Universidad Bernardo O'Higgins, Centro integrativo de biología y química aplicada (CIBQA), General Gana 1702, Santiago, Chile

(3) Universidad Bernardo O'Higgins, Escuela de Medicina, Facultad de ciencias Médicas, General Gana 1702, Santiago, Chile

(4) Universidad Autónoma de Chile, Carrera Nutrición y Dietético, Av Pedro de Valdivia 425, Santiago, Chile

(5) Universidad de Murcia, Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Campus de Espinardo, 30100 Espinardo, Espinardo, España

La *Moringa oleifera* es un alimento prometedor con funciones prebióticas debido a su composición nutricional y propiedades terapéuticas. El polisacárido MOP-2 que se encuentra en esta planta puede mejorar la microbiota intestinal al aumentar las bacterias beneficiosas y reducir las bacterias asociadas a patógenos.

Esta investigación buscó determinar los efectos de *M. oleifera* en la microbiota intestinal y los marcadores proinflamatorios (calgranulina e IL-6) en dos modelos de ratones con sarcopenia. La elección de estos modelos se debe a que la sarcopenia es una condición que se asocia con el envejecimiento y una disminución de la masa muscular y está ligado a el sistema gastrointestinal y la inflamación.

En el primer modelo, conocido como el modelo LPS, se administró LPS a seis ratones (C57BL/6 WT) para inducir sarcopenia antes del estudio.

En el segundo modelo, se utilizaron seis ratones (C57BL/10 WT) que ya presentaban el fenotipo de sarcopenia debido a la edad.

Luego, a tres ratones de cada modelo se les administró un extracto de *M. oleifera* a una concentración de 250 mg/kg/día durante 28 días.

El análisis de la microbiota reveló que el consumo de *M. oleifera* modificó su composición de manera significativa. Se observó un aumento significativo en *Akkermansia muciniphila*, una bacteria asociada a un intestino saludable, y una disminución significativa en el género *Desulfovibrio*, que está relacionado con la disbiosis intestinal y la colitis ulcerosa.

Además, se encontraron indicios preliminares de que *M. oleifera* redujo los niveles de calgranulina e IL-6, lo que indica una disminución en la inflamación intestinal en ambos modelos con sarcopenia. Esto es importante porque la inflamación intestinal puede ser un factor contribuyente a la sarcopenia.

Los hallazgos sugieren que *M. oleifera* tiene un potencial como prebiótico y como agente para mejorar la salud intestinal en modelos murinos con sarcopenia, lo que puede tener implicaciones significativas para la salud en el envejecimiento.

Keywords: Prebiotics, Gut microbiota, Inflammatory markers, *Moringa oleifera*, 16S rRNA

Financing: Universidad San Sebastián, CU90LAMI00

Acknowledgments: Gracias a mmrflab por facilitar sus instalaciones para realizar esta investigación

Tipo de presentación: Panel

**Heterologous expression and purification of the enzymes  $\beta$ -galactosidase and L-arabinose isomerase from environmental isolate L47, for potential application in the food industry using a GRAS organism**

**Expresión heteróloga y purificación de las enzimas  $\beta$ -galactosidasa y L-arabinosa isomerasa a partir del aislado ambiental L47, para su potencial aplicación en la industria alimentaria utilizando un organismo GRAS**

**Katherine Rivero**<sup>1</sup>, Nicole Neira<sup>1</sup>, Inaira Rivero<sup>1</sup>, Fernanda Contreras<sup>1</sup>, Felipe Arenas<sup>1</sup>

(1) Universidad de Santiago de Chile, Biología, Química y Biología, Av. B. O'Higgins N° 3363; Santiago; Estación Central, Santiago de Chile, Chile

Las proteínas recombinantes se han utilizado en la industria durante décadas, expandiendo su uso a diversos procesos bioquímicos hasta la actualidad. La principal ventaja de producir y aplicar estas proteínas radica en su alto rendimiento y bajos costos de producción, por lo que son una propuesta de interés en distintas áreas como la industria alimentaria. En este sector, la producción de proteínas debe cumplir una serie de condiciones que garanticen la seguridad y salud de los consumidores al momento de ser incluidas en el procesamiento de alimentos, por lo que la Food and Drug Administration (FDA) implementa en 1958 el término de "productos generalmente reconocidos como seguros" (GRAS). Como su nombre indica, las biomoléculas utilizadas en estos procesos y los organismos que las produzcan deben cumplir requisitos específicos para su aplicación. Un organismo que cumple con dichas características es *Bacillus subtilis*, uno de los vehículos de expresión más utilizados para proteínas recombinantes, gracias a sus diversas cualidades, entre ellas destaca la gran capacidad de producción, por ello, corresponde al foco de estudio en el presente trabajo. En este proyecto se seleccionaron dos enzimas:  $\beta$ -galactosidasa y L-arabinosa isomerasa del microorganismo psicrotolerante L47, cepa ambiental proveniente del territorio nacional Antártico, identificada previamente por el laboratorio de microbiología molecular. Estas enzimas posibilitan la revalorización de la Lactosa, permitiendo la síntesis de galactooligosacáridos (GOS) y tagatosa. Se utilizaron los vectores de expresión pHT254 y pHT43 (MoBiTec®), y se logró obtener enzimas recombinantes purificadas mediante cromatografía a partir de *B. Subtilis*. Finalmente se logró evaluar la capacidad catalítica de estas enzimas para sintetizar GOS y tagatosa, donde los resultados abren una puerta para analizar sus propiedades y considerar su posible implementación futura en la industria alimentaria.

Keywords: Enzimas recombinantes,  $\beta$ -galactosidasa, L-arabinosa isomerasa, Organismo GRASS

Financing: Agradecimiento a Fondecyt Regular 1230724

Tipo de presentación: Panel

**Studies of the Sigma Factors involved in the response to osmotic stress in *Salmonella* isolates that remain in the production line of a chicken farm in the Metropolitan Region**

**Estudios de los Factores Sigma involucrados en la respuesta a estrés osmótico en aislados de *Salmonella* que permanecen en la línea de producción de una granja de pollos de la Región Metropolitana**

Valentina Salinas<sup>1</sup>, Nicolas Pacheco<sup>1</sup>, Gabriel Krüger<sup>1</sup>, Jorge Valdes<sup>2</sup>, Claudia Saavedra<sup>1</sup>

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

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

*Salmonella* enterica presenta una amplia variedad de serovares, entre ellos, el serovar *Salmonella* Infantis destaca como uno de los más prevalentes en la industria alimentaria a nivel mundial. Los mecanismos que influyen en su prevalencia en el hospedero son diversos, y una de las estrategias utilizada por *S. Infantis* se relaciona con la modulación de factores sigma, que desempeñan un papel clave en la respuesta a cambios ambientales y estrés osmótico.

El factor sigma S ha sido identificado como un modulador importante en la respuesta al estrés osmótico, y se han encontrado polimorfismos de nucleótido único (SNPs), que le confiere ventajas fenotípicas para generar respuestas específicas al estrés. En este contexto, se plantea la hipótesis de que las **modificaciones en los motivos de interacción con los factores sigma en los promotores de genes de respuesta al estrés osmótico en *S. Infantis* contribuyen a su persistencia en la línea de producción de una granja avícola.**

El objetivo del estudio es identificar la distribución de factores sigma en cepas de *S. Infantis* obtenidas de la línea de producción. Para ello, se utilizaron herramientas bioinformáticas para localizar las regiones promotoras y unidades transcripcionales de los genes involucrados en la respuesta al estrés osmótico, estableciendo el modelo para localizar el sitio de inicio de la transcripción y las secuencias promotoras. Además, de buscar modificaciones en promotores para determinar si estas mejoran la especificidad de los factores sigma en la unión. La evidencia *in silico* fue validada mediante ensayos de cambio en la movilidad electroforética (EMSA), confirmando la unión del factor sigma S a las regiones promotoras de los genes de respuesta al estrés osmótico. También se realizaron constructos para evaluar la actividad del promotor y, mediante qPCR, se corroboró la expresión de los genes relacionados con la respuesta al estrés osmótico.

Los resultados mostraron que los factores sigma juegan un papel importante en numerosas vías de respuesta al estrés, enfatizando en la interacción con regiones promotoras. Estos hallazgos proporcionan una mejor comprensión de los mecanismos de respuesta al estrés en *S. Infantis*, contribuyendo al manejo de las infecciones causadas por esta bacteria.

Keywords: *Salmonella* Infantis, Estrés osmótico, Factores sigma, Estrategias de modulación

Financing: Proyecto FONDECYT 1210633Anillo ATE 220007

Tipo de presentación: Panel

### **Microbiota in breast milk**

#### **Microbiota presente en la leche materna**

**Claudia A. Zapata Rojas**<sup>1</sup>, Camila F. Vega Bossay<sup>1</sup>, Mario A. Maulén Cabañas<sup>1</sup>, Waldo A. Díaz Vásquez<sup>1</sup>

(1) Universidad San Sebastián, Escuela de nutrición y dietética, Facultad de ciencias para el cuidado de la salud, Providencia, Santiago, Chile

La microbiota de la leche materna (MLM) es una comunidad de microorganismos presentes en la leche materna (LM) que se ha convertido en un importante campo de estudio en los últimos años, ya que desempeña un papel crucial en el desarrollo del microbioma intestinal del lactante, y se ha relacionado con diversos problemas de salud. Uno de los principales hallazgos es que la composición de la MLM puede verse influida por el propio microbioma intestinal de la madre, esta relación ha suscitado una mayor exploración de sus posibles implicaciones para la salud y desarrollo del lactante. La LM es reconocida como la mejor fuente de nutrición para recién nacidos, aporta nutrientes esenciales y anticuerpos que ayudan a protegerlos frente a infecciones y enfermedades, es por esto que resulta importante conocer la composición de la MLM.

En este trabajo se realizaron cultivos microbianos a partir de LM, en condiciones aeróbicas y anaeróbicas, durante distintos tiempos de incubación y temperaturas de almacenamiento. Posteriormente, se realizaron recuentos bacterianos y extracciones de DNA para secuenciación de genes 16S. Los resultados mostraron que en condiciones anaeróbicas hay mayor crecimiento bacteriano utilizando medio de cultivo BSM, específico para *Bifidobacterium* Sp. En cuanto a la abundancia, en condiciones anaeróbicas se presenta mayor diversidad y se encuentran géneros que no están en condiciones aeróbicas, como *Sediminibacterium* Sp. y *Weissella* Sp.; además a temperatura ambiente, hay un aumento de patógenos oportunistas como *Pseudomona* y *Staphylococcus* Sp. También se evaluó el efecto de edulcorantes en el crecimiento y composición de la microbiota, mostrando que en presencia de ciclamato y sucralosa hay mayor crecimiento microbiano; contrario al efecto de sacarina. Al analizar su composición, se observan patógenos oportunistas como *Pseudomona* Sp. y *Staphylococcus* Sp., sobre todo con sacarina.

Estos resultados nos permiten concluir que, si bien la LM presenta diversos microorganismos, sólo en condiciones anaeróbicas se encontraron *Sediminibacterium* Sp. y *Weissella* Sp., géneros pertenecientes a las familias de bacterias Firmicutes y Lactobacillaceae respectivamente. Si bien en todas las condiciones se encontraron patógenos oportunistas presentes en la LM, su abundancia aumenta a mayores temperaturas y en presencia de ciertos edulcorantes.

Keywords: Microbiota, Leche materna, Probióticos  
Financing: Universidad San Sebastián, CU90LAMI00.



Tipo de presentación: Panel

**Bioinformatic Analysis of Environmental Factors and Presence of *Salmonella* in Irrigation Water: An Approach for Risk Assessment in Agricultural Production**

**Análisis Bioinformático de Factores Ambientales y Presencia de *Salmonella* en aguas de Riego: Un Enfoque para la Evaluación de Riesgos en la Producción Agrícola**

**Carlos Alejandro Zelaya**<sup>1,2</sup>, Natalia Pino<sup>2</sup>, Fernando Dueñas<sup>2</sup>, Katia Castro<sup>2</sup>, Isabel Huentemilla<sup>2</sup>, María Angélica Fellenberg<sup>3</sup>, Macarena Fernández Donoso<sup>3</sup>, María Consuelo Arias<sup>4</sup>, Carla Vera<sup>3</sup>, Aiko Adell Nakashima<sup>2</sup>

(1) Centro de Bioinformática y Biología de Sistemas, Universidad Andres Bello, Santiago, Chile

(2) Escuela de Medicina Veterinaria, Ciencias de la vida, Universidad Andres Bello, Santiago, Chile

(3) Ciencias Animales, Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

(4) Instituto de Nutrición y tecnología de los alimentos, INTA, Universidad de Chile, Santiago, Chile

**Background:** El agua superficial es esencial para la irrigación agrícola y su contaminación por patógenos, como *Salmonella*, plantea riesgos para la salud pública. En este estudio, investigamos la presencia de *Salmonella* en aguas superficiales y su relación con factores ambientales y antropogénicos.

**Methods:** Recolectamos muestras de agua en 36 sitios de la región de O'Higgins mensualmente de octubre de 2022 a marzo de 2023. Los sitios se seleccionaron según riesgos identificados por agricultores locales. Detectamos *Salmonella* siguiendo el protocolo de la FDA-BAM y confirmamos mediante PCR con el gen invA. Registramos factores ambientales y antropogénicos al momento de la toma de muestras. Posteriormente realizamos un análisis estadístico de Random Forest de los datos para identificar los factores relacionados con la presencia de *Salmonella*.

**Results:** Analizamos 180 muestras en 36 sitios durante la temporada de riego, y encontramos *Salmonella* en el 23.3% de las muestras (42/180). La detección de *Salmonella* fue más alta al comienzo (octubre de 2022) y al final (marzo de 2023) de la temporada de riego, el resto de la temporada se detectó en 13.9% a 22.2% de las muestras procesadas.

Los análisis de Random Forest revelaron que los parámetros físicos del agua y la temperatura ambiental (clasificados como factores ambientales) tenían mayor influencia en la detección de *Salmonella*. La presencia de animales y sus heces, y de asentamientos y heces humanos (clasificados como factores antropogénicos), mostraron asociaciones débiles o nulas con la detección de *Salmonella*.

**Conclusión:** Se detectó la presencia de *Salmonella* en aguas superficiales utilizadas para riego, y esta presencia estaba fuertemente vinculada a factores ambientales, y en menor medida a diversos factores antropogénicos.

La identificación de los factores que inciden en la presencia de *Salmonella* en las aguas de riego resulta fundamental para optimizar la gestión de recursos, dirigiendo la recopilación de muestras hacia aquellos lugares donde los factores ambientales ejerzan una influencia preponderante en la detección de *Salmonella*.

Keywords: Random Forest, *Salmonella*, Factores ambientales, Aguas de riego, Bioinformática

Financing: FIC 2020 (Código: 40027684)

Acknowledgments: FIC 2020 (# 40027684-0) de ADA y MAF, Fondecyt Regular (# 1221536) de AA. Asesores prodesal de INDAP y pequeños productores agrícolas ambos de la VI región.

Tipo de presentación: Panel

**Evaluating low-cost and low-maintenance methods to improve the biological quality of irrigation water in small agricultural producer farms in Central Chile.**

**Evaluación de métodos de bajo costo y bajo mantenimiento para mejorar la calidad biológica del agua de riego en predios de pequeños productores agrícolas del centro de Chile.**

**Natalia Pino Norambuena**<sup>1</sup>, Aiko Adell<sup>1</sup>, Fernando Dueñas<sup>1</sup>, Alejandro Zelaya<sup>1</sup>, Kathia Castro<sup>1</sup>, Isabel Huentemilla<sup>1</sup>, María Angélica Fellenberg<sup>2</sup>, Macarena Fernandez<sup>2,3</sup>, María Consuelo Arias<sup>2</sup>, Carla Vera<sup>2</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Ciencias Animales, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Santiago, Chile

(3) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y tecnología de los alimentos, Santiago, Chile

El agua superficial utilizada por pequeños productores agrícolas destinada al riego de hortalizas, presenta contaminación con microorganismos de origen fecal y *Salmonella*. Según la norma chilena 1333, incumple la normativa permitida en temas de calidad de agua (coliformes <1000 UFC/100 ml y *E. coli* <126 UFC/100 ml). Es por esta razón necesario diseñar medidas de bajo costo y de fácil implementación que disminuyan la contaminación microbiológica del agua. El objetivo fue evaluar la eficacia de dos métodos de filtración de bajo costo y mantenimiento en condiciones de laboratorio, para reducir las cargas patógenas en aguas de riego en predios de pequeños productores.

Se desarrollaron dos modelos de filtros para evaluar su capacidad de reducir in vitro coliformes fecales, *E. coli* y *Salmonella*, en agua destinada al riego de hortalizas. Las muestras de agua fueron inoculadas con 10<sup>5</sup> aislados de *Salmonella* marcada fluorescentemente, para así diferenciarlas de otras salmonellas. Se recolectaron muestras semanalmente durante cinco semanas, antes y después de pasar por los filtros. El Modelo 1 constaba de un contenedor con tres tipos de arena (gravilla, arena gruesa y fina); el modelo 2 con tres contenedores, cada uno con un tipo de arena. Estos comparados con un canal control sin filtro. Los recuentos de coliformes fecales y *E. coli* se determinaron mediante filtración de membrana. Para *Salmonella* se realizó conteo de UFC en placa.

El modelo 1 demostró una reducción promedio de 0,78 unidades logarítmicas en los recuentos de *Salmonella* después de pasar por el filtro, mientras que el modelo 2 logró una reducción de 0,97 unidades logarítmicas. Ambos modelos mostraron reducciones promedio de 43% (Modelo1) y 33% (Modelo2) en los recuentos de *E. coli*, así como reducciones promedio de 56% (Modelo1) y 62% (Modelo2) en los recuentos de coliformes fecales. Para el control, no hubo reducción en el recuento de patógenos.

Los resultados indican considerar la implementación de ambos modelos de filtros ya que redujeron considerablemente la concentración de *Salmonella*, *E. coli* y coliformes. Cabe destacar que en esa concentración de patógenos el agua no se destinaría para riego ni consumo humano ya que no cumple con la normativa.

Keywords: irrigation water, food safety, fecal coliforms, salmonella, agricultural producers

Financing: FIC 2020 (Código: 40027684-0)

Acknowledgments: FIC 2020 (Código: 40027684-0), Fondecyt Regular (Código: 1221536), y Dr. Juan Fuentes (UNAB) por proporcionarnos los aislados de *Salmonella* marcada.

Tipo de presentación: Panel

**Single gene identification and development of a LAMP-based technique for rapid diagnosis of *Renibacterium salmoninarum***

**Identificación de gen único y desarrollo de una técnica basado en (LAMP) para el diagnóstico rápido de *Renibacterium salmoninarum***

**Marcelo Aguilar<sup>1</sup>**, Adolfo Isla<sup>1,2</sup>, Claudia Barrientos<sup>1</sup>, Sandra Flores<sup>1</sup>, Jose Blanco<sup>1</sup>, Alejandro Yañez<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Isla teja S/N, Valdivia, Chile

(2) Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Facultad de Ciencias, Isla teja S/N, Valdivia, Chile

*Renibacterium salmoninarum* es uno de los patógenos bacterianos de peces más antiguos que se conocen. Esta bacteria grampositiva es el agente causante de la enfermedad renal bacteriana (BKD), una infección crónica que afecta principalmente a los salmónidos. El 2022, BKD fue la tercera causa de mortalidad infecciosa en especies salmónidas. Entre los métodos para diagnosticar *R. salmoninarum* se encuentra: el cultivo bacteriológico, inmunodetección y PCR, sin embargo, el cultivo bacteriológico requiere largos tiempos de incubación para el aislamiento de la bacteria, la inmunodetección genera reacción cruzada de los anticuerpos con otros patógenos y el PCR que requiere de equipos caros, termociclado de precisión y formación en laboratorio, lo que limita su uso como herramientas de diagnóstico rutinario sobre el terreno. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue desarrollar un método de diagnóstico rápido y específico para *R. salmoninarum* mediante amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP). El análisis genómico de genomas de *R. salmoninarum* permitió la identificación de un gen único que codifica para un transportador ABC. Este gen que no hace blast con ningún gen de otras de bacterias en la base de datos del NCBI. A partir de esta secuencia se diseñaron partidores para qPCR con la herramienta Primer-BLAST. Los partidores utilizados para LAMP se diseñaron con la herramienta NEB LAMP Primer Design Tool versión 1.4.1 (New England Biolabs) siguiendo los parámetros predeterminados. La identificación de *R. salmoninarum* se realizó utilizando extracción de DNA genómico, qPCR y LAMP. El ensayo LAMP demostró una alta especificidad y sensibilidad comparables a las de la PCR en tiempo real (qPCR) para detectar la secuencia codificante única identificada en nuestro análisis (ABC). El análisis de muestras de campo mostro una alta precisión para el diagnóstico de *R. salmoninarum*. El desarrollo de este sólido método de diagnóstico para *R. salmoninarum* podría tener importantes implicaciones para la vigilancia, el control y las estrategias de gestión de la enfermedad en el sector de la acuicultura de salmónidos.

Keywords: Diagnostico, *Renibacterium salmoninarum*, transportador ABC, LAMP, Salmónidos

Financing: Proyecto FONDEF ID21I10066 y FONDAP-ANID 1522A00004 (Interdisciplinary Center for Aquaculture Research) (INCAR).

Acknowledgments: VIDCA-UACH

Tipo de presentación: Panel

**Isolation and characterization of fowl aviadenovirus serotype 11 from broiler chickens with inclusion body hepatitis in Chile**

**Aislamiento y caracterización de adenovirus aviar serotipo 11 desde pollos broiler con hepatitis a cuerpos de inclusión en Chile**

**Leandro Antonio Cadiz Nuñez<sup>1,2</sup>**, Miguel Guzmán<sup>1,2</sup>, Hector Hidalgo<sup>2</sup>

(1) Universidad de las Americas, Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, NIAVA., Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Avenida 5 de abril 620, Maipú, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Avenida Santa Rosa 11735, Santiago, Chile

El presente estudio se realizó con el objetivo de aislar, identificar y caracterizar una cepa de adenovirus aviar (FAdV) asociada con hepatitis a cuerpos de inclusión en pollos broiler en Chile durante el año 2023. Los serotipos de adenovirus aviar están asociados a una gran variedad de manifestaciones clínicas en las aves de corral, ocasionando grandes pérdidas para la industria avícola en todo el mundo, debido principalmente a Hepatitis a Cuerpos de Inclusión (IBH) y Síndrome del Hidropericardio (HPS). Los FAdVs son divididos en cinco especies (A, B, C, D y E) y 12 serotipos (FAdV-1 a 8a y 8b a 11). La IBH está asociada a los serotipos FAdV-2, FAdV-8a, FAdV-8b, y FAdV-11. Se obtuvieron muestras de hígado desde tres casos de pollos broiler de 3 a 5 días de edad con sospecha de infección por FAdV asociados a hepatitis a cuerpos de inclusión, las cuales fueron procesadas para análisis histopatológico, aislamiento viral en huevos embrionados y análisis molecular.

El examen de necropsia reveló hígados pálidos e inflamados con presencia de focos necróticos blanquecinos. El análisis histopatológico del tejido hepático de las aves afectadas reveló necrosis generalizada de los hepatocitos asociada con cuerpos de inclusión intranuclear basofílicos, compatible con el diagnóstico de hepatitis a cuerpos de inclusión. Los embriones inoculados vía corioalantoidea con homogeneizado de hígado de las aves afectadas murieron entre 3 a 4 días post inoculación y presentaron hígados aumentados de tamaño y de coloración verdosa-amarillenta. La presencia del virus fue confirmada por reacción en cadena de la polimerasa convencional basada en una región del gen *hexon* en todas las muestras investigadas. El análisis filogenético realizado a las secuencias amplificadas reveló que los aislados obtenidos de los casos pertenecen a la especie D serotipo 11 (FAdV-11).

Este trabajo es el primer reporte y descripción de un caso de hepatitis a cuerpos de inclusión asociado a adenovirus aviar de la especie D serotipo 11 en Chile. Es necesarios realizar más análisis de este tipo para determinar los serotipos de adenovirus aviar presentes en el país y evaluar la efectividad de las vacunas actualmente en uso en el país.

Keywords: Fowl adenovirus, Disease, Broiler chickens, Inclusion body hepatitis, Sequencing analysis

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

Tipo de presentación: Panel

**Synergistic antiviral effect induced by andrographolide and fucoïdan on Atlantic salmon macrophages infected by IPNV.**

**Efecto antiviral sinérgico inducido por andrografolido y fucoïdano en macrófagos de salmón del Atlántico infectados por IPNV.**

**Sergio Canales Muñoz**<sup>1,2</sup>, Catalina Millán<sup>1,2</sup>, Benjamin Ulloa Sarmiento<sup>1,2</sup>, Fernanda Brisso<sup>1,2</sup>, Mateus Frazão<sup>1,2</sup>, Daniela Toro Ascuy<sup>3</sup>, Sebastian Andres Reyes Cerpa<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Mayor, Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Cam. La Pirámide 5750, 8580745 Huechuraba, Región Metropolitana, Santiago, Chile

(2) Universidad Mayor, Escuela de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Cam. La Pirámide 5750, 8580745 Huechuraba, Región Metropolitana, Santiago, Chile

(3) Universidad de Chile, Departamento de Biología, Facultad de ciencias, Las Palmeras 3425, 7800003 Ñuñoa, Región Metropolitana, Santiago, Chile

Infectious Pancreatic Necrosis Virus (IPNV) is the agent of a well-characterized acute disease that produces a systemic infection and high mortality in farmed salmon species; however, to date, no vaccines or antivirals have been adequate to prevent outbreaks. It is widely accepted that functional feeds confer fish protection due to the immunostimulant properties of their constituent compounds, which include plant, fungal, or algae extracts. In this work, we have evaluated the effect of Futerpenol®, a patented mix of andrographolide from *Andrographis paniculata* and fucoïdan from *Fucus vesiculosus* in type I interferon-mediated response. In this study, we evaluated the transcript expression of IFN $\alpha$ , Mx, PKR, and viperin by RT-qPCR in Atlantic salmon macrophage-like cell lines SHK-1 infected with IPNV by 120h and previously stimulated by 24h with andrographolide or fucoïdan separately or with andrographolide + fucoïdan (Futerpenol®). Additionally, we evaluated the effect of these compounds on the viral load by quantification of copies of VP2 from total RNA on infection supernatants by qPCR.

As result, in SHK-1 cells stimulated with andrographolide and infected by IPNV, we observed an induction of transcript expression of viperin, but not IFN $\alpha$  or other ISGs. In SHK-1 cells incubated with fucoïdan and then infected by IPNV, we only observed an IFN $\alpha$  expression increase. However, in SHK-1 cells incubated with andrographolide + fucoïdan and then infected with IPNV, we observed a higher IFN $\alpha$ , PKR, and viperin expression than non-stimulated cells. Moreover, incubation with andrographolide prior to infection induced a significant decrease in viral load compared to infected control cells, unlike what was observed in SHK-1 cells treated with fucoïdan and then infected by IPNV, where we did not observe any effect on the viral load. On the other hand, co-incubation with both compounds prior to infection induces a two-order-of-magnitude drop in IPNV viral load compared to infected control cells, suggesting that fucoïdan and andrographolide have a synergistic effect on antiviral machinery regarding the antiviral effect of both compounds separately. In conclusion, the joint use of andrographolide and fucoïdan has greater antiviral properties and represents an alternative against IPNV infection.

Keywords: macrophage, IPNV, Atlantic Salmon, functional feeds

Acknowledgments: Maqui New Life for providing compounds.

Tipo de presentación: Panel

### Loop-Mediated Isothermal Amplification for Detection of *Piscirickettsia salmonis*

#### Amplificación isotérmica mediada por bucle para detectar *Piscirickettsia salmonis*

**Camila Clunes Quevedo**<sup>1,2</sup>, Mateus Frazao De Souza<sup>1,2</sup>, Benjamin Ulloa<sup>1,2</sup>, J. Andres Rivas Pardo<sup>1,2</sup>, Carolina Ilabaca<sup>3</sup>, Gastón Higuera<sup>3</sup>, Katherine García<sup>4</sup>, Camila Manzano<sup>4</sup>, Mick Parra<sup>5</sup>, Felipe E Reyes Lopez<sup>5</sup>, Ignacio Chávez<sup>6</sup>, Rodrigo Pulgar<sup>6</sup>, Daniela Toro Ascuy<sup>7</sup>, Sebastian Reyes Cerpa<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Mayor, Laboratorio de Genómica microbiana e Inmunogenómica, Centro de Genómica y Bioinformática, Santiago, Chile

(2) Universidad Mayor, Escuela de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Santiago, Chile

(3) Universidad de Chile, Laboratorio de Biología Vegetal en Innovación en Sistemas Agroalimentarios (BVISA), Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Santiago, Chile

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

(5) Universidad de Santiago de Chile, Centro de Biotecnología Acuícola, Facultad de Química y Biología, Santiago, Chile

(6) Universidad de Chile, Laboratorio de Genómica y Genética de Interacciones Biológicas (LG2IB), Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Santiago, Chile

(7) Universidad de Chile, Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias, Santiago, Chile

In Chile, the appearance of recurrent and aggressive outbreaks of Salmonid Rickettsial Septicaemia (SRS) is the most severe health threat to the salmon industry. *Piscirickettsia salmonis* is the etiological agent of SRS, a contagious systemic disease that mainly affects salmon in saltwater. *P. salmonis* is a Gram-negative bacterium, non-motile, unencapsulated, pleomorphic, and usually coccoid; it is described as a facultative intracellular pathogen that resides in vacuoles of macrophages and hepatocytes. Strategies such as conventional PCR, qPCR, ELISA, IFAT, and Gram and Giemsa stain are currently used to detect and diagnose this pathogen. However, these strategies require specialized equipment and highly qualified personnel located in urban centers away from farm centers, limiting their application and delaying obtaining results for up to 3 days after sampling, which makes early decision-making difficult.

In this work, we proposed to develop a specific isothermal detection of *P. salmonis* based on the LAMP methodology. With this goal, we have designed LAMP primers using a consensus sequence from *P. salmonis* 16S rDNA. The evaluation of isothermal amplification was conducted between 60°C and 70°C. Then, the technique's specificity was analyzed by testing with genomic DNA of salmonids, including Atlantic salmon, rainbow trout, coho salmon, and chinook salmon. Additionally, we evaluated their specificity using bacterial genomic DNA from *E. coli*, *Vibrio spp*, *F. psychrophilum*, and *R. salmoninarum*, and total DNA extracted from marine water from Antarctica.

Our results showed the specific isothermal detection with an optimal amplification temperature of 64°C with a detection limit of 10 femtograms of total DNA, detecting up to 3 bacteria (12 copies of the 16S rDNA gene) in 90 minutes of reaction. This work allows the specific detection of *P. salmonis*, with the possibility of developing an *in situ* detection system that allows early diagnosis, providing a tool to improve the productive cycle, favoring an early response to the appearance of an infectious outbreak.

Keywords: Loop-Mediated Isothermal Amplification, *Piscirickettsia salmonis*, Diagnosis of Salmonid Rickettsial Septicaemia

Tipo de presentación: Panel

**Effect of vaccination with *Mycobacterium bovis* BCG on the presentation of clinical mastitis in dairy cattle**

**Efecto de la vacunación con *Mycobacterium bovis* BCG en la presentación de mastitis clínica en el ganado lechero**

**Catalina Contreras Cortés<sup>1</sup>**, Raul Alegría-Morán<sup>3</sup>, Mario Duchens Arancibia<sup>2</sup>, Pedro Abalos Pineda<sup>1</sup>, Renata Lopez Rodriguez<sup>1</sup>, Oscar Crespo Lopez<sup>1</sup>, Patricio Retamal Merino<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Av. Sta. Rosa 11735, 8820808 La Pintana, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Av. Sta. Rosa 11735, 8820808 La Pintana, Región Metropolitana, Santiago, Chile

(3) Universidad Santo Tomás, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Ejercito Libertador 146, Santiago 8370003, Santiago, Chile

La tuberculosis bovina (TBb), es una patología infectocontagiosa crónica cuyo agente causal es *Mycobacterium bovis*. Esta patología impacta negativamente en ámbitos como la economía por la pérdida de animales y productos, así como también a la salud pública por su riesgo zoonótico. En Chile está catalogada como presente por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), el cual desde el año 2011 ha implementado el programa nacional de control y erradicación de la enfermedad. Dentro de estas medidas, en el año 2017 se implementó la vacuna BCG en el ganado lechero en la Región Metropolitana, donde se evidenciaron resultados significativos beneficiosos contra la infección de TBb además se observaron efectos inespecíficos a nivel productivo traducido en mayor cantidad de leche. Por este motivo, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto inespecífico de la vacunación con *M. bovis* BCG en la presentación de mastitis clínica del ganado lechero.

El estudio se llevó a cabo en una lechería de la provincia de Talagante, del cual se recopilaban antecedentes sanitarios sobre la presentación de mastitis clínicas en la primera lactancia luego de haber sido inoculadas con BCG a la edad de 30 días. Se incluyeron un total de 139 individuos de los cuales 73 fueron inoculados y 66 recibieron dosis placebo. Dentro de estos individuos existían 2 tipos de raza, por lo que, además del análisis general del plantel, se realizó un análisis entre individuos de la misma raza. Junto con esto, también se consideró la estación de parto (cálido y frío) para analizar la presentación de mastitis. Lo anteriormente mencionado se analizó mediante el software InfoStat utilizando regresión logística.

Los resultados evidenciaron efectos favorables significativos, teniendo un 41% menos de probabilidad de presentar mastitis clínica si se inocula BCG a la edad de terneras ( $p=0,04$ ). Por lo tanto, es posible sugerir que la vacunación de terneras con la cepa BCG presenta efectos inespecíficos a nivel sanitario disminuyendo la presentación de mastitis. Esto se traduce en mejoras tanto económicas, por la disminución del gasto asociado al tratamiento, como en el bienestar de los animales.

Keywords: Tuberculosis bovina, Vacuna BCG, Efectos heterólogos, Mastitis clínica

Financing: Fondecyt 1221818

Acknowledgments: Agradecer a quienes participaron de las salidas a terreno para la inoculación con BCG, recopilación de información, a quienes ayudaron en la parte estadística y al equipo del proyecto en general.

Tipo de presentación: Panel

**Evaluation of the antimicrobial effect of PLGA-based nanosystems against *Piscirickettsia salmonis* when infects Atlantic salmon macrophage-like cells (SHK-1)**

**Evaluación del efecto antimicrobiano de nanosistemas basados en PLGA contra *Piscirickettsia salmonis* al infectar células tipo macrófago (SHK-1) de salmón del Atlántico**

**Arturo Diez Pinedo**<sup>1</sup>, Felipe Velásquez<sup>1</sup>, Mateus Frazão<sup>1</sup>, Marcelo Álvarez<sup>1</sup>, Jaime Rivas-Pardo<sup>1</sup>, Manuel Ahumada<sup>2</sup>, Sebastián Reyes<sup>1</sup>

(1) Univerisad Mayor, Centro de genómica microbiana e inminogenómica, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Camino La Pirámide 5750, Huechuraba, Región Metropolitana, Santiago, Chile

(2) Universidad Mayor, Centro de Nanotecnología Aplicada, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Camino La Pirámide 5750, Huechuraba, Región Metropolitana, Santiago, Chile

The production of salmon is an economically significant activity at the national level, which continues to increase steadily over time. In 2022, salmon and trout exports reached US\$6.646 million. The main challenge facing salmon farming in Chile is the infectious outbreaks of the intracellular bacteria *Piscirickettsia salmonis*, which causes the systemic disease Salmonid Rickettsial Septicaemia (SRS). SRS results in high fish mortality and significant economic losses for the industry. Prevention and treatment strategies for SRS mainly involve using vaccines and antibiotics, which are inefficient, costly, and have a high environmental impact. Antibiotics are only partially effective because *P. salmonis* is an intracellular bacterium, making it difficult for antibiotics to reach it in the intracellular niche, leading the industry to use large quantities of antibiotics. These factors highlight the need to develop new and more effective antibiotic delivery strategies. Our laboratory's previous research demonstrated that latex microparticles functionalized with Atlantic salmon IgM reduced bacterial load in macrophages infected with *P. salmonis* by reactivating the lysosome-mediated response. Continuing along that line, we are developing poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) nanocomplexes encapsulating florfenicol and functionalized with IgM (IgM<sub>F</sub> nanocomplex) to reduce bacterial load in SHK-1 cells infected with *P. salmonis*.

In our work, we assessed the nanocomplexes' cytotoxicity by quantifying lactate dehydrogenase (LDH) release in the SHK-1 culture supernatant. The time to evaluate the impact of IgM<sub>F</sub> nanocomplex on bacterial survival was previously selected in a time-course infection of *P. salmonis* in SHK-1 macrophage-like cells at 24-hour intervals for seven days, determining the bacterial load present both intracellular as also in infection supernatants by quantification of 16S rDNA copies through interpolation from the standard curve with the cycle threshold (Ct) value obtained for each sample. Then, the impact of the treatments with IgM<sub>F</sub> nanocomplex and respective controls on bacterial load was determined by absolute quantification by qPCR.

As result, we observed that the IgM<sub>F</sub> nanocomplex was not toxic for SHK-1 cells, and they were able to reduce bacterial load in SHK-1 cells infected by *P. salmonis*, suggesting the use of IgM<sub>F</sub> nanocomplex as a new antimicrobial strategy against *P. salmonis*.

Keywords: *Piscirickettsia salmonis*, Salmonid Rickettsial Septicaemia, Antibiotics delivery, PLGA based nanoparticles

Financing: This work is supported by ANID Subdirección de Investigación Aplicada FONDEF ID22I10211



Tipo de presentación: Panel

**Viral Surveillance with impact on the industry: Detection of White Spot Syndrome Virus in Amphipods (*Lysianassidae* family) and Seabirds from Chilean territory Continental and Antarctic**

**Búsqueda de virus con impacto en la industria: Detección Virus del Síndrome de la Mancha Blanca en Anfípodos de la familia *Lysianassidae* y Aves Marinas de Chile Continental y Antártica**

**Karla Díaz**<sup>1</sup>, Jonas Chnairderman<sup>2</sup>, Sebastián Aguilar<sup>3</sup>, Catalina Pardo-Roa<sup>4,5</sup>, Luis Lizama<sup>1</sup>, Rafael Medina<sup>4,6,7</sup>, Gonzalo Barriga<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Virología, Laboratorio de Virus Emergentes, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Departamento de Virología, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile

(3) Inorevia, Pépinière Paris Santé Cochin, 56 Rue Planchat, Paris, Francia

(4) Pontificia Universidad Católica de Chile, Department of Pediatric Infectious Diseases and Immunology, Facultad de Medicina, Lira 40, Santiago, Chile

(5) Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile., Department of Child and Adolescent Health, School of Nursing, Facultad de medicina, Lira 40, Santiago, Chile

(6) Emory University, Department of Pathology and Laboratory Medicine, Emory Vaccine Center, School of Medicine, Atlanta, USA

(7) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Department of Microbiology, Nueva York, USA

El virus del síndrome de la mancha blanca es un agente biológico que afecta a los crustáceos, específicamente los camarones en sus diferentes estadios de desarrollo generando un impacto negativo en la industria del camarón. Este virus fue descrito por primera vez en granjas de cultivo en China en los años 90 y luego se fue distribuyendo alrededor de todo el mundo a través de diferentes vías de transmisión desde vectores, reservorios y vehículos. Actualmente este virus fue notificado en Perú a final del 2022, siendo una amenaza latente para la fauna y comercio del país. Chile cuenta con una pequeña producción de camarones en la región de Atacama, manteniendo a la fecha ningún registro del virus. La amenaza actual de este virus refuerza la idea de hacer vigilancia en costas continentales. Con el fin de ampliar la búsqueda utilizamos muestras de aves silvestres de la costa chilena continental que se alimentan de crustáceos, siendo un centinela de la entrada de este virus a Chile, para esto colectamos 400 muestras de hisopados cloacales desde la primera región hasta la quinta de aves marinas durante 2015 - 2019.

El cambio climático ha producido estrés en animales del planeta y este efecto se ve amplificado en climas extremos como la antártica. Esta descrito que el WSSV es un virus oportunista que infecta principalmente crustáceos de producción por estar en ambientes de estrés, por esta razón colectamos durante 2023, muestras de aves marinas de antártica y anfípodos de la familia *Lysianassidae* pariente de los crustaceos (230 y 45 respectivamente). La identificación se realizó por la técnica de PCR – Real Time. Aun cuando existe bibliografía reciente sobre la presencia de WSSV en Sudamérica, no fue posible identificar el virus en muestras del territorio chileno Antártico y continental. Este es el primer estudio de vigilancia de WSSV en Chile.

Keywords: Surveillance, Chilean avifauna, virus, ecology

Financing: Instituto Antártico Chileno RT-3519, Fondecyt Inicio 11200228

Acknowledgments: Al equipo de Laboratorio de Virus Emergentes a mi familia, mi novio y amigos que me han acompañado en este proceso académico.

Tipo de presentación: Panel

**Lambda carrageenan displays antiviral activity against Infectious Pancreatic Necrosis Virus (IPNV) in salmonid cells**

**Carragenano lambda presenta actividad antiviral contra el Virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNV) en células de salmónidos**

**Daniela Espinoza**<sup>1</sup>, Mónica Imarai<sup>1</sup>, Daniel Laporte<sup>2</sup>, Alejandra Moenne<sup>1</sup>

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

(2) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Talca 3467987, Talca, Chile

Infectious Pancreatic Necrosis Virus (IPNV) is the etiological agent of Infectious Pancreatic Necrosis (IPN) disease, a serious affliction in farmed salmon that leads to substantial economic losses in the aquaculture industry. Due to the absence of commercially available antiviral medications, there is a compelling need to explore antiviral agents targeting IPNV. The antiviral activity of the sulphated polysaccharide lambda carrageenan ( $\lambda$ -CGN), isolated from red macroalgae, against IPNV was analyzed in salmonid cells. A plaque reduction assay showed that  $\lambda$ -CGN efficiently inhibits plaque formation with an IC<sub>50</sub> of 0.9  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . To determine whether the antiviral effect of  $\lambda$ -CGN was sustained in time, IPNV was quantified by RT-qPCR in the supernatant of infected CHSE-214 cells for 24 to 72 h. A decrease viral level was observed until 72 h in cells incubated with IPNV and  $\lambda$ -CGN. In addition, a time assay showed that the levels of transcripts encoding VP2 protein decreased in the supernatant and inside the cells indicating that the antiviral effect of  $\lambda$ -CGN is exerted at a post-entry stage. During a post-treatment with  $\lambda$ -CGN, inhibition of IPNV genomic RNA synthesis was observed at 18 hours post-infection suggesting that  $\lambda$ -CGN may inhibit viral replication. In addition,  $\lambda$ -CGN was labelled with a fluorophore and its location was observed inside the cells using confocal microscopy. In addition, a pre-treatment of salmonid cells that were further infected with  $\lambda$ -CGN increases the expression of genes involved in antiviral immune response and reduced viral level. In conclusion,  $\lambda$ -CGN exert antiviral activity against IPNV in salmonid cells, probably by inhibiting its replication and stimulate innate immunity response leading to a potent antiviral activity.

Keywords: antiviral activity, carrageenan lambda, IPNV, viral replication, salmonid cells

Financing: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID), Beca 21201137

Tipo de presentación: Panel

**Evaluation of the immune response of salmon macrophages infected with *Piscirickettsia salmonis* upon stimulation with salmon IgM-functionalized PLGA nanoparticles**

**Evaluación de la respuesta inmune de los macrófagos de salmón infectados con *Piscirickettsia salmonis* tras la estimulación con nanopartículas de PLGA funcionalizadas con IgM de salmón**

**Mateus Frazão<sup>1</sup>**, Arturo Diez Pinedo<sup>1</sup>, Felipe Villegas<sup>1</sup>, Fernanda Brisso<sup>1</sup>, Marcelo Álvarez<sup>2</sup>, Felipe Velásquez<sup>1</sup>, J. Andrés Rivas-Pardo<sup>1</sup>, Manuel Ahumada<sup>2</sup>, Sebastian Andres Reyes Cerpa<sup>1</sup>

(1) Universidad Mayor, Centro de genómica microbiana e inmunología, Facultad de Ciencias, Camino La Pirámide 5760, Huechuraba, Región Metropolitana, Santiago de Chile, Chile

(2) Universidad Mayor, Centro de Nanotecnología Aplicada, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Camino La Pirámide 5750, Huechuraba, Región Metropolitana, Santiago de Chile, Chile

Salmon farming is one of the most important economic activities for the Chilean economy. In 2022, *Salmo salar* reached profits of USD 6.246 million. However, the industry is heavily affected by infectious outbreaks of the intracellular bacteria *Piscirickettsia salmonis*, which causes the systemic disease Salmonid Rickettsial Septicaemia (SRS). This bacterium is responsible for approx. 80% of losses due to infections in the last decade. Unfortunately, prevention and treatment strategies against SRS, mainly vaccines and antibiotics, are inefficient, costly, and have a high environmental impact. Vaccines do not provide long-term responses, and the use of antibiotics is excessive. Our laboratory's previous research demonstrated that latex microparticles functionalized with Atlantic salmon IgM reduced bacterial load in macrophages infected with *P. salmonis* by reactivating the lysosome-mediated response. In this work, we are developing a Poly Lactic-co-glycolic acid (PLGA)-nanosystem functionalized with Atlantic salmon IgM (PLGA-IgM) to reactivate the protective immune response of Atlantic salmon macrophage-like cells (SHK-1) infected by *P. salmonis*. Using fluorescent microscopy, we evaluate the internalization of the nanosystem into infected SHK-1 cells. In parallel, we analyze the immune response activation by measuring the expression of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines and transcript expression of molecules associated with the lysosomal response of SHK-1 cells infected/treated with nanosystems by qPCR. Additionally, we determine if the nanosystem treatment impacts the bacterial load in infected cells by quantifying the copies of 16S rDNA. As result, we observed a synergistic effect in the pro-inflammatory and lysosomal response of infected cells treated with the nanosystems after 8 hours, decreasing the bacterial load in infected cells, suggesting that the PLGA-IgM can reactivate a protective immune response of Atlantic salmon macrophage-like cells infected by *P. salmonis* opening an alternative strategy to face intracellular diseases and opening new possibilities for bacterial treatments.

Keywords: *P. salmonis*, Immune response, cytokines, PLGA-based treatment.

Financing: This work is supported by ANID Subdirección de Investigación Aplicada FONDEF ID22I10211.

Tipo de presentación: Panel

**In vitro assessment of the probiotic properties of Antarctic lactic acid bacteria under simulated gastrointestinal conditions**

**Evaluación in vitro de las aptitudes probióticas de bacterias lácticas aisladas de la Antártica bajo condiciones gastrointestinales simuladas**

**Michelle Fuentes-Andana**<sup>1</sup>, Mónica Montory<sup>1</sup>, Javier Ferrer<sup>1</sup>, Apolinaria García-Cancino<sup>2</sup>, Cristian Parra-Sepúlveda<sup>2</sup>, Pamela Williams<sup>3</sup>

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Recursos Hídricos, Facultad de Ingeniería Agrícola, Vicente Méndez 595, Chillán, Chile

(2) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Chacabuco, Concepción, Chile

(3) Universidad de Concepción, Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Vicente Méndez 595, Chillán, Chile

En la Antártica, el lugar más árido del mundo, se desarrollan microorganismos de gran interés biotecnológico debido a su capacidad de sobrevivir a condiciones climáticas extremas. Hasta la fecha no existen estudios que evidencien las aptitudes probióticas de bacterias lácticas antárticas, por lo que esta investigación es pionera en tales propósitos. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar las propiedades probióticas funcionales de tres cepas lácticas aisladas de especies antárticas *Lpb. plantarum* 54 (foca), *E. faecium* 29 (*Pygoscelis adeliae*) y *P. pentosaceus* 23 (*Pygoscelis papua*). Los microorganismos fueron expuestos a condiciones simuladas adversas del tracto digestivo (MRS pH=2.5, 3.0 y 3.5; MRS con sales biliares al 0.3, 0.5 y 1%), además con el método de tinción con cristal violeta se estudió su capacidad de formación de biopelículas. Únicamente *Lpb. plantarum* 54 fue capaz de sobrevivir a pH 2.5 (46,1%) y *E. faecium* 29 perdió viabilidad a pH 3.0 luego de 4 h de incubación. Todas las bacterias toleraron las diferentes concentraciones de sales biliares, sin embargo la supervivencia disminuyó al incrementar la concentración al 0,5%. En general, los microorganismos antárticos se clasificaron como formadores de biopelículas. Por lo tanto, se demuestra preliminarmente que las bacterias lácticas antárticas evaluadas poseen aptitudes probióticas de interés ya que mantienen su viabilidad bajo condiciones simuladas adversas, especialmente *Lpb. plantarum* 54, por lo que podrían sobrevivir y proliferar en el entorno digestivo mediante la formación de biopelículas ejerciendo beneficios potenciales en la salud del huésped.

Keywords: Antártica, probióticos, bacterias ácido lácticas, tracto gastrointestinal, biopelículas

Tipo de presentación: Panel

### **Outer membrane vesicles in uropathogenic bacteria as a mechanism of bacterial communication**

#### **Vesículas de membrana externa en bacterias uropatógenas como mecanismo de comunicación bacteriana**

**María José González**<sup>1</sup>, Erlen Cruz<sup>1</sup>, Nicolás Navarro<sup>1,2,3</sup>, Luciana Robino<sup>4</sup>, Paola Scavone<sup>1</sup>

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Depto. de Microbiología, Montevideo, Uruguay

(2) Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS), Santiago, Chile

(3) Center of New Drugs for Hypertension (CENDHY), Santiago, Chile

(4) Instituto de Higiene, Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

Las bacterias gram-negativas son capaces de producir vesículas de membrana externa (VME). Las VME actúan de forma similar a un sistema de delivery, brindando a la bacteria la capacidad de poder exportar ADN, ARN, lípidos, proteínas, toxinas, entre otros. Esto podría brindarle a la bacteria la capacidad de comunicarse e intercambiar material con otras bacterias. Las VME pueden participar en la formación de biofilms, la adquisición de nutrientes y la protección de las bacterias, siendo blanco de diversos agentes antimicrobianos. *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis* son los principales patógenos causantes de infecciones del tracto urinario. Las VME podrían actuar en la patogenia de la infección, como intermediarias en la comunicación bacteriana, así como cargar diversos factores de virulencia. El objetivo de este trabajo consistió en identificar la producción y la función de VME en dos cepas uropatógenas de aislamientos clínicos. Para ello se emplearon las cepas de *E. coli* U144 y *P. mirabilis* 2921 ampliamente caracterizadas previamente. Las VME se obtuvieron a partir de cultivos en medio LB y orina artificial por pasos de filtración y ultracentrifugación. Fueron caracterizadas determinando el radio hidrodinámico, índice de polidispersidad, potencial zeta y observadas por TEM. La capacidad de transferencia se evaluó incubando los diferentes aislamientos con las VME marcadas con el fluoróforo FM4-64, durante 30 min, 1, 3 y 5 hs. El grado de asociación se obtiene cuantificando la fluorescencia obtenida luego de la incubación. Por último, se evaluó la capacidad de formar biofilms en presencia de VME. Las VME obtenidas de *E. coli* en LB y OA miden 214 y 261 nm respectivamente. Las VME de *P. mirabilis* tienen un tamaño de 301 y 348 nm. Todas presentan carga negativa en la superficie y baja polidispersión. En cuanto a la capacidad de transferencia, las VME de *P. mirabilis* en LB presentaron un mayor grado de asociación con todos los aislamientos. Las VME de la misma cepa aumentan significativamente la biomasa del biofilm. En conclusión, *E. coli* y *P. mirabilis* producen VME capaces de actuar en la comunicación entre bacterias y que participan en la formación de biofilms.

Keywords: Uropatogenos, Vesículas de membrana externa, biofilms, comunicación bacteriana

Financing: CSIC-UdelaR, Uruguay

Tipo de presentación: Panel

**Formulation of a solid medium for *Pasteurella multocida***

**Formulación de un medio sólido para *Pasteurella multocida***

**Arturo Levican<sup>1</sup>**, Javiera Gonzalo<sup>1</sup>, Nicole Salinas<sup>1</sup>, Valeria Hermosilla<sup>1</sup>

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

*Pasteurella multocida* es una bacteria causante de enfermedades infecciosas en humanos y animales. En animales produce el cólera aviar, que causa importantes pérdidas económicas en la industria de las aves de corral y otros animales de granja debido al gasto de suministros médicos y la disminución de la producción de carne por la cantidad de muertes que puede generar un brote no controlado. Para la profilaxis del cólera aviar se administran vacunas, las cuales son diseñadas en base a aislados obtenidos durante los brotes, siendo estas vacunas específicas de cada brote. Por lo tanto, existe la necesidad de generar vacunas con una mayor variedad de aislados para así cubrir una mayor variedad de brotes. Para lograr esto, se necesita disponer de medios de cultivo que permitan el desarrollo selectivo y diferencial de *P. multocida*. Esta bacteria crece en medios de cultivo suplementados con sangre. Aunque en la literatura ya se describen algunos medios que no utilizan este componente, estos han sido utilizados principalmente con fines de investigación y es necesario confirmar su utilidad.

El objetivo del presente estudio fue desarrollar un medio de cultivo libre de sangre que permita el crecimiento de *P. multocida*. Se identificó en la literatura los componentes previamente utilizados para el cultivo de *P. multocida*, definiendo la fórmula de un medio sólido. Para testear esta formulación se utilizaron 4 aislados de *P. multocida* aislados anteriormente a partir de animales así como también otros aislados bacterianos de diversas especies bacterianas de importancia clínica. Para dar selectividad al medio se agregó vancomicina, obteniendo inhibición de bacterias Gram positivo, las cuales predominan en la cavidad oral de animales. Sin embargo, es necesario testear agentes indicadores para obtener además un medio diferencial. La formulación base obtenida constituye una alternativa libre de sangre para el desarrollo de esta bacteria y potencialmente puede ser utilizada para generar un medio selectivo y diferencial.

Keywords: *Pasteurella multocida*, medio sólido, cólera aviar, medio selectivo, medio diferencial

Tipo de presentación: Panel

**The skin-mucus prokaryote community of *Salmo salar*: testing differences between DNA- and RNA-based 16S gene sequencing and the effect of *Tenacibaculum dicentrarchi***

**La comunidad procariota de piel y moco de *Salmo salar*: prueba de diferencias entre la secuenciación del gen 16S basada en ADN y ARN y el efecto de *Tenacibaculum dicentrarchi***

**Héctor Levipan**\*<sup>1</sup>, Hernan Wicki<sup>1</sup>, Rute Irgang<sup>2,3</sup>, Fernanda Barrios-Henríquez<sup>2,3</sup>, Henry Araya-León<sup>2,3</sup>, Ruben Avendaño-Herrera<sup>\*2,3,4</sup>

(1) Laboratorio de Ecopatología y Nanobiomateriales, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha, Leopoldo Carvallo 270, Valparaíso, Chile

(2) Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Calle Quillota 980, Viña del Mar, Chile

(3) Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Universidad Andrés Bello, Calle Quillota 980, Viña del Mar, Chile

(4) Centro de Investigación Marina Quintay (CIMARQ), Campus Quintay, Universidad Andrés Bello, Ex Ballenera de Quintay s/n, Quintay, Chile

**Background:** the fish skin and mucus compound the first barrier against waterborne diseases. A balanced skin mucus-associated microbiome is part of this barrier against pathogens as *Tenacibaculum dicentrarchi* and stimulates the fish immune system. Despite next-generation sequencing has allowed access to the core microbiome of many fish species, scarce studies have evaluated the potential use of RNA-based 16S gene sequencing, instead of DNA-based 16S amplicons, to characterize the relative activity of skin mucus-associated microbiomes. We are focused on this question using an experimental infection model with *Salmo salar* as host and *T. dicentrarchi* as infecting bacterium. The role of this pathogen on the balance of skin mucus-associated microbiome was also elucidated.

**Methods:** the skin mucus-associated microbiome of *S. salar* was determined by 16S gene sequencing using the Illumina HiSeq 250PE platform from DNA and cDNA as templates. The effect of *T. dicentrarchi* strain TdCh05 on the composition of the skin mucus-associated microbiome was tested through 21-day challenge experiments.

**Results:** an NMDS analysis of AVS-based beta diversity ordered the samples in three clusters (i.e., pre-challenged and control fish at 2 hours post-infection [hpi], TdCh05-challenged fish at 2 hpi, and control and TdCh05-challenged fish at 21 days post-infection) and indicated just a few differences between DNA- and RNA-based 16S gene sequencing. Significant differences ( $P < 0,05$ ) in AVS richness were detected between treatments at 2 hpi, including the pre-challenging state. The top ten bacterial species in samples were *Alcanivorax jadensis*, *Cobetia marina*, *Colwellia Polaris*, *Colwellia psychrerythraea*, *Colwelliarossensis*, *Neptuniibacter marinus*, *Oceaniserpentilla haliotis*, *Photobacterium toruni*, *Planktotalea frisia*, and *T. dicentrarchi*; this latter was the species dominant in challenged fish at 2 hpi.

**Conclusion:** Our results suggested that most of the taxa detected by DNA-based 16S amplicons were active or the efficacy of RNA-based 16S amplicons for detecting relative activity is not reliable. Significant changes in skin-mucus community composition were detected along the challenges, but the changes observed (at least for 21 days) were not attributable to the effect of *T. dicentrarchi* TdCh05 by considering control treatments.

Keywords: Skin-mucus microbiome, *Tenacibaculum dicentrarchi*, 16S amplicon-based sequencing, *Salmo salar*, Tenacibaculosis

Financing: Grants FONDAF-INCAR 1522A0004, FONDECYT Iniciación 11200708 and FONDECYT 1230068 from the ANID, Chile.

Acknowledgments: Mowi Chile

Tipo de presentación: Panel

**Determination of the non-specific effect of vaccination with the BCG strain of *Mycobacterium bovis* against pathogens associated with diarrhea and mortality in calves**

**Determinación del efecto inespecífico de la vacunación con la cepa BCG de *Mycobacterium bovis* contra patógenos asociados a diarrea y mortalidad en terneros**

**Renata López Rodríguez**<sup>1</sup>, Patricio Retamal Merino<sup>1</sup>, Pedro Ábalos Pineda<sup>1</sup>, Valentina Villarroel Jerez<sup>1</sup>, Catalina Contreras Cortés<sup>1</sup>, Óscar Crespo López<sup>1</sup>, Nicolás Valdivieso Cariola<sup>2</sup>, Víctor Neira Ramírez<sup>1</sup>, Felipe Berríos Oyarzún<sup>1</sup>, Katherinne Orozco Bernal<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Medicina Preventiva, Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Av. Sta. Rosa 11735, La Pintana, Santiago, Chile

(2) Servicio Agrícola y Ganadero, Paseo Bulnes 140, Santiago, Santiago, Chile

La tuberculosis bovina es una enfermedad bacteriana, crónica, zoonótica y de distribución mundial provocada por *Mycobacterium bovis*. En la ganadería bovina de carne y leche provoca pérdidas económicas importantes. En Chile, a pesar del programa nacional de control y erradicación, existen zonas de alta prevalencia. Por ello, se ha planteado la vacunación con *M. bovis* BCG como alternativa para la prevención de la infección.

La vacuna atenuada *M. bovis* BCG es utilizada para el control de tuberculosis humana. Se ha demostrado que tiene la capacidad de inducir protección cruzada no específica contra infecciones secundarias provocadas por otros agentes patógenos, en base a una respuesta inmune innata conocida como "inmunidad entrenada". El efecto es una mayor capacidad de respuesta contra infecciones secundarias, mediante cambios epigenéticos y metabólicos. De esta forma, el objetivo de este trabajo es determinar efectos inespecíficos asociados a la vacunación con BCG, en la protección contra agentes patógenos relacionados a diarrea y mortalidad, en terneros de lecherías de la Región Metropolitana.

En tres planteles lecheros de Talagante y Melipilla se reclutaron terneros de hasta 30 días de edad, considerando un grupo inoculado con 0,1mL de la vacuna BCG *M. bovis* (n=111) y otro grupo no vacunado o control (n=111). Posteriormente a los 3 meses post inoculación, se recolectaron muestras de heces directo desde recto para la identificación de un panel de patógenos entéricos relevantes asociados a diarrea y mortalidad (*Salmonella* spp., rotavirus y *E. coli* STEC). La extracción de ADN y ARN se llevó a cabo mediante Kits comerciales, para luego ser detectados mediante PCR en tiempo real.

Como resultados preliminares, 53 (46,7%) muestras analizadas (n=114) fueron positivas al menos a uno de los patógenos en estudio. En el grupo vacunado se encontraron 3 (2,6%), 23 (38,5%) y 1 (1%) muestras positivas a rotavirus, *E. coli* STEC y *Salmonella* spp. respectivamente. En cambio, en el grupo control un total de 4 (3,51%), 23 (38,5%) y 0 muestras detectadas para cada agente.

Estos resultados sugieren que no hay diferencias significativas en la detección de patógenos, asociados a los posibles efectos inespecíficos inducidos por la vacuna BCG en terneros.

Keywords: *Mycobacterium bovis*, BCG, efectos inespecíficos, diarrea terneros

Financing: Proyecto Fondecyt 1221818.

Acknowledgments: Agradecimientos a Ángela Ortiz, Natalie Hultazo y María Isabel Stevenson que participaron de las salidas a terreno, vacunación y toma de muestras.



Tipo de presentación: Panel

**Antiviral response induced by andrographolide on Atlantic salmon macrophages infected by IPNV**

**Respuesta viral inducida por andrografólido en macrófagos de salmón Atlántico infectados por IPNV**

**Catalina Millán Hidalgo**<sup>1,2</sup>, Sergio Canales Muñoz<sup>1,2</sup>, Benjamin Ulloa Sarmiento<sup>1,2</sup>, Fernanda Brisso<sup>1,2</sup>, Mateus Frazão<sup>1,2</sup>, Daniela Toro Ascuy<sup>3</sup>, Sebastian Andres Reyes Cerpa<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Mayor, Centro de Genómica y Bioinformática, Laboratorio de Genómica microbiana e Inmunogenómica, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Camino la Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile

(2) Universidad Mayor, Escuela de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Ingeniería y Tecnología, Camino la Pirámide 5750, Huechuraba, Santiago, Chile

(3) Universidad de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile

Infectious pancreatic necrosis (IPN) is a highly transmissible disease distributed worldwide in fish farming centers. At present, the IPN virus is among the most persistent salmonid pathogens in Chile. During an IPN outbreak, mortality rates can vary from insignificant to almost 100%, and these differences have been related to environmental and host-related factors and immune evasion mechanisms developed by IPNV. One strategy to improve fish health is by applying functional feeds; their constituent compounds possess properties that confer fish protection. The functional feeds include supplements such as pre- and probiotics, vitamins, minerals, and fungal, plant, and algae extracts, most with several biological functions and immunostimulant properties. In this study, we have evaluated the expression of molecules involved in the antiviral response (IFN $\alpha$ , PKR, Mx, and viperin) by RT-qPCR in Atlantic salmon macrophage-like cell lines SHK-1 infected with IPNV by 120h and previously stimulated by 24h with 1  $\mu$ g/mL of andrographolide from *Andrographis paniculate*. Moreover, we have evaluated the viral load by quantification of copies of VP2 from total RNA on infection supernatants by qPCR.

As result, we observed that incubation with andrographolide for 24h in SHK-1 cells induces a slight increase in the expression of IFN $\alpha$  and viperin. On the other hand, in SHK-1 cells infected by 120h with IPNV and previously stimulated by 24h with 1  $\mu$ g/mL of andrographolide, we observed a strong increase of transcript expression of viperin compared to SHK-1 cells infected with IPNV for 120h and previously incubated by 24h only with the vehicle of andrographolide. Interestingly, the IPNV viral load detected by quantification of VP2 is reduced in SHK-1 incubated with andrographolide compared to infected cells in the absence of andrographolide, suggesting that andrographolide activated the antiviral response in SHK-1 cells infected by IPNV. In conclusion, andrographolide seems to induce a protective antiviral response against IPNV.

Keywords: macrophage, Atlantic salmon, antiviral response, IPNV

Acknowledgments: Maqui New Life for providing compounds.

Tipo de presentación: Panel

### **In vitro functional characterisation of potentially probiotic strains isolated from canine milk**

#### **Caracterización funcional in vitro de cepas potencialmente probióticas aisladas desde leche materna canina**

**Carolina Muñoz**<sup>1,2</sup>, Felipe Sandoval<sup>2</sup>, Jorge R. Toledo<sup>2</sup>, Sandra Quilodrán<sup>1</sup>

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Patología y Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias, Chillán, Chile

(2) Universidad de Concepción, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile

Múltiples evidencias sugieren que la administración de probióticos en caninos modula favorablemente la salud de tanto animales sanos, como de animales con patologías como diarrea aguda, enteropatía crónica, entre otros. No obstante, la mayoría de estos estudios considera la utilización de cepas de uso en humanos y se desconocen los mecanismos de acción involucrados. Por otro lado, diversos estudios han sugerido que los probióticos pueden tener un efecto beneficioso mayor sobre la modulación de la barrera intestinal y del sistema inmunológico cuando dichos microorganismos son aislados del mismo huésped en el cual se los va a administrar. Por lo tanto, en el presente trabajo se propuso estudiar la función probiótica en modelos celulares de dos cepas de bacterias ácido lácticas, aisladas previamente desde leche materna canina: Cepa 16 y Cepa 17. Para ello, se generaron lotes de distintas formulaciones prototipo a partir de las dos cepas seleccionadas, mediante microencapsulación por liofilización. Luego, se evaluó el posible efecto citotóxico de las cepas y las formulaciones mediante ensayos de MTT en modelos celulares caninos, y además se analizó la adherencia de las bacterias a células epiteliales intestinales. Finalmente, se evaluó la función inmunomoduladora de las cepas en modelos celulares de macrófagos caninos, mediante ensayos de PCR en tiempo real. Los resultados mostraron que en general las distintas formulaciones de ambas cepas mantuvieron la viabilidad celular. Además, la adhesión de ambas cepas a las células intestinales aumentó significativamente con algunas formulaciones, siendo la Cepa 17 formulada con FOS-Inulina la condición que alcanzó un mayor porcentaje de adhesión (mayor al 90%). Finalmente, se observó que las Cepas 16 y 17 indujeron significativamente la expresión de citoquinas pro-inflamatorias como TNF- $\alpha$  e IL-8, así como también indujeron la expresión de reguladores negativos de la inflamación como A-20 y BCL-3. A partir de estos resultados se concluye que las formulaciones prototipo de ambas cepas podrían ser candidatas para su administración en perros y análisis de sus efectos *in vivo*, luego de más estudios que completen la caracterización funcional *in vitro*.

Keywords: Probiótico, Perro, Bacterias ácido lácticas, Inmunomodulación

Financing: FONDECYT Postdoctorado 3230216 y FONDEF IDEA ID20I-10114

Tipo de presentación: Panel

**Outer membrane vesicles (OMVs) of *Salmonella Typhi* (S. Typhi) generated in high osmolarity conditions, change their protective capacity against challenges with *Salmonella Typhimurium***

**Las vesículas de membrana externa (OMVs) de *Salmonella Typhi* (S. Typhi) generadas en condiciones de alta osmolaridad, modifican su capacidad protectora frente a desafíos con *Salmonella Typhimurium***

**Jan Christian Nevermann Schell<sup>1</sup>**, Ignacio Andrés Fuentes Cáceres<sup>1</sup>, Francisco Parra Lathrop<sup>1</sup>, Juan A. Fuentes Aravena<sup>1</sup>  
(1) Universidad Nacional Andrés Bello, Laboratorio de Genética y Patogénesis Bacteriana, Ciencias de la Vida, República 330, 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 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. 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. At the intestinal level, *S. Typhi* internalizes in epithelial cells by type 3 secretion system (T3SS) effector proteins, whose expression increases in presence of high osmolarity (0.3M), common in human intestine. It has been shown that in the presence of high osmolarity (HO), properties such as size and protein content change, and T3SS effectors are loaded on *S. Typhi*'s OMVs. We postulate that HO, could modify immunogenic characteristics of OMVs. To address this hypothesis, we generated OMVs of *S. Typhi* under normal laboratory conditions (NLC) and HO. Subsequently, we performed immunization assays and finally a challenge with *Salmonella Typhimurium*. We demonstrated that OMVs properties such as protein and LPS content are modified in the presence of high osmolarity, and that T3SS factors are enriched in OMVs in this condition. On the other hand, there is synthesis of specific antibodies for *S. Typhi* proteins. However, protection generated by *S. Typhi* OMVs synthesized in the presence of HO was diminished compared to OMVs generated under laboratory conditions. It is worth mentioning that unlike other serovars, such as *Salmonella Typhimurium*, whose infection is characterized by causing intestinal inflammation and diarrhea in humans, *S. Typhi* does not produce such symptoms at this level. We infer that *S. Typhi*'s OMVs cargo produced in the presence of high osmolarity, modifies immune system, decreasing immune protection. To corroborate this second hypothesis, further experiments are needed.

Keywords: Outer membrane vesicles, *S. Typhi*, Cross protection, High osmolarity

Financing: FONDECYT REGULAR 1220584

Acknowledgments: FONDECYT REGULAR 1220584

Tipo de presentación: Panel

### **Identification of Salmonella Infantis phages in animal production systems in different localities of Chile**

### **Identificación de fagos de Salmonella Infantis en sistemas productivos animales de diferentes localidades de Chile**

**Maria Ignacia Quiroz**<sup>1</sup>, Benjamin Peña<sup>1</sup>, Andrea Moreno-Switt<sup>1</sup>, Dacil Rivera<sup>1,2</sup>

(1) Escuela de Medicina Veterinaria, Pontificia Universidad Católica de Chile, Laboratorio de Microbiología, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Facultad de Ciencias Biológicas, Facultad de Medicina, 7820435 Macul, Región Metropolitana. Campus San Joaquín, Santiago, Chile

(2) Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias de la Vida, Republica 440, Santiago, Chile

**Contexto:** *Salmonella* Infantis (SI) es un serotipo emergente en Chile, ya que en los últimos años se ha descrito un aumento de su prevalencia en aves y en casos clínicos de seres humanos, con una preocupante resistencia a múltiples antimicrobianos SI (MDR). Actualmente se sabe que SI circula en sistemas de aves productoras de carne, pero se desconoce su presencia en otros sistemas productivos que potencialmente podrían interactuar con seres humanos. Entonces los bacteriófagos o fagos (virus identifican e infectan específicamente bacterias), pueden aportar información sobre la circulación de SI, considerando que se ha demostrado su ubicuidad en los mismos nichos ecológicos que ocupan sus bacterias hospederas. Por lo que, el objetivo de este trabajo fue identificar la presencia de fagos desde muestras de material fecal de animales de 4 diferentes sistemas productivos animales.

**Métodos:** Fueron analizadas 99 muestras obtenidas desde 4 sistemas productivos animales con cercanía a población humana: i) aves de traspatio; ii) aves silvestres; iii) ovejas y camélidos sudamericanos de comunidades indígenas; iv) reptiles zoológicos. La muestras fueron analizadas por técnica de screening spot-test e overlay utilizando 4 diferentes SI aisladas de Chile desde casos humanos, aguas y animales pertenecientes a linajes primitivos y nuevos de SI.

**Resultados:** El primer resultado interesante fue que el aislamiento de fagos, que sólo resultó exitoso al utilizar cepas de SI de diferentes linaje que circulan en Chile, por lo que solo al aumentar la diversidad del hospedero se pudieron obtener fagos. Se identificaron los siguientes fagos líticos desde los sistemas seleccionados: en traspatio de aves 24/27; aves silvestres 18/26 mientras que en el caso de los sistemas productivos de ovejas y camélido sudamericanos fueron: 25/25 y reptiles del zoológico 12/21. Estos resultados son de gran relevancia científica ya que indican que los fagos que se están aislando tienen potencial para el biocontrol y detección de linajes de SI antiguo y de los nuevos linajes.

**Conclusión:** Este trabajo aporta interesante información en cuanto a la circulación de SI en sistemas productivos animales y su posible utilización futura para el biocontrol de SI-MDR.

**Keywords:** *Salmonella* phage, *Salmonella* Infantis, *Salmonella* en animales

**Financing:** Este trabajo fue apoyado por la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo a través de: i) VIU22P0058 a DRO, ii) FONDECYT 1181167 a AIMS

Tipo de presentación: Panel

**Isolation and characterization of potentially probiotic strains, as a beneficial dietary supplement for salmonids**

**Aislamiento y caracterización de cepas potencialmente probióticas, como suplemento dietético beneficioso para salmónidos**

**Alexandra Salazar**<sup>1</sup>, Catalina Carrasco<sup>1</sup>, Cristian Parra<sup>1</sup>, Apolinaria Garcia<sup>1</sup>, Paulina Aguayo<sup>1,2,3</sup>, Victor Campos<sup>1</sup>

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad Ciencias Biológicas, Barrio Universitario S/N, Concepcion, Chile

(2) Universidad de las Americas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Chacabuco 539, Concepción, Chile

(3) Universidad de Concepcion, Facultad de Ciencias Ambientales/ EULA-CHILE, Concepción, Chile

La salmonicultura en Chile produce diferentes especies de salmónidos bajo un sistema de producción intensivo, caracterizado por una gran biomasa cultivada junto con altas densidades de peces por unidad de volumen de agua. Este tipo de producción contribuye a aumentar la prevalencia de patógenos y a aumentar sus tasas de contacto con los huéspedes, con el consiguiente riesgo de enfermedades y estrés crónico en la población de salmónidos. Una alternativa son los probióticos, "microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del huésped", disminuyendo el estrés, mediante la modulación del sistema nervioso a través de la generación GABA (Gamma Aminobutyric Acid)), brindando además beneficios para la salud como la reducción de la prevalencia de enfermedades. El objetivo del trabajo fue aislar y caracterizar una cepa láctica, que presenten el gen GABA, desde sistema gastrointestinal de *Salmo Salar*. Las cepas bacterianas fueron aisladas desde el contenido intestinal de salmónes de cautiverio, las cuales fueron sembradas en medio MRS e incubadas a 37°C en condiciones de microaerofilia. Las cepas aisladas fueron caracterizadas mediante pruebas probióticas tanto de funcionalidad como de seguridad. Además, se detectó la presencia del gen Gad1 mediante PCR, el cual codifica para la enzima GAD, que cataliza la síntesis del neurotransmisor GABA. 53 cepas bacterianas fueron aisladas desde sistema gastrointestinal del *Salmon*. 15 cepas bacterianas presentaron características probióticas como susceptibilidad antibiótica, formación de biopelícula, actividad antibacteriana y baja actividad hemolítica, entre otras. Solo dos cepas bacterianas (Lac-52 y Lac-55) presentaron la presencia del gen Gad1. Los resultados preliminares sugieren que tanto la cepa Lac-52 y Lac-55, son cepas probióticas y podrían ser una potencial alternativa como suplemento nutricional para salmónes con mejor facilidad de implementación y reducido impacto ambiental.

Keywords: Cepas lacticas, Psicobioticos, piscicultura, salmónes, probioticos

Tipo de presentación: Panel

### **Isolation and Characterization of Antarctic Coronavirus with Potential Impact on the Poultry Industry**

### **Aislamiento y Caracterización de Coronavirus Antártico con Potencial Impacto en la Industria Avícola**

**Camila Soto Coña**<sup>1</sup>, Camila Ortega<sup>1</sup>, Leonardo Almonacid<sup>2,3</sup>, Catalina Pardo<sup>2,3</sup>, Gonzalo Barriga Pinto<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Virología, Laboratorio de Virus Emergentes, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Department of Child and Adolescent Health, School of Nursing, Facultad de Medicina, Santiago, Chile.

(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Department of Pediatric Infectious Diseases and Immunology, School of Medicine, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

El continente Antártico es conocido por ser climáticamente extremo y albergar una avifauna particular, destacando entre ellas, los pingüinos del género *pygoscelis*. Su rol, de hospedero o reservorio, para los patógenos virales identificados en esta zona aún se desconoce. A la fecha, solo existen algunos estudios enfocados en influenza virus o en identificación de genomas utilizando técnicas de secuenciación masiva, mas no la caracterización de estos.

Durante el año 2022, detectamos la presencia de coronavirus en hisopados cloacales de pichones de *pygoscelis papua* sin signos de enfermedad. Logramos aislar el virus en sistema de huevos embrionados de Gallina, donde identificamos múltiples alteraciones en los embriones, sugiriendo su potencial impacto en esta especie, reforzando la importancia de vigilar en climas extremos la presencia de virus emergentes, con el fin de prevenir a la industria avícola a nivel nacional.

Para ello, se realizaron infecciones en embriones de 9 días con diferentes cargas virales del coronavirus aislado, revelando su alta patogenicidad, ya que la mortalidad embrionaria alcanzó el 80%, rápidamente dentro de 24 a 48 horas, independiente del volumen de inoculación. A la necropsia, se mostraron lesiones leves, retraso del crecimiento en más de la mitad de embriones, e incluso lesiones tan graves que no permitieron una medición fiable. Posteriormente, el virus fue sometido a temperaturas entre -80°C y 56°C para evaluar la resistencia a esta variable y la integridad de la partícula viral, sin embargo, los resultados obtenidos indicaron que no es un factor relevante durante el proceso infeccioso, logrando su replicación exitosa, medida indirectamente a través de la muerte de casi la totalidad de embriones. Finalmente, se realizó una secuenciación parcial del virus aislado utilizando Nanopore, presentando una similitud del 90% con la única secuencia descrita de un Deltacoronavirus aviar detectado en un viroma antártico de garrapata de pingüino publicado por Wille *et al.* 2020.

Este es el primer aislamiento de un Deltacoronavirus antártico muestreado desde pingüinos con alto potencial patogénico en gallinas ponedoras. La resistencia a temperaturas extremas debido a su adaptación evolutiva según su huésped, refuerzan la importancia de la vigilancia viral en lugares aislados como la Antártica Chilena.

Keywords: Coronavirus Antártico, Deltacoronavirus, Pygoscelis Papua, Patogenia, Avicultura

Financing: Fondecyt Inicio 11200228 e Instituto Antártico de Chile (INACH) RT-3519

Acknowledgments: Mis agradecimientos al equipo del laboratorio de virus emergentes por el trabajo de recolección de muestras, y a Catalina Pardo con Leonardo Almonacid por su colaboración en secuenciación.

Tipo de presentación: Panel

**Gamma delta T cells estimation in the adventitial layer of non-fertile cystic echinococcosis cyst in cattle with or without *Fasciola hepatica* co-infection**

**Gamma delta T cells estimation in the adventitial layer of non-fertile cystic echinococcosis cyst in cattle with or without *Fasciola hepatica* co-infection**

**Caroll Stoores**<sup>1</sup>, Soledad Baquedano<sup>1</sup>, Christian Hidalgo<sup>3</sup>, Claudio Cabello-Verrugio<sup>2</sup>, Rodolfo Paredes<sup>1</sup>

(1) Universidad Andres Bello, Laboratorio de Medicina Veterinaria, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, República 440, Santiago, Chile

(2) Universidad Andres Bello, Laboratory of Muscle Pathology, Fragility and Aging, Department of Biological Sciences, Faculty of Life Sciences, Santiago, Chile

(3) Universidad de las Américas, Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinaria Agronómicas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, República 71, Santiago, Chile

Cystic Echinococcosis (CE) is zoonotic parasitological disease caused by the larval stage (CE cyst) of the tapeworm *Echinococcus granulosus sensu lato*. By unknown reasons most of the CE cyst found in cattle are non-fertile, and thus unable to continue with the parasite life cycle. Cattle are also highly parasitized by *Fasciola hepatica*, that is known to modulates the host immune response affecting the response to other co-infecting pathogens.  $\gamma\delta$  T cells are a subtype of CD3+ cells that unlike conventional  $\alpha\beta$  T cells, participate in both innate and adaptive immune responses. In cattle these cells play an important immune role. As  $\gamma\delta$  T cells are known to participate in the granulomatous immune responses and non-fertile CE cysts local immune responses are characterized as such, it is necessary to study  $\gamma\delta$  T population and association with *Fasciola hepatica* co-infection. We obtained non-fertile CE cyst samples and tissue controls from cattle with or without *Fasciola hepatica* co-infection within official abattoirs. CE-cyst were processed for parasite DNA extraction for parasite genotyping and then frozen in nitrogen chilled isopentane for the obtainment of cyst wall sections by cryostat. To examine  $\gamma\delta$  T cells within the adventitial layer, single immunohistochemistry and double indirect immunofluorescence was performed in *Echinococcus granulosus sensu stricto* positive samples targeting  $\delta$ TCR and CD3. Location and distribution of immunohistochemistry positive cells were observed and photographed using a brightfield microscope. Immunofluorescence images were taken with a confocal microscope and single positive and double cells were counted manually using Image J software. Approximately 21% of CD3+ cells in the adventitial layer of non-fertile CE cysts are  $\gamma\delta$  T cells. These cells were distributed in both the inflammation and fibrous zone within the adventitial layer of all CE cyst samples. The proportion of  $\gamma\delta$  T cells within CD3+ population does not differ between zones. Regarding *Fasciola hepatica* co-infection,  $\gamma\delta$  T cells are 27% of CD3+ in non-co-infected animals and the proportion lowers to 17% with co-infection. We conclude that  $\gamma\delta$  T cells are an important population of cells within the adventitial layer of CE cyst and their presence is altered by *Fasciola hepatica* co-infection.

Keywords: Cystic Echinococcosis, Hydatid cyst, Fascioliasis,  $\gamma\delta$  T cells, Polyparasitism

Financing: Fondecyt 1231620

Tipo de presentación: Panel

### Evaluation of the biological activities of peptides from epidermal mucus of marine fish species of Chilean aquaculture

### Evaluación de las actividades biológicas de péptidos identificados en el mucus epidérmico de los peces marinos de interés acuícola para Chile

**Teresa Toro**<sup>1</sup>, Belinda Vega<sup>2</sup>, Paula Santana<sup>3</sup>, Fanny Guzmán<sup>4</sup>, Fernando Albericio<sup>5</sup>, Héctor Flores<sup>6</sup>, Juan Pablo Cumilaf<sup>7</sup>, Claudio Álvarez<sup>2</sup>, Constanza Cardenas<sup>4</sup>

(1) Universidad Católica del Norte, Departamento de Biología Marina, Facultad de Ciencias del Mar, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

(2) Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas, Laboratorio de Fisiología y Genética Marina (FIGEMA), Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

(3) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Químicas Aplicadas, Av. El Llano Subercaseaux 2801, Santiago, Chile

(4) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Nucleo de Biotecnología Curauma, Avenida Universidad 330, Valparaíso, Chile.

(5) Universitat de Barcelona, Parc Científic de Barcelona,, Barcelona, España

(6) Universidad Católica del Norte, Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

(7) CRC Innovación SpA, Puerto Montt, Chile

En los peces, la piel es una barrera fisicoquímica que posee moléculas encargadas de la primera defensa del pez frente a patógenos oportunistas. De esta manera, el mucus secretado por peces marinos puede contener compuestos con diferentes actividades biológicas, destacándose a los péptidos de defensa del hospedero (HDP, de sus siglas en inglés). En esta investigación, se estudió la actividad antimicrobiana de HDP obtenidos desde extractos peptídicos de mucus epidérmico de dos especies de peces de interés acuícola para el norte de Chile *Seriola lalandi* y *Seriola violacea*, con el fin de categorizar y evaluar su capacidad antibacteriana y antiparasitaria. Para ello, se realizó una extracción de péptidos desde muestras de mucus epidérmico de juveniles de ambas especies, utilizando estrategias de purificación cromatográficas. Luego, mediante un análisis peptidómico, se logró obtener su secuencia aminoacídica a través de espectrometría de masas utilizando la estrategia secuenciación de novo. Para analizar la actividad de las secuencias identificadas, los péptidos fueron producidos por síntesis química en fase sólida utilizando la estrategia Fmoc-Tbu. Los resultados de un primer estudio antibacteriano contra *Escherichia coli* y *Vibrio anguillarum* a una concentración de 100 µM, permitió seleccionar a los cuatro péptidos que presentaron mayor actividad, con los cuales posteriormente se determinó su concentración mínima inhibitoria (MIC) frente a otra cepa del género *Vibrio* (*Vibrio ordalli*) y la concentración efectiva (EC<sub>50</sub>) contra el ectoparásito *Caligus rogercresseyi*. Los resultados muestran que el mucus de peces marinos nativos poseen moléculas con interesantes actividades antimicrobianas que les permiten hacer frente a patógenos oportunistas, y podrían ser potenciales indicadores del estado de salud de especies acuícolas de interés para la zona norte de Chile.

Keywords: peptides, antibacterial, antiparasitic, fish epidermal mucus

Financing: FONDECYT 1210056



Tipo de presentación: Panel

### **Development of an Antiserum Against IgY of *Pygoscelis papua* for Serological Diagnosis**

### **Desarrollo de un Antisuero Contra IgY de *Pygoscelis papua* para Diagnóstico Serológico**

**Scarlet Ubeda<sup>1</sup>**, Camila Coña<sup>1</sup>, Gabriel Zamora<sup>1</sup>, Gonzalo Barriga Pinto<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Facultad de Medicina, Departamento de Virología, Laboratorio de Virus Emergentes, Facultad de Medicina Campus Norte, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile

En las últimas décadas, nuestro planeta ha sido testigo de transformaciones significativas, principalmente atribuibles al cambio climático. Este fenómeno ha dado lugar a alteraciones en la biodiversidad de múltiples regiones, desencadenando impactos que trascienden los límites ambientales para afectar esferas como la salud pública, la economía y la política.

En este contexto, se han identificado puntos críticos donde la interacción entre especies migratorias y endémicas se ha intensificado, con consecuencias tanto para las dinámicas ecológicas como para la salud de estos animales. Esta situación ha generado un potencial riesgo sanitario al permitir que patógenos penetren en ecosistemas previamente aislados. En el ámbito nacional, la llegada de la cepa altamente patógena de influenza aviar H5N1, ha despertado preocupaciones, ocasionando la muerte de una cantidad alarmante de animales marinos. Según el último reporte de SERNAPESCA, al 28 de julio, se registran 18.882 muertes, de los cuales 2.493 corresponden a pingüinos, destacando que aún no se tienen registros de este virus en Antártica.

Dentro de este panorama, el diagnóstico de enfermedades en la vida silvestre se vuelve más evidente y a la fecha no contamos con herramientas para identificar contra qué patógenos han sido desafiados los pingüinos antárticos. Por esta razón desarrollamos una alternativa económica funcional para un amplio número de patógenos en pruebas diagnósticas, especialmente la técnica ELISA. Se colectaron sueros provenientes de pingüinos de papúa durante las expediciones antárticas 2022 y 2023, purificamos inmunoglobulinas IgY de pingüino, permitiendo la producción de anticuerpos policlonales obteniendo una concentración 4 miligramos/ml a partir de gallinas ponedoras. Cabe destacar que la pureza tanto de las inmunoglobulinas del pingüino como de los anticuerpos obtenidos de los huevos se determinaron mediante técnicas como la electroforesis SDS-PAGE y el Western blotting.

Nuestro objetivo a mediano plazo es utilizar estos anticuerpos para adaptar pruebas comerciales de ELISA, de modo que puedan ser extrapoladas a los patógenos que circulan en pingüinos de la Antártica. Este enfoque novedoso promete una herramienta crucial en la vigilancia y el diagnóstico de enfermedades en la fauna silvestre del continente blanco.

**Keywords:** protein purification, *Pygoscelis papua*, penguins, antibody

**Financing:** Instituto Antártico Chileno RT-3519, Fondecyt Inicio 11200228

**Acknowledgments:** Agradecimientos al equipo de Laboratorio de Virus Emergentes, a mi familia, novio y amigos que me han acompañado en este proceso académico

Tipo de presentación: Panel

**Effects vaccination in calves with the BCG strain of *Mycobacterium bovis* related to the detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC)**

**Efecto de la vacunación de terneros con la cepa BCG de *Mycobacterium bovis* en la detección de *Escherichia coli* productora de toxinas Shiga (STEC)**

**Valentina Villarroel Jerez<sup>1</sup>, Renata López Rodríguez<sup>1</sup>, Patricio Retamal Merino<sup>1</sup>, Oscar Crespo López<sup>1</sup>, Angela Ortiz Chavez<sup>1</sup>, Natalie Hultazo Bey<sup>1</sup>, Catalina Contreras Cortés<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Chile, Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Av. Sta. Rosa 11735, La Pintana, Santiago, Chile

Existen diversas enfermedades infecciosas causadas por bacterias que afectan a bovinos, produciendo pérdidas materiales y económicas en el sector ganadero. Debido a esto, se ha implementado la vacunación con la cepa BCG de *Mycobacterium bovis* para la prevención de la tuberculosis bovina en predios con alta prevalencia en Chile central. También se han reportado efectos no específicos de esta vacuna, relacionados principalmente a la protección cruzada frente a otros patógenos. En ese sentido, *Escherichia coli* productora de toxinas Shiga (STEC) es un patógeno transmitido por alimentos que afecta tanto a humanos como a bovinos en edad temprana, pudiendo provocar diarrea e incluso la muerte. Los bovinos son el principal reservorio de la bacteria, por lo que pueden ser focos de la infección en personas. El objetivo de este trabajo es determinar el efecto inespecífico de la vacunación con la cepa BCG de *M. bovis* en la tasa de detección de *E. coli* STEC en lecherías de la Región Metropolitana. Para ello, se vacunaron 123 terneros machos recién nacidos con una dosis de BCG vía subcutánea y se consideró un total de 110 animales para conformar el grupo control no vacunado. Luego, se tomaron muestras de heces directamente del recto de los animales al cumplir los 3 meses de edad, las cuales se sometieron a aislamiento bacteriológico y PCR múltiple para la detección de genes de virulencia asociados a STEC (*stx1*, *stx2* y *eae*), siendo los resultados analizados mediante la prueba de  $\chi^2$  cuadrado. Los resultados sugieren que no existe una diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre los grupos control y vacunado. Se concluye por tanto que la vacunación con BCG no genera cambios en la presencia de STEC en terneros criados bajo condiciones productivas de lecherías de la zona central de Chile.

Keywords: *Escherichia coli* STEC, Vacuna BCG, Efectos inespecíficos, Chile.

Financing: Proyecto Fondecyt 1221818

Acknowledgments: Este trabajo fue posible gracias al apoyo de mi familia, amigos, compañeros de laboratorio y terreno quienes estuvieron acompañándome en todo momento. Finalmente agradecer profundamente al Dr. Patricio Retamal.

Tipo de presentación: Panel

**Detection and subtyping of Influenza A and Coronavirus in *Arctophoca gazella***

**Detección y subtipificación de Influenza A y Coronavirus en *Arctophoca gazella***

**Gabriel Z. Zamora**<sup>1</sup>, Catalina Pardo-Roa<sup>2,3</sup>, Camila Ortega<sup>1</sup>, Luis Lizama<sup>1</sup>, Gonzalo P. Barriga<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Laboratorio de virus emergentes, Programa de Virología, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Salud del Niño y del Adolescente, Escuela de Enfermería, Facultad de Medicina, Lira 40, Santiago, Chile

(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Lira 40, Santiago, Chile

La Antártida, el continente más austral y extremo de la Tierra, se caracteriza por su aislamiento geográfico y condiciones climáticas extremas, la cual, alberga una fauna diversa y única adaptada a su entorno desafiante. Sin embargo, el conocimiento sobre la diversidad viral y los patógenos zoonóticos presentes en la Antártida es limitado. Si bien algunos estudios han examinado agentes infecciosos en aves y mamíferos marinos, la investigación sobre virus en el lobo fino antártico (*Arctophoca gazella*) es aún incipiente. La detección y monitoreo de virus son esenciales para comprender y preservar los frágiles ecosistemas antárticos. Ejemplos recientes, como el brote de influenza aviar H5N1, que inicialmente afectaba a aves y luego se volvió transmisible a mamíferos acuáticos o la pandemia del virus zoonótico SARS-CoV-2, han demostrado cómo los virus pueden alterar drásticamente los equilibrios biológicos y tener impactos en cascada en los ecosistemas.

Para detectar y caracterizar los virus en *Arctophoca gazella*, se usó qRT-PCR dirigidos a la búsqueda de Influenza A y Coronavirus en muestras ambientales de heces tomadas en Isla Larga, en la península Antártica. Además, se secuenciaron las muestras para sub-tipificar los virus identificados. Esta metodología permitió una identificación de los virus (coronavirus e influenza) presentes en las muestras.

Los resultados revelaron la presencia de muestras positivas tanto para el virus de la influenza A como para el coronavirus en poblaciones de *A. gazella*. Estos detección sugiere que el lobo fino sería un hospedero para otros influenza virus, siendo relevante la vigilancia y búsqueda de influenza de alta patogenicidad, ya que sugieren una exposición y posible infección en estos mamíferos, lo que plantea preguntas sobre las fuentes de estos virus en el ambiente antártico y sus posibles impactos en la salud de la fauna y en la dinámica ecológica.

En conclusión, la detección de influenza A y coronavirus en el lobo fino antártico subraya la importancia de un monitoreo constante de la salud de la fauna en la Antártida y su potencial para desencadenar desequilibrios ecológicos resaltan la necesidad de investigaciones continuas y estrategias de conservación adaptativas.

Keywords: Influenza A, Coronavirus, Lobo marino Antártico, Antártica

Financing: Instituto Antártico Chileno RT-3519Fondecyt Inicio 11200228

Tipo de presentación: Panel

### **Development of a prototype vaccine against Piscine Reovirus (PRV)**

#### **Desarrollo de un prototipo vaccinal contra Piscine orthoreovirus (PRV)**

**claudia galleguillos**<sup>1</sup>, Marcelo Cortez<sup>1</sup>, Yesseny Vássquez<sup>1</sup>, Matías Cárdenas<sup>1</sup>, Tomás Cancino<sup>2</sup>

(1) Universidad de Santiago de Chile, Biología, Química y Biología, USACH, Estación Central, Chile

(2) Veterinaria SA, Investigación y Desarrollo, Santiago, Chile

Uno de los patógenos virales considerado como emergente en la producción del salmón es el *Piscine Orthoreovirus* PRV, alcanzando un 100 % de prevalencia de la infección en centros de cultivo. La patología causada por PRV es denominada HSMI y se ha ubicado entre las 10 causas más importantes de mortalidad en países productores de salmones, entre ellos Chile. La producción de antígenos con potenciales usos vaccinales se ha visto limitada debido al impedimento de cultivar este virus. No obstante, la opción de utilizar la tecnología del DNA recombinante abre un camino para la producción de antígenos vaccinales, mediante la expresión de proteínas virales estructurales de PRV-1. Por otro lado la alta prevalencia de este virus dificulta el seguimiento de la respuesta humoral de peces vacunados respecto a los peces naturalmente infectados. Así este trabajo de investigación se enfocó en el desarrollo de un prototipo vaccinal formulado con proteínas recombinantes modificadas de PRV, con capacidad de generar una respuesta inmune humoral específica que permita distinguir la respuesta de los animales vacunados.

En una primera etapa se obtuvieron seis proteínas recombinantes de PRV además de una proteína modificada utilizando el sistema de expresión de baculovirus y células de insecto. Posteriormente, se realizaron ensayos de coinfección con baculovirus recombinantes para la posterior detección simultánea de las proteínas. Luego, el extracto celular de coinfección obtenido fue utilizado en la formulación de un prototipo vaccinal para realizar ensayos de inmunización en trucha arcoíris y determinar la producción de anticuerpos específicos generados contra proteínas virales. Adicionalmente se realizaron ensayos de expresión génica de genes relacionados con la respuesta inmune innata antiviral.

Luego de los ensayos de coinfección fue posible inmunodetectar las proteínas recombinantes de PRV generadas. Posteriormente, tras los ensayos de inmunización fue posible determinar que el prototipo vaccinal formulado con la proteína modificada generó una respuesta inmune humoral específica que permitió distinguir a los peces vacunados con esta formulación. En relación con la respuesta inmune analizada a nivel de transcritos fue posible observar un incremento en la expresión génica de genes relacionados con la respuesta inmune innata antiviral.

Keywords: Piscine orthoreovirus, vaccine, salmon

Acknowledgments: Este trabajo de investigación fue financiado por la Dirección de Gestión Tecnológica de la Universidad de Santiago de Chile y por la Asociación Nacional de Investigación y Desarrollo del Gobierno de Chile.

Tipo de presentación: Panel

**Expression of an endogenous parvoviral element cloned from the chinchilla (*Chinchilla lanigera*) genome**

**Expresión de un elemento parvoviral endógeno clonado desde el genoma de la chinchilla (*Chinchilla lanigera*)**

**Pablo Abufom<sup>1</sup>**, Gloria Arriagada<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Echaurren 183, Santiago, Chile

Los Elementos Virales Endógenos (EVEs) son secuencias de ADN provenientes de genomas, genes o fragmentos de genes virales que se han integrado en el genoma de otros organismos. Se ha planteado que podrían ser considerados registros fósiles de infecciones virales ocurridas hace millones de años, y se ha demostrado que en algunos organismos estos elementos virales tienen funciones biológicas. Los elementos parvovirales endógenos (EPV) son aquellos que derivan de la infección por parvovirus y están altamente representados en el genoma de los mamíferos. En el genoma de la chinchilla de cola larga (*Chinchilla lanigera*) se describió la presencia de un EPV denominado CL4-enRep, que posee un marco de lectura abierto y podría codificar para una proteína de 472 aminoácidos, derivada del gen que codifica para la proteína no estructural (Rep) del virus adenoasociado 2 (AAV2). Este estudio se propuso clonar CL4-enRep, para caracterizar la proteína putativa, en términos de su expresión y localización subcelular en un sistema heterólogo.

A partir de DNA genómico de chinchilla, se amplificó la secuencia codificante para CL4-enRep mediante PCR. CL4-enRep fue clonado en un vector de expresión lentiviral, con epítipo FLAG, el que permite la expresión de FLAG-CL4-enRep y la generación de líneas celulares que lo expresen de forma estable. Desde estas células estables se realizaron ensayos de Western Blot e inmunolocalización usando un anticuerpo anti-FLAG.

Se encontró que células de ratón NIH3T3 que expresan de forma estable FLAG-CL4-enRep presentan una banda única en el tamaño esperado en ensayos Western Blot con el anticuerpo anti-FLAG, y que la proteína tiene localización nuclear. Análisis *in silico* de la secuencia aminoacídica indican la presencia de una señal de localización nuclear (RRPKSP) entre los aminoácidos 461 y 466.

CL4-enRep es un EPV intacto que se expresa en células NIH3T3 como proteína con localización nuclear.

**Keywords:** Parvovirus, Paleovirology, Endogenous Viral Elements, *Chinchilla lanigera*

**Financing:** Esta investigación es financiada por el programa de Apoyo a la realización de actividades de investigación en etapa de pregrado (APP) de la Universidad Nacional Andrés Bello (N°DI-12-23/APP) y el proyecto FONDECYT1220480

Tipo de presentación: Panel

**Epigenome under iron availability: A study from the perspective of the commensal pathogen *Enterococcus faecalis***

**Epigenoma frente a la disponibilidad de hierro: un estudio desde la perspectiva del patógeno comensal *Enterococcus faecalis***

**Victor Manuel Aliaga-Tobar**<sup>1,2</sup>, Sebastián Gómez<sup>1,2</sup>, Gabriel Gálvez<sup>1,2</sup>, Mauricio Latorre<sup>1,2,3</sup>

(1) Universidad de O'Higgins, Laboratorio de Bioingeniería, Instituto de ciencias de la ingeniería, Libertador Bernardo O'Higgins 611, Rancagua, Chile

(2) Universidad de O'Higgins, Centro de biología de sistemas para el estudio de comunidades extremófilas de relaves mineros, (SYSTEMIX), Libertador Bernardo O'Higgins 611, Rancagua, Chile

(3) Universidad de Chile, Laboratorio de bioinformática y expresión génica, INTA, El Líbano 5524, Santiago, Chile

La regulación transcripcional es comúnmente asociada con factores de transcripción y RNA no codificantes, pero otra importante capa es la metilación del DNA, donde las bases son químicamente modificadas para modular la afinidad de la maquinaria transcripcional. Estudios recientes han resaltado la significancia de las metilaciones bacterianas en varios procesos fisiológicos, incluyendo virulencia, motilidad y homeostasis de metales. Para especies patógenas como *Enterococcus faecalis*, la eficiencia en manejar fluctuaciones de iones de metales, particularmente el hierro, es crucial para prevenir toxicidad o inanición. En este estudio, investigamos los patrones de metilación en *E. faecalis*, un patógeno comensal y nosocomial asociado con infecciones persistentes. Nos centramos en tres condiciones específicas que imitan el ambiente del hospedero: i) déficit de hierro, ii) exceso de hierro, y iii) basal (control). Utilizando secuenciación de tercera generación, identificamos un total de 9,367 metilaciones a lo largo del genoma de *E. faecalis*. Estas metilaciones abarcaron tres tipos reportadas en especies bacterianas: 5mC, 4mC, and 6mA. Remarcablemente, 98% de las metilaciones se mantuvieron constantes entre todas las condiciones, lo que indica una notable estabilidad epigenómica. El 2% restante, correspondiente a patrones de metilación variables, se asoció con promotores de genes involucrados en el transporte y metabolismo de coenzimas, lo que sugiere un alcance más limitado de los efectos de metilación. El posterior análisis de datos transcriptómicos (RNA-seq) reveló una transcripción alterada para estos genes, lo que sugiere un potencial impacto por parte de las metilaciones. Sin embargo, se necesita más investigación para confirmar efectos directos. Este estudio proporciona la primera perspectiva de la epigenómica bacteriana bajo diferentes exposiciones al hierro en *E. faecalis*. Comprender el papel regulador de las metilaciones en respuesta a las condiciones de hierro arroja luz sobre cómo este patógeno se adapta al entorno del huésped, lo que podría conducir a avances en el manejo de infecciones persistentes.

Keywords: Metilaciones, *Enterococcus faecalis*, hierro, epigenómica

Financing: Centro de Modelamiento Matemático (CMM) BASAL ANID FB210005, ANID - Millennium Science Initiative Program - ICN2021\_044, Fondo Interdisciplinario Interno UOH, ANID FONDECYT 1230194, SYSTEMIX ANID ANILLO ACT210004. Beca ANID 21211367. Proyecto Post-doctorado N° 3220080.

Tipo de presentación: Panel

### **Detection of human papilloma virus in three wastewater treatment plants in the metropolitan region**

### **Detección de virus papiloma humano en tres plantas de tratamiento de aguas residuales de la región metropolitana**

**Manuel Ampuero<sup>1</sup>**, Julio Osorio<sup>2</sup>, Francisco Aguayo<sup>2</sup>, Aldo Gaggero Brillouet<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Programa de Virología, Laboratorio de Virología Ambiental, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Laboratorio de Virus Oncogénicos, Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile

La pandemia de COVID-19 presentó muchos desafíos para las unidades de salud pública que intentaban rastrear a personas infectadas mediante la realización de pruebas clínicas individuales en grandes poblaciones. Sin embargo, muchas personas no diagnosticadas, pero infectadas de manera asintomática, provocaron una propagación viral sustancial dentro de la población. La epidemiología basada en aguas residuales ha surgido como una herramienta para monitorear SARS-CoV-2 y otros virus en estas matrices complejas. Esta vigilancia ofrece información valiosa sobre la aparición y circulación a nivel comunitario de microorganismos que causan enfermedades infecciosas, incluidos los virus.

Se han identificado y caracterizado > 200 tipos de virus papiloma humano (VPH) y en base a la secuencia de la proteína de la cápside L1, se han dividido en géneros y especies. El género Betapapilomavirus ( $\beta$ -HPV), incluye 50 tipos virales que se agrupan en 6 especies diferentes y cuyo hospedero natural son los humanos. Las enfermedades asociadas con este género van desde verrugas a tumores malignos.

El objetivo del estudio fue pesquisar la presencia de  $\beta$ -HPV mediante una técnica de PCR, en muestras compuestas de aguas residuales efluentes de tres plantas de tratamiento de la ciudad de Santiago (La Farfana, El Trebal y La Higuera). De un total de 13 muestras mensuales analizadas hasta el momento, colectadas entre marzo a julio de 2023, se detectaron secuencias genómicas de  $\beta$ -HPV en 7 de ellas.

La detección de HPV en aguas residuales evidencia la real circulación del virus en una comunidad, donde la vigilancia clínica no cubre a toda la población. Sin embargo, se requieren más estudios sobre la circulación de HPV en las aguas residuales para obtener información sobre los tipos más prevalentes, su resistencia y viabilidad a los desinfectantes y otros compuestos presentes en esta matriz compleja, entre otros factores, para poder estimar el riesgo potencial de transmisión de HPV y otros virus oncogénicos, como son los poliomavirus, a través del agua. 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, puede servir como un sistema de alerta temprana.

Keywords: Epidemiología basada en aguas residuales, Virus papiloma

Financing: Proyectos Fondecyt 1181656, 1221033 y Anillo ATE 20007

Acknowledgments: Los autores agradecen a las empresas Aguas Andinas, ANAM y Sacyr, por el apoyo en la toma de las muestras de aguas residuales.

Tipo de presentación: Panel

**Detection, quantification and genotypification of SARS-COV-2 in the 'la Higuera' wastewater treatment plant in Lampa, Santiago, Chile**

**Deteccion, cuantificacion y genotipificacion de SARS-COV-2 en la planta de tratamiento de aguas residuales 'La Higuera' en Lampa, Santiago, Chile**

**Manuel Ampuero Martinez**<sup>1</sup>, Sofia Quintana<sup>1</sup>, Aldo Gaggero<sup>1</sup>

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

Desde el inicio de la pandemia, la detección del virus SARS-CoV-2 ha sido un desafío por la presencia de pacientes asintomáticos, altos costos del diagnóstico individual y la dificultad de mantener una infraestructura de diagnóstico a largo plazo. Esto produce inequidades en la detección y control del virus, especialmente entre los grupos de riesgo que carecen de acceso a servicios de salud.

Tanto pacientes sintomáticos como asintomáticos eliminan el virus a través de secreciones respiratorias y deposiciones. Varios países han demostrado que es posible detectar el genoma del SARS-CoV-2 en aguas residuales y utilizar esta información para desarrollar planes de vigilancia temprana.

Este estudio, permitió: detección, cuantificación y genotipificación del virus SARS-CoV-2 desde aguas residuales afluentes de la planta La Higuera, ubicada en la comuna de Lampa, Región Metropolitana, donde tributan aproximadamente 53,000 habitantes. Se analizaron 45 muestras, desde 08/2020 hasta 06/2023. La concentración viral se realizó mediante ultracentrifugación y posterior a la extracción de ácidos nucleicos, se realizó RT-qPCR utilizando el kit TaqPath COVID-19 CE-IVD-RT-PCR, que detecta los genes virales ORF1ab, S y N. Cada muestra también se genotipificó utilizando el kit TaqMan™ SARS-CoV-2 Mutation Panel de Applied Biosystems.

Se logró detectar el genoma de SARS-CoV-2 en el 100% de las muestras analizadas, incluso en períodos donde el Ministerio de Salud (MINSAL) no reportaba casos. En agosto de 2022, se cuantificaron  $1.6 \times 10^6$  copias genoma/litro. Se observó una correlación entre la carga viral encontrada en las aguas residuales y los casos activos reportados en la población, aunque en algunas ocasiones no hubo concordancia entre la cuantificación del genoma viral en las muestras de agua residual y los casos informados por el MINSAL a nivel comunal. Se genotipificaron con éxito el 100% de las muestras positivas, identificando todas las variantes reportadas a lo largo del tiempo.

La detección de altas cargas virales en momentos en que la positividad reportada de casos de COVID-19 era baja o nula, refuerza la utilidad de la vigilancia epidemiológica del agua residual como marcador predictivo de la circulación del virus en la población. Por lo tanto, esta herramienta puede servir como un sistema de alerta temprana.

Keywords: SARS-CoV-2, Vigilancia Genómica, Agua Residual, qRT-PCR, Genotipificacion

Financing: Proyectos Fondecyt 1181656 y Anillo ATE20007



Tipo de presentación: Panel

**The hantavirus Gn/Gc spikes: Molecular transitions during cell entry and transmission**

Eduardo A. Bignon<sup>1,3</sup>, **Gianina Arata**<sup>1</sup>, Esteban Rodríguez<sup>1,2</sup>, Gabriel Vergara<sup>1,2</sup>, Nicolás Muená<sup>1</sup>, Pablo Guardado-Calvo<sup>3</sup>, Félix A. Rey<sup>3</sup>, Nicole Tischler<sup>1,2</sup>

(1) Fundación Ciencia & Vida, Centro Ciencia & Vida, Laboratorio de Virología Molecular, Santiago, Chile

(2) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Departamento de Ciencias Básicas, Santiago, Chile

(3) Structural Virology Unit, Virology Department, Institut Pasteur, CNRS UMR 3569, Paris, France

Hantaviruses are rodent-borne enveloped viruses from the *Bunyavirales* order that can cause severe diseases in humans. Their Gn/Gc spikes projecting from the viral envelope induce viral cell entry by receptor attachment and virus-cell membrane fusion in acidic endosomes. All viral fusion proteins must establish a balance between the stability of its pre-fusion conformation on the viral particle and the necessary switch to adopt its post-fusion form. At neutral pH, the Gn/Gc spike is highly dynamic at 37°C fluctuating between an open and closed conformation. When fusion is triggered at low pH, the conformational change is induced by ionizable residues. Structural studies have identified multiple critical Gn/Gc contact regions in the hantavirus spikes that include acid-sensitive residues. Expressing the hantavirus glycoproteins in mammalian cells to generate virus-like particles (VLPs), we have characterized multiple key residues, located in both; Gn and Gc, using techniques such as blue native PAGE, protease digestion assay, cell-cell fusion, liposome flotation, flow cytometry, among others. These residues include Gn His285 next to the  $\eta$ 1 loop. The substitution of His285 into Tyr reduced the Gn/Gc spike stability at neutral pH and lowered the pH required for its fusion activation suggesting its role as protonable switch. We also examined the role of His665 located at the N-terminal region of Gc interacting with domain III, keeping it in its prefusion position. When replacing His665 by Tyr, the fusion activity is lost but allows Gc homotrimerization in which Gc migrates with a larger volume compared to wild type suggesting that the post-fusion positioning of domain III is disrupted. Finally, the Gc Glu757/Asp759 residues form an acid-dependent carboxylate-carboxylic hydrogen bond necessary for structuring of the *bc* and *cd* fusion loops. These residues are being analyzed for their membrane partitioning at neutral an acidic pH. As a whole the results suggest a network of acid-sensitive residues necessary for both; the prefusion stability of Gn/Gc spikes and the low pH conformation of Gc.

Keywords: Hantavirus, Viral entry, Spike

Financing: ANID (Chile) grants FONDECYT 1221811 and Centro Ciencia & Vida BASAL FB210008 (Excellence Center)

Tipo de presentación: Panel

### **Seroepidemiology of human toxoplasmosis in the Los Lagos region, Chile**

### **Seroepidemiología de la toxoplasmosis humana en la Región de Los Lagos, Chile**

**Marco Antonio Barra Mora<sup>1</sup>**, Carolina Elizabeth Martin Bohle<sup>1</sup>

(1) Universidad Austral de Chile, Escuela Tecnología Médica, Sede Puerto Montt, Puerto Montt, Chile

La toxoplasmosis es una zoonosis causada por *Toxoplasma gondii*, el cual infecta aproximadamente a un tercio de la población mundial. En Chile, las seroprevalencias van aumentando en la medida que se avanza hacia el sur del país, en donde los estudios llegan hasta la región de Los Ríos, registrándose un 55,9% entre los años 2010 y 2012. La transmisión de este parásito al humano puede ser congénita, por consumo de alimentos contaminados con quistes o por ooquistes eliminados por los gatos al medio ambiente, por transfusión sanguínea y trasplante de órganos. Su infección puede producir daño en el sistema visual, aparato digestivo, corazón, músculo esquelético y sistema nervioso central donde se le ha asociado a enfermedades neurodegenerativas. Además, en el feto o recién nacido puede producir encefalopatías que pueden llevar a la muerte o producir abortos. Factores socioeconómicos, ambientales y socioculturales se asocian a esta infección. El objetivo de este estudio fue describir la seroepidemiología de la toxoplasmosis en población urbana y rural de la X región de Los Lagos. Se realizó un estudio de tipo observacional, descriptivo de corte transversal en 20 personas de sectores urbanos y rurales de la X región a quienes se les aplicó una encuesta epidemiológica sociodemográfica y se determinó la presencia de anticuerpos inmunoglobulina G anti *T. gondii* mediante la técnica de ELISA. Del total de personas, 5 fueron seropositivas correspondiendo a un 25%, los que se encontraban entre los 61 y 86 años, todos vivían en el sector rural y el mayor número de seropositivos fue de sexo femenino (60%). Además, del total de las personas seropositivas el 60% presentaba hipertensión arterial, el 100% no practicaba ningún tipo de actividad física, la mayoría corresponde a personas jubiladas (60%) y el 80% presentó algún grado de depresión. La seroprevalencia de infección estuvo distribuida exclusivamente en el sector rural, el no practicar ningún tipo de actividad física y presentar algún grado de depresión fueron las variables más frecuentemente relacionadas con la seroprevalencia de infección. Es necesario realizar más estudios para determinar la distribución y epidemiología de la toxoplasmosis en nuestro país.

Keywords: Toxoplasmosis, seroprevalencia, factores sociodemográficos, *Toxoplasma gondii*

Tipo de presentación: Panel

### **Viral replication of the human respiratory syncytial virus and the role of DDX3X**

#### **Replicación viral del virus sincicial respiratorio humano y el rol de DDX3X**

**Cristian Bastias**<sup>1</sup>, Joseline Catrileo<sup>1</sup>, Tomás Hernandez-Díaz<sup>1</sup>, Monica Acevedo<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Laboratorio de Virología Molecular y Celular, Programa de Virología, Facultad de medicina, Avenida Independencia 1027, Santiago, Chile

DDX3X is a member of the DEAD-box RNA helicase family and plays vital roles in viral replication. DDX3 is involved in different levels of RNA metabolism and influences the replication of various viruses, including an unclear role in the human respiratory syncytial virus (HRSV). HRSV is a major cause of bronchiolitis and pneumonia, affecting various vulnerable populations including infants. During the HRSV replication, the virus triggers the formation of inclusion bodies (IBs), highly dynamic biomolecular condensates specialized for genomic RNA and viral mRNA synthesis. The influence of DDX3X on the formation of IBs is unknown. Through the infection of HRSV in A549 cells, genomic RNA and mRNA were analyzed using RT-qPCR and, DDX3 and viral proteins were detected through Western blot. The IBs were detected by immunofluorescence of infected cells and visualized using confocal microscopy.

In our results show that DDX3X co-localizes with the viral protein N, a viral protein essential for IBs, from early hours of infection. Furthermore, when we used RK-33, an inhibitor of catalytic activity of DDX3X, we observed a decrease in the viral mRNA, genomic RNA and several HRSV proteins synthesis. Additionally, the treatment of RK-33 alters the shaping and number of the IBs as observed in different planes of the z-stack through confocal microscopy. Hence, the interaction between DDX3X and IBs could potentially enhance viral RNA synthesis

Taken together our results suggest that DDX3X possess a important role on HRSV replication acting as a proviral factors which could be considered as potential target for a universal antiviral.

Keywords: Virus, viral replication, Virus sincicial respiratorio humano, antiviral, cuerpos de inclusion

Financing: Funding Fondecyt 1231275

Tipo de presentación: Panel

**Characterizing the topographical and mechanical properties of *Streptococcus mutans* biofilms on glycated collagen using AFM**

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

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Institute for Biological and Medical Engineering, Engineering, Medicine and Biological Sciences, Av. Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Dentistry, Medicine, Av. Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

Dental caries is one of the most prevalent pathologies in the world, affecting a large fraction of the population of Chile. This disease is caused by dysbiosis in the oral microbiota, which affects the structure of the teeth and, in some cases, grants access to the root, allowing bacteria to infect important organs like the heart. One of the most important pathogens that can be found in caries is *Streptococcus mutans*, which can produce large quantities of biofilm and degrade the surface of the tooth. The mechanical properties of oral biofilms are known to influence pathogenicity and virulence, as well as being related to extracellular matrix production and stability. Our previous results suggest that surface glycation, mediated by the non-enzymatic oxidation of lysine residues in collagen by sugar metabolites such as methylglyoxal (MGO), decreases the biomass of *S. mutans* biofilms; however, the effect of collagen glycation on the nanomechanical properties of adhered *S. mutans* biofilms remains poorly understood. Therefore, the aim of the current work was to employ atomic force microscopy (AFM) to explore the surface topography and mechanical properties of the biofilm as a function of surface glycation comparing biofilm growth over collagen (Control) and collagen exposed to MGO for 48 hours. For this, an MFP-3D Asylum Research AFM was used in tapping mode in air to extract topographic and force-curves with 3 independent replicates and images of 10x10  $\mu\text{L}$  regarding the size, height, and shape of biofilms with adhesion differences. All data was analyzed using proprietary Asylum Research software. Our results show morphological differences between biofilms on control and glycated collagen, as well as group-associated differences in biofilm roughness, providing further insight into biofilm growth associated with substrate aging. Overall, this investigation has proved once again the utility of AFM in characterizing the nanoscale properties of oral biofilms within the context of health and disease.

Keywords: AFM Streptococcus caries biofilm

Financing: FONDECYT #1220804

Acknowledgments: This work is sponsored by the ANID FONDECYT #1220804 grant

Tipo de presentación: Panel

**Isolation of lytic bacteriophages for *Listeria monocytogenes* as a potential biocontrol tool**

**Aislamiento de bacteriófagos líticos para *Listeria monocytogenes* como potencial herramienta de biocontrol**

**Vivien Cadet Arenas**<sup>1</sup>, Rocio Barron<sup>2</sup>, Angélica Reyes-Jara<sup>3</sup>, Andrea Moreno-Switt<sup>2</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina Veterinaria, Ciencias Biológicas, Av. Vicuña Mackenna 4860, San Joaquín, Santiago, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina Veterinaria, Av. Vicuña Mackenna 4860, San Joaquín, Santiago, Chile

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

**Antecedentes.** *Listeria monocytogenes* (LM) es una bacteria patógena, transmitida por los alimentos, causante de listeriosis, siendo 1/2a, 1/2b, 1/2c y 4b serotipos prevalentes al estar relacionados con encefalitis y abortos en población susceptible. Los bacteriófagos (fagos) son virus que infectan y lisan bacterias, por lo que surgen como alternativa de control contra LM. Dado que la diversidad de fagos contra LM no ha sido ampliamente descrita, el objetivo de este estudio es aislar fagos contra los serotipos prevalentes como respuesta a la creciente problemática.

**Metodología.** Se analizaron 16 muestras de línea de procesamiento de alimentos y de alimentos procesados. Se utilizaron las cepas de LM: T1-0002, T1-0004, T1-0009 y T1-0026, incluyendo los serotipos 1/2a, 1/2b, 1/2c y 4b. Cada muestra se mezcló en relación 1:10 con caldo LB y se enriqueció con 1 mL de bacteria hospedera, esto se incubó a 30°C por 24h. Se purificaron las muestras con filtro 0,22 µm, luego se realizó spot test utilizando las cepas mencionadas y se incubaron a 30°C por 24h. Las muestras positivas fueron extraídas y resuspendidas en buffer SM, para continuar el proceso de purificación de bacteriófagos.

**Resultados.** Se encontraron 12 muestras positivas, en que se observó una inhibición en el crecimiento del césped bacteriano de los serotipos 1/2c y 4b. Las muestras positivas fueron de línea de procesamiento de alimentos de lavado de carcasa de pollo (4 muestras con lisis por fagos en 1/2c y 4b), lavado de cubrecalzado (7 muestras con lisis por fagos en 1/2c y 4b) y en una muestra de agua de canal urbano (1 muestra con lisis por fagos en 1/2c y 4b).

**Conclusión.** En muestras provenientes de la industria de alimentos y en una muestra de agua proveniente de canal urbano, hay presencia de bacteriófagos líticos específicos para *Listeria monocytogenes* serotipos 1/2a, 1/2b, 1/2c y 4b, por lo tanto, es posible aislar fagos desde muestras de diversos orígenes.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, bacteriófago, biocontrol

Financing: Fondecyt 1231082

Tipo de presentación: Panel

**Validation of molecular markers for Bacteroidales as indicators of fecal contamination in stool samples from Chile**

**Validación de marcadores moleculares para Bacteroidales como indicadores de contaminación fecal en muestras de heces de Chile**

**Karina Campos-Díaz**<sup>1,2,4</sup>, Aiko D. Adell<sup>1,4</sup>, Richard Covarrubia<sup>3,4</sup>, Jorge Olivares-Pacheco<sup>3,4</sup>, Francisca P. Álvarez<sup>1,2,4</sup>

(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) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Grupo de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Patógenas y Ambientales (GRABPA), Instituto de Biología, Valparaíso, Chile

(4) Millennium Initiative for Collaborative Research on Bacterial Resistance (MICROB-R), Iniciativa Científica Milenio, Santiago, Chile

La determinación de la contaminación fecal en el monitoreo de fuentes microbianas (MST) en aguas superficiales es esencial para salvaguardar la salud pública. Las bacterias del orden *Bacteroidales* son microorganismos anaerobios estrictos que se encuentran en el intestino de animales homeotermos, por lo que se utilizan ampliamente como MST para identificar y cuantificar entre especies el hospedero específico de la contaminación mediante qPCR. Sin embargo, el desafío radica en la variabilidad genética de estas bacterias según la región geográfica. Este estudio se centró en evaluar la eficacia de marcadores moleculares de *Bacteroidales* en muestras de heces chilenas, incluyendo bovinas, caninas y humanas, utilizando qPCR.

Se realizó una rigurosa revisión bibliográfica de 100 artículos científicos siguiendo criterios de inclusión y exclusión definidos previamente, se seleccionó una pareja de partidores y una sonda para cada fuente de contaminación fecal (bovino, canino, humano y universal). Se realizó extracción de ADN desde heces de cada fuente de interés y se clonó en el sistema TOPO TA de Invitrogen el marcador molecular de cada fuente de contaminación para ser utilizados como controles positivos para las curvas de amplificación en qPCR, confirmándose su amplificación mediante PCR de punto final. La validación final se realizó mediante qPCR, utilizando ADN extraído de muestras fecales.

Se confirmó el correcto clonamiento de los marcadores moleculares a evaluar mediante PCR de punto final, se obtuvieron amplicones de 177 pb universal, 93 pb humano, 211 pb bovino y 141 pb canino. Se observó amplificación cruzada de los partidores seleccionados para *Bacteroidales* caninos con muestras universales. Finalmente, los partidores y sondas seleccionadas fueron evaluados mediante la técnica de qPCR utilizando como templado el ADN extraído a partir de muestras fecales de caninos, bovinos y humanos, mostrando un alto porcentaje de sensibilidad y una baja amplificación cruzada, exceptuando los partidores y sondas para *Bacteroidales* caninos.

En conclusión, el marcador molecular seleccionado para *Bacteroidales* caninos no es específico para la correcta identificación de esta fuente de contaminación fecal. Finalmente, este estudio destaca la importancia de seleccionar cuidadosamente marcadores moleculares para una precisa identificación de fuentes de contaminación fecal mediante qPCR en muestras chilenas de heces.

Keywords: Monitoreo de fuentes microbianas, Contaminación fecal, Bacteroidales, PCR cuantitativa

Financing: Fondecyt Regular (#1221536) de ADA.

Tipo de presentación: Panel

**Under temperature selection pressure, the statistical heterogeneity of the growth of *Cobetia marina* strain MM1IA2H-1 can be explained by reprogramming mechanisms for adaptation or acclimatization to a wide range of growth temperatures outside the optimal**

**Under temperature selection pressure, the statistical heterogeneity of the growth of *Cobetia marina* strain MM1IA2H-1 can be explained by reprogramming mechanisms for adaptation or acclimatization to a wide range of growth temperatures outside the optimal**

**Alejandro Dinamarca**<sup>1</sup>, Claudia Ibacache-Quiroga<sup>1</sup>, Karoll Gonzalez<sup>1</sup>, Ignacio Plaza<sup>1</sup>, Milan Stehlik<sup>2</sup>

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

(2) Universidad de Valparaíso, Instituto de Estadística, Facultad de Ciencias, Gran Bretaña 1111, Valparaíso, Chile

*Cobetia marina* is a marine G(-) bacterium autochthonous from diverse marine ecosystems with biotechnological importance; capable of degrading petroleum hydrocarbons, producing biofilms; colonizing surfaces; producing beta-amyloid; and generating quorum-sensing inhibitors of bacterial pathogens. Its genome has been sequenced, evidencing elements of gene expression regulation and genetic variability that may explain its ubiquity in marine ecosystems. Considering the above, the present work aims to establish the adaptation or acclimatization capacity of *Cobetia* in the context of selection pressures associated with climate change. For this, *Cobetia marina* strain MM1IA2H-1 was subjected to temperature changes, determining its cardinal growth temperatures and characterizing the growth curves in temperature ranges with record intervals of 5°C. Growth curves were analyzed and compared to identify significant differences in standard deviations in the different growth phases by order estimation of growth dynamics in response to temperature changes. The observed heterogeneity was explained by adaptability or acclimatization mechanisms using studies of mutant frequency and metabolic change evaluated by Ecoplates and Biolog GN. As a comparative study, the *Escherichia coli* bacterium was used. The results show that *Cobetia marina*, strain MM1IA2H-1 exhibits a wide range of growth temperatures between 8°C and 41°C with its lag, exponential and stationary growth phases, and has an optimum temperature range of 33°C-35°C. Statistical analyses show that there are growth temperatures (28°C and 38°C) towards the minimum and maximum that exhibit significant heterogeneity that can be considered aberrant or chaos, defined as a transition to greater adaptability or acclimatization. Considering the aberrant growth temperatures and the changes observed in the genotypic and phenotypic studies, it is possible to conclude that *Cobetia marina* strain MM1IA2H-1 may be a model to study the mechanisms that mediate the evolutionary response to selection pressures such as temperature.

Keywords: *Cobetia*; climate-change; temperature; evolution; heterogeneity

Financing: ANID PROGRAMA FONDECYT EXPLORACION NO. 13220184 : "GRT-AC: A GLOBAL GENE REGULATION BASED TOOL FOR MODELLING THE NEXT GENERATION OF BIOLOGICAL-SILICON INTEGRATED SYSTEMS",

Tipo de presentación: Panel

**Culturing and photoacclimation of a diatom species of the genus *Nitzschia* (Bacillariophyta) isolated from the high-altitude wetland, Salar de Huasco, Chile**

**Cultivo y fotoaclimatación de una especie de diatomeas del género *Nitzschia* (Bacillariophyta) aislada del humedal de altura, Salar de Huasco, Chile**

Yoanna Eissler<sup>1</sup>, Jeremy Anabalón<sup>2</sup>, Paula S.M. Celis-Plá<sup>3</sup>, Brandon Kieft<sup>4</sup>, Pilar Junier<sup>5</sup>, Patricio Rivera<sup>6</sup>, Fabiola Cruces<sup>6</sup>, Enrique Ascencio<sup>6,7</sup>, Cristina Dorador<sup>8</sup>, Verónica Molina<sup>9,10,11</sup>

(1) Universidad de Valparaíso, Instituto de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Gran Bretaña 1111, Valparaíso, Chile

(2) Universidad de Valparaíso, Escuela de Biología Marina, Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Naturales, Av. Borgoño 16344, Reñaca, Viña del Mar, Chile

(3) Universidad de Playa Ancha, Laboratory of Aquatic Environmental Research/HUB Ambiental UPLA, Leopoldo Carvallo 200, Valparaíso, Chile

(4) University of British Columbia, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Sciences, Vancouver, Canada

(5) University of Neuchâtel, Laboratory of Microbiology, Institute of Biology, Neuchâtel, Switzerland

(6) Universidad de Concepción, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Concepción, Chile

(7) Universidad de Concepción, Instituto Milenio de Oceanografía (IMO), Concepción, Chile

(8) Universidad de Antofagasta, Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto de Antofagasta, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Avenida Universidad de Antofagasta s/n, Antofagasta, Chile

(9) Universidad de Playa Ancha, HUB AMBIENTAL UPLA, Leopoldo Carvallo 200, Playa Ancha, Valparaíso, Chile

(10) Universidad de Playa Ancha, Departamento de Ciencias y Geografía, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Leopoldo Carvallo 270 Playa Ancha, Valparaíso, Chile

(11) Universidad de Concepción, Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Concepción, Chile

Diatoms play an important role as primary producers, thriving in natural polyextreme environments such as high-altitude wetlands, where their ecology is poorly understood. In this study, the diatom *Nitzschia palea* was isolated from Salar de Huasco, Chile, a high-altitude wetland located at 3800 m above sea level. The culture was maintained at 17°C under cool-white fluorescent light with a 14:10 (light:dark) photoperiod and a photon flux of 50  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Scanning electron microscopy and a genomic approach were employed to identify this microalga as a new *Nitzschia palea* isolate, which is genetically very different to the ones previously described. Photophysiological responses were measured along with a series of media and temperature conditions in *N. palea* cultures.

Modified f/2 media supplemented with various concentrations of Si, Se, and vitamins were tested. Subsequently, growth in the double-Si f/2 media was assessed at three different temperatures. Lastly, the diatom cultures were incubated at 17°C and 27-29°C in f/2 + double-Si (NN: Non-extra nutrient addition) and a highly eutrophic state of f/2 (WN: with nutrient enrichment addition). The highest growth was observed using the f/2 media WN at 17°C (day 5,  $4.46 \times 10^5 \pm 3.15 \times 10^4$  SD cells mL<sup>-1</sup>). *N. palea* photophysiological responses were correlated with its high photoacclimation capacity and maximal quantum yield of PSII. Finally, its productivity and photosynthetic efficiency increased throughout the trial period using the f/2 media WN. This proves its usefulness as a bioindicator organism of highly eutrophic environments.

Keywords: Diatom, Microalgae, *Nitzschia palea*, culture conditions, photoacclimation capacity

Financing: FONDECYT, # 1181773 y 1211977

Acknowledgments: We are grateful to all the participants of the field trip and particularly to Pedro and Margarita Luca for their hospitality at Salar de Huasco shelter facilities, and Jaime Guerrero (RIP), for field assistance.



Tipo de presentación: Panel

**Adenovirus F41 in wastewater detected by metaviromics confirms the finding in samples from patients in a hospital in the Metropolitan Region**

**Adenovirus F41 en aguas residuales detectado por metavirómica confirma el hallazgo en muestras de pacientes en hospital de la Región Metropolitana**

Jonás Chnaiderman<sup>1</sup>, Diego Saavedra<sup>1</sup>, Sarai Gladinier<sup>1</sup>, Dona Benadof<sup>2</sup>, Manuel Ampuero<sup>1</sup>, Cecilia Rojas<sup>1</sup>, **Aldo Gaggero Brillouet<sup>1</sup>**

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

(2) Hospital Roberto del Río, Laboratorio Clínico, Profesor Zañartu 1085, Santiago, Chile

Diversos estudios previos apuntan a la utilidad de efectuar vigilancia epidemiológica de agentes infecciosos del tracto digestivo por medio de estudios de metavirómica de las aguas residuales que se originan en las urbes.

Desde el año 2018 a la fecha, en nuestro laboratorio realizamos recolección mensual de aguas residuales en diversas plantas de tratamiento de Chile (La Farfana, El Trebal, La Higuera y Coronel), para su posterior análisis por secuenciación masiva (con tecnología Illumina) y análisis bioinformático para la detección de agentes virales.

Se analizaron 8 muestras trimestrales correspondientes a los años 2020 y 2021. Sólo en las muestras del año 2020, fueron detectadas cantidades importantes de genoma de Adenovirus F41, agente causante de cuadros gastrointestinales y de transmisión fecal-oral. Las secuencias analizadas permitieron la reconstrucción de genomas en más de 95% de su extensión y con profundidades de secuenciación superiores a 5.

Para la confirmación de estos hallazgos, se analizaron, también por secuenciación masiva, muestras de heces obtenidas de pacientes hospitalizados en el Hospital Roberto del Río, de la Región Metropolitana, durante el período 2020 y 2021 (8 pools trimestrales). Interesantemente, también sólo en muestras del año 2020 se encontraron genomas de Adenovirus F41, con una cobertura superior al 95% y con profundidad de secuenciación superiores a 40.000.

El análisis filogenético de las secuencias confirmó que se trataba del mismo virus ( $d < 0,01\%$ ) y la secuencia reportada más semejante es la de una muestra detectada en Brasil el año 2013.

Los hallazgos aquí descritos permiten confirmar la utilidad de la vigilancia epidemiológica por medio del análisis metavirómico de aguas residuales y confirman la ocurrencia de un brote de Adenovirus F41 en la Región Metropolitana de Santiago de Chile durante el año 2020.

Keywords: Vigilancia basada en aguas residuales, Adenovirus tipo 41

Financiamiento: Proyectos Fondecyt 1181656 y Anillo ATE 20007

Acknowledgments: Los autores agradecen a las empresas Aguas Andinas, ANAM y Sacyr por el apoyo en la toma de las muestras de aguas residuales.

Tipo de presentación: Panel

**Rapid detection of the plant pathogen *Neofusicoccum parvum* by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and its potential control through metabolites produced by *Clonostachys rosea* mutants**

**Detección rápida del fitopatógeno *Neofusicoccum parvum* mediante amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) y su potencial control a través de metabolitos producidos por mutantes de *Clonostachys rosea***

**Constanza González**<sup>1</sup>, Sebastián Echeverría<sup>1,2,3</sup>, Kamila Fernández<sup>1</sup>, José-M Perez Donoso<sup>2</sup>, Felipe Gaínza-Cortés<sup>3</sup>, Rubén Polanco<sup>1</sup>

(1) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Hongos Fitopatógenos, Facultad Ciencias de la Vida, Av. República 330, Santiago, Chile

(2) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Bionanotecnología, Facultad Ciencias de la Vida, Av. República 330, Santiago, Chile

(3) Centro de Investigación e Innovación- Viña Concha y Toro, Laboratorio de Biología Molecular, Fundo Pocoa s/n Km 10, Ruta K-650, Penciahue, Chile

El fitopatógeno *Neofusicoccum parvum* (*N. parvum*) pertenece al grupo de hongos asociados a las enfermedades de la madera de la vid (GTDs), las cuales representan uno de los problemas fitosanitarios con mayor impacto económico para la viticultura en Chile. Medidas fitosanitarias basadas en la detección temprana de este patógeno por qPCR y el control mediante fungicidas de síntesis química, permiten mitigar las infecciones causadas por este hongo. Hoy en día, estos métodos resultan ser útiles pero representan un alto costo económico e impactan la sanidad vegetal y ambiental de los cultivos, impidiendo intensificar y masificar estos sistemas de control fitosanitario hacia productores de baja, mediana y alta escala. Herramientas de detección como LAMP representan un bajo costo económico, permitiendo la amplificación de ADN con alta especificidad, eficiencia y rapidez en condiciones isotérmicas, pudiendo complementar y potenciar el control y mitigación de este hongo a través del correcto proceso de aplicación de fungicidas, tras la identificación de plantas positivas para la infección por *N. parvum* en terreno. Adicionalmente, se ha observado que hongos de la especie *Clonostachys rosea* (*C. rosea*) inhiben el crecimiento del fitopatógeno *N. parvum* de forma poco eficaz mediante la producción de distintos metabolitos secundarios, los cuales, mediante mutagénesis aleatoria, podrían incrementar su efecto de biocontrol. Considerando estos antecedentes, el presente estudio tuvo como objetivo desarrollar e implementar una plataforma de control y mitigación del hongo *N. parvum* a través del diagnóstico temprano y el biocontrol oportuno de este fitopatógeno. Utilizando la plataforma Primer Explorer V5 se diseñó exitosamente un conjunto de partidores LAMP que permitieron detectar entre 10 hongos fitopatógenos a *N. parvum* en sólo 35 minutos de reacción. Además, utilizando etilmetanosulfonato (EMS), generamos 131 mutantes aleatorias a partir de *C. rosea* RP1505 (cepa silvestre), de las cuales 12 inhibieron en aproximadamente un 86% el crecimiento de *N. parvum* mediante la producción de metabolitos difusibles de naturaleza polar. Estos resultados proyectan el uso conjunto de las cepas mutantes de *C. rosea* como una fuente de metabolitos bioactivos para el desarrollo de biofungicidas y la técnica de LAMP como una estrategia para la detección temprana de este fitopatógeno.

Keywords: biocontrol GTD LAMP metabolites

Financing: Financiamiento PdC-6-2021 UNAB - FIA PYT-2022-0330

Tipo de presentación: Panel

### **Multi-parameter flow cytometry for immunological assessment of Andes Orthohantavirus infected patients**

**Natalia González**<sup>1,2</sup>, Emma Rey-Jurado<sup>2</sup>, Fernanda Silva<sup>1</sup>, Maria Cecilia Poli<sup>2</sup>, Pablo Vial<sup>1</sup>, Cecilia Vial<sup>1</sup>

(1) Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Programa Hantavirus y Zoonosis, Facultad de Medicina, Clínica Alemana Universidad del Desarrollo, Av. La Plaza 680, Santiago, Chile

(2) Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Programa de Inmunogenética e Inmunología Traslacional, Facultad de Medicina, Clínica Alemana Universidad del Desarrollo, Av. La Plaza 680, Santiago, Chile

**Introduction:** Andes Orthohantavirus (ANDV) infection in humans leads to the development of Hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS), resulting in a case fatality rate of 30% in Chile. The clinical progression of the infection displays a spectrum of severity, ranging from mild symptoms to severe HCPS and ultimately death. Analyzing the immune responses in individuals experiencing mild and severe forms of the disease could provide valuable insights into the underlying immunological mechanisms contributing to protection and recovery. This study employs multi-parameter flow cytometry as an initial approach to comprehensively characterize NK, T, and B immune cell populations during ANDV infection.

**Methods:** Three flow cytometry panels were designed and tested: T and NK cell functionality (T/NK-functionality), NK cell phenotyping (NK-phenotyping), and B cell phenotyping (B-phenotyping). Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) isolated from healthy donors were used to validate these panels. For the T/NK-functionality, PBMCs were incubated for 5 hours with PMA/Ionomycin, the K562 cell line or no stimuli, and 4 hours with BrefeldinA/Monensin, before being stained with fluorescent antibodies. For NK-phenotyping and B-phenotyping, PBMCs were directly stained with corresponding antibodies.

**Results:** This study developed and assessed three flow cytometry panels, enabling a comprehensive understanding of immune subsets within PBMCs. The T/NK-functionality, consisting of twelve markers, was designed to assess T and NK cell functionality under different stimuli. By evaluating key markers like CD107a, IFN- $\gamma$ , and perforin, this panel describe the degranulation and cytokine production profiles of NK and T cells upon stimulation, revealing insights into the functional capacity of these critical immune players. Furthermore, this panel evaluate memory populations in T-CD4<sup>+</sup> and T-CD8<sup>+</sup> cells, which are known to play a crucial role in the response to infections. Similarly, the NK-phenotyping and B-phenotyping panels, each comprising eight markers, provided a comprehensive understanding of NK cell receptor expression and B cell maturation stages, respectively. These panels unveiled valuable information about the phenotypic characteristics of immune cell populations that are essential for overcoming viral infections.

**Conclusion:** The application of multi-parameter flow cytometry proves to be a powerful and insightful approach for unraveling the intricate immunological responses that define the varying clinical courses observed in ANDV-infected individuals.

Keywords: Hantavirus, Immunology, Flow cytometry

Financing: This work was funding by: Proyecto Fondecyt 1201240

Tipo de presentación: Panel

**Bacteriodic presents The era of bacterial resistance: *Staphylococcus aureus* the intrahospital enemy**

**Bacteriódico presenta La era de la resistencia bacteriana: *Staphylococcus aureus* el enemigo intrahospitalario**

**Valeria Gálvez Salazar<sup>1</sup>**, Ignacio Muñoz<sup>1</sup>, Camila Cabrera<sup>1</sup>, Yanira Campusano<sup>1</sup>, Karin Catrileo<sup>1</sup>, Valentina Fernández Yañez<sup>1,2</sup>, Gabriel Joo<sup>1</sup>, Jorge Rubio<sup>1</sup>, Claudia Tarazona<sup>1</sup>, Joaquín Torres Nuñez<sup>1</sup>, Alejandra Zazueta<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Microbiología, Medicina, Independencia 1027, Independencia., Santiago, Chile

(2) Universidad de Santiago de Chile, Biología, Química y Biología, Av. Víctor Jara 3659, Estación Central, Santiago, Chile

Bacteriódico es un grupo conformado por profesionales y estudiantes de pre y postgrado de carreras dedicadas a la investigación científica en la Universidad de Chile, que tiene como objetivo acercar el mundo de la microbiología a la ciudadanía a través de actividades en terreno y por medio de redes sociales.

En la población existe un sesgo sociocultural asociado a la falta de acceso al mundo de las ciencias. Es por este motivo que Bacteriódico cumple el rol de disminuir esta brecha de acceso a la información por medio del acercamiento a instituciones educacionales, realizando charlas, experiencias prácticas participativas, en instancias libres o asociadas a ferias científicas, con actividades como observación microscópica de agentes patógenos y observación de microorganismos no patógenos cultivados en placas.

Otra de las dinámicas que Bacteriódico está implementando es la creación de contenido escrito y lúdico de fácil entendimiento que aborda tópicos relacionados a las infecciones bacterianas. Es así como nace el cómic "La era de la resistencia bacteriana" cuyo primer capítulo es "*Staphylococcus aureus*, el enemigo intrahospitalario". El cómic trata sobre las infecciones intrahospitalarias por bacterias multirresistentes a antibióticos, siendo el villano de este capítulo *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente, que invadirá una herida quirúrgica de un paciente hospitalizado. Este villano enfrentará a múltiples batallas campales contra distintos antibióticos, ganando gran parte de ellas, hasta que llega su enemigo mortal, la Vancomicina.

Este cómic será el primero de muchos, pues Bacteriódico tiene la idea de continuar relatando historias sobre otras bacterias que producen infecciones en el organismo.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, multirresistencia, infecciones intrahospitalarias, divulgación científica, antibiótico

Financing: Autofinanciamiento

Acknowledgments: Agradecemos al Dr. Felipe del Canto y a la Dra. Yalda Lucero por su apoyo y supervisión durante el desarrollo del proyecto "Bacteriódico"

Tipo de presentación: Panel

**Molecular characterization of *Fasciola hepatica* isolates from cattle and horse in Chile**

Gonzalo Cabrera<sup>1</sup>, Carolina Cabezas<sup>2</sup>, Daniela Estay-Olea<sup>3</sup>, Caroll Stoores<sup>2</sup>, María Soledad Baquedano<sup>2</sup>, Rodolfo Paredes<sup>2</sup>, **Christian Hidalgo<sup>4</sup>**

(1) Universidad de Chile, Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(2) Universidad Andres Bello, Laboratorio de Medicina Veterinaria, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

(3) Universidad de O'Higgins, Instituto de Ciencias Agroalimentarias, Animales y Ambientales (ICA3), San Fernando, Chile

(4) Universidad de las Américas, Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Santiago, Chile

Liver fluke infection is caused by the zoonotic trematode *Fasciola hepatica*. This disease causes significant economic losses in livestock production and is a chronic and disabling disease in humans. Molecular studies of the genetic variability of this parasite usually are performed by sequencing short fragments of nuclear and/or mitochondrial genes. The most studied host species are cattle and sheep, with other herbivores being neglected. In South America, gene sequencing of liver flukes has been reported in Brazil, Ecuador, Peru, Bolivia, Colombia, and Argentina; and while liver fluke infection is the most prevalent parasitic disease in Chilean livestock, currently there are no molecular characterization reports published. The following work thus tackles three gaps in knowledge: sequencing of the full length of the mitochondrial gene *cox1*, in cattle and horse (a neglected *F. hepatica* host), in Chile. Thirty samples of both cattle and horse were collected in abattoirs, total DNA was extracted and the full length of the mitochondrial gene *cox1* was amplified by conventional PCR and sequenced with Sanger methodology. Sequences were aligned with the *F. hepatica* reference genome and then compared with all the *F. hepatica* *cox1* sequences available in GenBank. We report for the first time 32 haplotypes that are unique to Chilean samples, and that these haplotypes belong to either cattle or horses, for the most part. This data is relevant for future control efforts, as these molecular differences could be related to the different strategies that *F. hepatica* uses to establish inside its mammal host.

Keywords: cattle, horse, *Fasciola hepatica*, haplotypes, molecular biology

Financing: This work was funded by project #DI-08/23 from Universidad de las Américas Research Vice-rectory (CH), and ANID-Fondecyt Grant #1231620 (RP).

Acknowledgments: The authors would like to thank the abattoir staff that kindly collaborated in obtaining liver fluke samples

Tipo de presentación: Panel

### **Advanced bioengineering of functionalized microfabricated collagen substrates as an in-vitro biomimetic dentin model for oral biofilm formation**

**Carla Inostroza**<sup>3</sup>, Simón Álvarez<sup>1,3</sup>, Vicente Daniel<sup>3</sup>, Sebastian Aguayo<sup>2,3</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, School of Medicine, Faculty of Medicine, Diagonal Paraguay 362, Santiago, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, School of Dentistry, Faculty of Medicine, Avda. Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Institute for Biological and Medical Engineering, Faculty of Engineering, Medicine and Biological Sciences, Avda. Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

Dental caries is the result of microbial dysbiosis. Several relevant species of streptococci act as early-colonizers on tooth surface, binding with others and host molecules forming biofilm. Despite recent advances, it has been a challenge to reproduce the complex microarchitecture of the tooth in the laboratory for studying biofilm formation *in-vitro*. However, microfabrication through photolithography has become a tool for replicating the morphology and composition of dentin, providing an *in-vitro* model for studying adhesion-formation of biofilm. Methacrylated type-I collagen (PHOTOCOL) has recently been reported for structure's microfabrication through photolithography; however, its applications in dentistry have not yet been tested. The advantages of PHOTOCOL include being a biomaterial with properties resembling natural collagen and the photopolymerization capacity of methacrylate, making it a versatile material for microfabrication techniques involving UV exposure. Therefore, the aim of this work was to develop an *in-vitro* dentin analog via UV-based microfabrication of a mineralized collagen scaffold for future oral biofilm formation studies.

Computer-generated micro-patterns of 2µm diameter circles with a 5 µm spacing, an ordered-disordered array were created. Subsequently, the micro-pattern was loaded into the Leonardo software, using the PRIMO II system, printing was performed using a Lithium-phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphinate (LAP) solution with PHOTOCOL. The resulting microprinted collagen matrices were characterized using optical microscopy and exposed to a mineralization solution to create hydroxyapatite crystals. Biofilm formation assays were conducted using *S. mutans* UA159 and *S. sanguinis* SK 36, which were incubated at 37°C and 5% CO<sub>2</sub> for 24 hours. Posteriorly, biofilms were stained with SYTO9 (1:1000 in BHI) in an incubator for 30 minutes. Finally, the resulting biofilms were imaged and analyzed using a NIKON Ti2 equipped with epifluorescence microscopy.

Biofabricated surfaces with microtubules array resembling dentin morphology were obtained. Biofilm formation of *S. sanguinis* were observed separately displaying strain-specific differences, whereas the dual-species biofilm displayed unique characteristics compared to the single-species biofilms.

Bioengineering of substrates with UV-based photolithography using PHOTOCOL enabled the development of micropatterns at the micrometric level that resemble dentin morphology. This model can allow for exploring alternative in vitro models for studying adhesion and biofilm formation from single-species to multi-species in the context of dental caries.

Keywords: microfabricated collagen, oral biofilm, dental biomaterials, biomimetic dentin, bioengineering

Financing: This project was supported by ANID FONDECYT #1220804 and ANID FONDEQUIP EMQ210101.

Acknowledgments: ANID FONDECYT #1220804 and ANID FONDEQUIP EMQ210101.

Tipo de presentación: Panel

### **Bioprospecting to find antibiotic activity from the Atacama Trench**

#### **Bioprospección para encontrar actividad antibiótica desde la fosa de Atacama**

**Carol Jara Lagos<sup>1</sup>**, Diego Sandoval Vargas<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Ingeniería Química, Biotecnología y Materiales - CeBiB, Ciencias Físicas y Matemáticas, Av . Beauchef 851, Santiago, Chile

Las actinobacterias son una fuente de metabolitos secundarios con bioactividad en la salud humana y animal. Sus genomas están dotados de clúster de genes involucrados en rutas biosintéticas y producción de metabolitos, siendo *Streptomyces* el género más extenso. La búsqueda de nuevos compuestos farmacológicamente activos producidos por microorganismos que habitan entornos poco explorados y extremos, incluidos hábitats como fosas marinas, son de gran interés considerando que los ambientes extremos seleccionan una diversidad de microorganismos capaces de adaptarse al ambiente. Alrededor del 70% de los antibióticos se sintetizan a partir de ellos, siendo potenciales productores de metabolitos como antimicrobianos, antitumorales, antivirales y antifúngicos. Debido al abuso de antibióticos contra las enfermedades emergentes, la aparición de patógenos microbianos que causan enfermedades infecciosas resistentes a los fármacos se ha extendido ampliamente debido a la aplicación a gran escala de agentes antimicrobianos disponibles comercialmente. Por lo tanto, es necesario buscar y encontrar nuevos metabolitos o compuestos bioactivos para su uso. En este trabajo, por primera vez cinco sedimentos de diferentes profundidades de la fosa de Atacama (Chile) fueron sometidos a un análisis de diversidad microbiológica y a un aislamiento selectivo, con el objetivo de encontrar nuevos productores de antibióticos o metabolitos secundarios. Primero se estudiaron los metagenomas de algunos sitios de la fosa, para esto se realizó extracción de DNA metagenómico, y PCR del 16S ribosomal. Posteriormente se realizó el análisis de los datos utilizando herramientas bioinformáticas con el fin de determinar la diversidad microbiológica y se encontró una amplia variedad de microorganismos, entre ellos del género *Streptomyces*. Además, se realizó una selección de fenotipos de los diferentes sedimentos crecidos en medios de cultivo y se seleccionaron para realizar bioensayos contra *B. subtilis* y *E. coli*, encontrando actividad antibiótica contra *B. subtilis* y *E. coli*. Los aislados encontrados fueron secuenciados y los estudios y el análisis bioinformático apunta a nuevos microorganismos. Estos resultados prometen potencial bioactividad y la presencia de una comunidad microbiológica de interés. Es por esto, que es necesario estudiar los cluster de genes involucrados en la biosíntesis de metabolitos secundarios de los aislados, como también optimizar su producción a futuro.

Keywords: PCR, Metagenómica, diversidad, clúster, metabolito

Financing: ANID - Basal Centre CeBiB Project FB001ANID - 21191253

Acknowledgments: Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB)

Tipo de presentación: Panel

### **Rapid Isolation and Characterization of Extracellular Vesicles from Oral Streptococci**

**Camila Leiva Sabadini**<sup>1</sup>, Christina Schuh<sup>2</sup>, Pablo Berrios<sup>1</sup>, Mario Vera<sup>1</sup>, Sebastian Aguayo<sup>1,3</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Instituto de Ingeniería Biológica y Médica, Santiago, Chile

(2) Universidad del Desarrollo, Centro de Medicina Regenerativa, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Odontología, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

#### **Introduction:**

In recent years, Extracellular Vesicles (EVs) obtained from a wide range of microorganisms have generated great interest as potential key players in microbial communication, phage susceptibility and biofilm development. However, challenges remain in order to isolate oral bacterial EVs in a fast and reproducible way. Therefore, the aim of this work is to isolate and characterize structure and nanomechanics of EVs produced by two relevant oral early colonizers *Streptococcus mutans* UA159 and *Streptococcus sanguinis* SK36, by employing a custom setup.

#### **Methods:**

250 ml custom-made assembly was designed with a 0.22 µm membrane to segregate microbial cells and EVs. *S. mutans* UA159 or *S. sanguinis* SK36 were inoculated in culture medium, and incubated aerobically at 37°C and 150 RPM for 22 h. Subsequently, EVs were harvested by ultracentrifugation at 100.000 g and characterized using nanoparticle tracking analysis (NTA), epifluorescence microscopy with lipophilic markers, electron microscopy, atomic force microscopy (AFM). In addition, BCA assay was employed to quantify protein content.

#### **Results:**

A large volume of EVs was obtained in a fast way from two bacterial strains, NTA demonstrated sizes of approximately 160 nm, and their spherical shape was verified through morphological characterization using electron and fluorescence microscopy, complemented by nanomechanics characterization using atomic force microscopy.

#### **Conclusions:**

Rapid isolation with a custom assembly system is a good method to optimize time, centrifugation, and filtration steps in order to have a high concentration of EVs from oral streptococci. Furthermore, morphological and nanomechanical characterization of EVs was performed together with quantification of the protein content.

Keywords: Extracellular vesicles, Oral microorganism

Financing: This work was funded by ANID FONDECYT N° 1220804, 1220803 and "Beca de doctorado nacional ANID"



Tipo de presentación: Panel

**Characterization of the CHF4 bacteriophage against the phytopathogen *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa)**

**Caracterización del bacteriófago CHF4 contra el fitopatógeno *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa)**

**Marcela León<sup>1</sup>**, Carolina Yáñez<sup>1</sup>, Roberto Bastías<sup>1</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Biología, Ciencias, avenida Universidad 330, Valparaíso, Chile

*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) es el principal fitopatógeno del kiwi (*Actinidia sp.*) que causa importantes brotes de cancro bacteriano a nivel mundial. Los bacteriófagos han sido propuestos como biocontroladores naturales. La mayoría de los bacteriófagos aislados contra este importante fitopatógeno pertenecen a las familias *Myoviridae* y *Podoviridae* y en menor medida a la familia *Siphoviridae* del orden *Caudovirales*. En Chile se aislaron recientemente 6 bacteriófagos todos pertenecientes a la familia *Podoviridae*. El análisis genómico de estos fagos chilenos sugiere que están relacionados cercanamente al fago phiPSA2, aislado en Italia. En este sentido, parece importante caracterizar al nuevo bacteriófago CHF4, con el objetivo de desarrollar soluciones de biocontrol basadas en fagos. El fago CHF4 forma placas de lisis pequeñas y claras con un anillo turbio alrededor, muy diferentes a las placas de lisis de los aislados chilenos. Se extrajo el DNA del fago CHF4, se secuenció usando NGS, ensambló usando la aplicación Geneious, se anotó usando la aplicación Prokka y se comparó con el genoma de los fagos descritos contra Psa usando la aplicación Viptree. El análisis genómico del fago CHF4 sugiere que pertenece a la familia *Syphoviridae*, tiene un tamaño de aproximadamente 42.902 pb con 57 ORFs y un porcentaje de GC de 53.5%. La anotación de su genoma muestra que no posee genes relacionados a la integración o escisión lo que sugiere que es un fago lítico. La comparación del genoma del fago CHF4 muestra que es similar al fago *Escherichia* phage Halfdan (NC\_072811) aislado de agua servida en Dinamarca, compartiendo una identidad de 98.7%. Nuestros resultados sugieren que el fago CHF4 tiene potencial para usarse en combinación con los fagos ya descritos contra Psa, ya que presenta características diferentes, lo que podría favorecer el éxito del tratamiento.

Keywords: Bacteriófago, Psa, Kiwi, Fagoterapia

Financing: Proyecto FONDECYT de Postdoctorado N° 3200523

Tipo de presentación: Panel

### **Creation of a virtual and augmented reality laboratory for teaching microbiology**

### **Creación de un laboratorio de realidad virtual y aumentada para la enseñanza de Microbiología**

**Olga Lobos**<sup>1</sup>, Carlos Padilla<sup>1</sup>, Patricia Poblete<sup>1</sup>, Verónica Carrasco<sup>1</sup>

(1) Universidad de Talca, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Avenida Lircay sin número Talca, Talca, Chile

**Introducción:** Como necesidad de un cambio de paradigma en el uso de metodologías educativas en el ámbito de la microbiología, se decidió realizar un proyecto que incorporara el uso de la realidad virtual y aumentada dentro de un entorno de gamificación. Lo anterior, en consideración a que los estudiantes actuales tienen habilidades más desarrolladas en el ámbito digital.

**Objetivo:** Crear un laboratorio de realidad virtual (RV) y aumentada (RA) para la enseñanza de Microbiología.

**Metodología:** Mediante la colaboración de profesionales del área de los videojuegos, contenidos teóricos de microbiología fundamental fueron transformados en 3 aplicaciones de RA y 2 actividades prácticas de RV. Los productos desarrollados fueron incorporados como metodología de gamificación en los módulos de microbiológicos de las carreras de salud de la universidad de Talca. Chile.

**Resultados:** Se obtuvieron los productos Microtriv®, Microdeck®, Libro de Microbiología Fundamental RA®, todos en RA, y las aplicaciones de actividades prácticas virtuales como "Siembra y aislamiento bacteriano" y "Metabolismo bacteriano".

**Conclusiones:** A partir de los productos señalados, se logró crear un "Laboratorio de Realidad Virtual y Aumentada para la Enseñanza de Microbiología", el que cuenta con productos originales aplicables, bajo la metodología de gamificación, en procesos de enseñanza y aprendizaje de estudiantes del ámbito de la salud.

Se proponen estudios posteriores para evaluar, a mayor escala, las mejoras académicas de los estudiantes del área de la salud al utilizar productos de gamificación en actividades de laboratorio.

Keywords: Realidad Virtual, realidad aumentada, gamificación, laboratorio, educación

Financing: Proyecto TAL1795, financiado por el Ministerio de Educación de Chile (MINEDUC) y la Universidad de Talca- Chile.

Tipo de presentación: Panel

**Tolerance at low temperatures in long-term stationary phase in native strains of *Saccharomyces eubayanus***

**Tolerancia a bajas temperaturas en fase estacionaria de largo plazo en cepas nativas de *Saccharomyces eubayanus***

**Tamara Mateluna Cáceres**<sup>1,2,3</sup>, Luis Saona<sup>1,2,3</sup>, Francisco Cubillos<sup>1,2,3</sup>

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

(2) ANID-Millennium Science Initiative-Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), Santiago, Chile

(3) ANID-Millennium Nucleus of Patagonian Limit of Life, Valdivia, Chile

El clado monofilético de *Saccharomyces* comprende actualmente ocho especies, que van desde la domesticada *S. cerevisiae* hasta las no domesticadas confinadas en diferentes entornos. Entre ellas, *S. eubayanus* se caracteriza por ser una especie criotolerante que soporta el estrés del proceso fermentativo a bajas temperaturas, alcanzando su mejor rendimiento fermentativo entre 10-12°C. Sin embargo, la dinámica genética y molecular de su tolerancia al frío en condiciones no fermentativas aún se desconoce.

Con el objetivo de estudiar las interacciones genéticas y moleculares de adaptación a condiciones extremas en ambientes naturales, se ha planteado investigar la fase estacionaria de largo plazo en cultivos microbianos, allí las consecuencias de esta fase como el envejecimiento celular, la baja disponibilidad de nutrientes y la competencia; lleva a las células a un genotipo mutagénico descrito como *Growth Advantage in Stationary Phase* (GASP), el que se relaciona con una mayor resistencia a diferentes estresores y mayor supervivencia de las células en estas condiciones.

Para dilucidar si existe un rol de GASP en la adaptación a bajas temperaturas, en este trabajo se utilizaron cepas representativas de tres linajes distintos de *S. eubayanus* y se realizaron curvas de crecimiento por hasta 30 días a 20°C, 12°C y 4°C. Se midió el crecimiento por conteo de unidades formadoras de colonias y densidad óptica a 600 nm. Luego, se aislaron colonias provenientes de cultivos envejecidos, se repitieron las curvas de crecimiento a 4°C y se realizaron ensayos de tolerancia a estresores abióticos. Los resultados revelaron que las cepas envejecidas a 4°C crecen más rápido que las no-envejecidas a la misma temperatura y muestran un mayor nivel de resistencia a diferentes estresores abióticos.

De momento se concluye que algunas de las cepas envejecidas presentaron características adaptativas respecto a las no-envejecidas. Sin embargo, se espera profundizar en las diferencias genotípicas y fenotípicas entre las cepas envejecidas y sus parentales, enfocándonos principalmente en la determinación de la frecuencia de mutaciones que adquieren estas células durante el envejecimiento y así determinar el momento exacto en el que este fenotipo GASP aparece en este modelo de levaduras y su rol en la adaptación a bajas temperaturas.

Keywords: long-term stationary phase, *Saccharomyces eubayanus*, GASP

Financing: Laboratorio de Genética Molecular de la Universidad de Chile Núcleo Milenio LiLiIBio - Instituto Milenio de Biología Integrativa

Tipo de presentación: Panel

**Molecular Dynamics and Quantum Mechanics simulation to elucidate the molecular mechanisms determining ligand binding to enzymes**

**Simulación de Dinámica Molecular y Mecánica Cuántica para dilucidar los mecanismos moleculares determinantes en la unión de ligandos a enzimas**

**Manuel Osorio**<sup>1</sup>, Osvaldo Yañez<sup>2</sup>

(1) Universidad Andres Bello, Facultad de Odontología, Echaurren 277, Santiago, Chile

(2) Universidad de las Américas, Santiago 7500000, Núcleo de Investigación en Data Science, Facultad de Ingeniería y Negocios, Santiago 7500000, Santiago, Chile

Entender los fenómenos moleculares que determinan la unión de ligandos a enzimas es fundamental para comprender la catálisis, la regulación de la actividad enzimática y el diseño racional de fármacos. Este proceso que comienzan con el ligando en el seno de la disolución y concluye con el ligando en el sitio de unión, puede ser estudiado y caracterizado mediante simulación de dinámica molecular (DM) y cálculos de mecánica cuántica (QM). La simulación DM modela los átomos como esferas y los enlaces como resortes, reproduciendo cabalmente las interacciones intermoleculares a una resolución temporal que abarca los fs a  $\mu$ s. Sin embargo, los cambios en la distribución electrónica debido a la cercanía entre dos átomos deben ser modelada mediante QM, dado al carácter cuántico de los electrones. Utilizando estas metodologías nuestro laboratorio ha estudiado los factores estructurales que determinan la unión de varios ligandos a enzimas de interés biotecnológico y epidemiológico. Se estudió la unión de Trinitrotolueno a la enzima Xenobiótico Reductasa B para evaluar mutantes de la enzima que pudieran ser utilizadas en biorremediación o en procesos productivos. Se propusieron diferentes inhibidores de las proteasas virales de SARS-CoV-2 y nuevas variantes de las enzimas que puedan escapar a los inhibidores actualmente utilizados. Además, se han diseñado inhibidores de la enzima Gingipaína B para controlar gingivitis y la prevención de Alzheimer o la Artritis Reumatoide. Con estas herramientas podemos evaluar miles de compuestos y simular fenómenos que requieren una elevada resolución temporal y espacial de forma eficiente.

Keywords: Diseño de drogas, Simulación de dinamica molecular, Química Cuántica, Actividad enzimática

Financing: Fondecyt postdoctoral 3201013

Acknowledgments: Laboratorio de Nanobiotecnología Universidad Andres Bello Centro de Bioinformática y Biología Integrativa

Tipo de presentación: Panel

**Impact of lncRNAs in a state of active, persistent or latent viral replication of HIV-1 in microglia**

**Impacto de los lncRNAs en un estado de replicación viral de VIH-1 activo, persistente o latente en microglía**

**Isidora Pittet Díaz**<sup>1,2</sup>, Camila Pereira Montecinos<sup>1</sup>, Victoria Rojas Celis<sup>1</sup>, Daniela Toro Ascuy<sup>1</sup>, Sebastián Reyes Cerpa<sup>2</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile

(2) Universidad Mayor, Laboratorio de Genómica Microbiana e Inmunogenómica, Centro de Genómica y Bioinformática, Camino La Pirámide 5750, Santiago, Chile

Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) is the causal agent of the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). The antiretroviral therapy decreased mortality of HIV-1 infection, but the attempts to eradicate the virus from the organism have been unsuccessful. HIV-1 infects various cell types of the immune system, such as lymphocytes, microglia and macrophages. Once HIV-1 has been integrated into the host cell genome, it can produce active, persistent and even latent infection. The microglia can be in a state of active, persistent or latent viral replication, which can subsequently cause neuronal damage. The molecular mechanisms involved in HIV-1 infection in these different replication states in microglia are poorly understood. In recent years, it has been reported that lncRNAs could regulate different biological processes associated with immune response and HIV-1 infections in different cells. Moreover, it has been described that most lncRNAs show distinct temporal and cell-specific expression patterns. However, the relationship of lncRNAs in a state of active, persistent or latent viral replication in microglia are unclear. In this investigation, we are evaluating the differential expression of four lncRNAs that could be relevant in HIV-1 infected microglia. Through RNA-seq, we selected the following lncRNAs: ZBTB11-AS, FGD5-AS1, NEAT1 and LINC01410. Interestingly, ZBTB11-AS change their level expression at 24 hours post-infection (p.i), but there is no difference in the expression of the others lncRNA at this time. Next, we performed *in vitro* experiments to evaluate the level expression of lncRNA mentioned before at 24 hours p.i, 4 days (both active replication) and 21 days p.i (persistent replication). From these experiments, we observed differences in the expression of some of these lncRNAs at 21 days p.i. We are currently performing these experiments to find out what happens in lncRNAs during these states related to HIV-1 infection and what their role is in this context.

Keywords: Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1); Microglia; long non-coding RNA (lncRNA)

Financing: FONDECYT 1230809

Tipo de presentación: Panel

**Accumulation of Norovirus, Hepatitis A and SARS-CoV-2 in biological treatment processes within domestic liquid waste treatment plants**

**Acumulación de Norovirus, Hepatitis A y SARS-CoV-2 en procesos de tratamiento biológico dentro de plantas de tratamiento de residuos líquidos domésticos**

**Angela Plaza**<sup>1</sup>, Manuel Ampuero<sup>2</sup>, Aldo Gaggero<sup>2</sup>, Cristina Villamar<sup>1</sup>

(1) Universidad de Santiago, Departamento de Ingeniería en Obras Civiles, Facultad de Ingeniería, Av. Victor Jara 3659, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile

Los residuos líquidos domésticos, se han convertido en una interesante fuente de vigilancia epidemiológica. Además, se ha reportado la remoción de virus como SARS-CoV-2, Norovirus GI y GII y Hepatitis A (HAV) en plantas de tratamiento de residuos líquidos domésticos (PT-RLs). Sin embargo, los mecanismos asociados han sido poco estudiados. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la carga viral dentro de los reactores biológicos de distintas plantas de tratamiento de residuos líquidos basadas en diferentes tipologías de tratamiento biológico. El estudio realizó un monitoreo en 4 plantas rurales de tratamiento basadas en lodos activados y vermifiltros. En terreno se controlaron tres virus, SARS-CoV-2, Norovirus GI y GII y Hepatitis A (HAV) en los influentes, efluente y en el reactor (tratamiento biológico). Como marcador de control del proceso de extracción viral y contaminación fecal humana se usó poliomavirus JC.

De los reactores analizados, se detectó SARS-CoV-2 en el 100% de ellos. En el caso del reactor de lodo activado + biodisco, se encontró una carga viral de 10 veces mayor (468 CG/mL) que en el influente (48 GC/mL). Por otro lado, en el caso de un reactor de laguna aireada, se detectó 6 veces más carga viral (156 CG/mL) que en el influente (28 GC/mL). Estos resultados demuestran que la carga viral de SARS-CoV-2 se concentra y acumula reactores de lodos activados, gracias a la adhesión de partículas virales a los flóculos biológicos o materia orgánica. En el caso de tratamientos basados en la naturaleza (NBS, por sus siglas en inglés) como los vermifiltros, no se observó acumulación viral, cuyos valores rondaron los 16 GC/mL en el influente y 0 GC/mL en el efluente, gracias a la multiplicidad de procesos inmersos (filtración, precipitación, adsorción, entre otros). En conclusión, los reactores biológicos pueden acumular partículas virales debido a la capacidad que tienen estas de adherirse a flóculos y biopelícula. No obstante, los tratamientos basados en la naturaleza (NBS, por sus siglas en inglés), pueden reportar mayor robustez en cuanto a la remoción de la carga viral, debido a la multiplicidad de procesos inmersos.

Keywords: wastewater-based epidemiology, viruses

Financing: Financiamiento: Proyectos Fondecyt 1190352, 1181656 y Anillo ATE 20007

Tipo de presentación: Panel

**Virus Detection in Two Wastewater Treatment Plants in the Metropolitan Region Using Molecular Techniques and Its Correlation with Infectivity**

**Detección de virus en dos plantas de aguas residuales de la region metropolitana mediante tecnicas moleculares y su correlación con infectividad**

**Sofía Quintana**<sup>1</sup>, Constanza Rios<sup>1</sup>, Manuel Ampuero<sup>1</sup>, Aldo Gaggero<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Programa de Virología, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile

Las aguas residuales corresponden al agua que se encuentra contaminada con diversos tipos de desechos, como restos humanos, desechos animales, industriales y aguas pluviales. Entre estas impurezas, se destacan microorganismos dañinos, incluyendo virus. Aunque el tratamiento de aguas residuales es eficaz en la eliminación de bacterias, la misma efectividad no se observa en el caso de los virus, que a menudo persisten en los efluentes.

En la búsqueda de soluciones para la sequía agravada por el cambio climático, se ha propuesto la reutilización de estas aguas. No obstante, esto puede causar problemas de salud pública, especialmente en el consumo de cultivos que sean regados con el agua contaminada. Es por ello que el presente estudio se centró en la detección y análisis de virus que provocan cuadros gastrointestinales en la población, con el fin de determinar si la causa de los cuadros debido al consumo de alimentos inadecuadamente lavados, son generados por la presencia de rotavirus, norovirus, astrovirus, adenovirus tipos 40-41 y HBoV en estas aguas, además de evaluar la integridad viral y su relación con la capacidad infecciosa.

Para la concentración de muestras de aguas residuales, provenientes de las plantas de tratamiento La Farfana y El Trebal, se emplearon métodos de floculación y ultracentrifugación. Se analizaron un total de 12 muestras, una por trimestre, entre los años 2020 y 2022. Posterior a la extracción de ácido nucleico viral, se utilizaron técnicas de qPCR y RT-qPCR, observando positividad en los efluentes para astrovirus, adenovirus 40-41 y norovirus, no así para rotavirus, mientras que los resultados de HBoV se encuentran en desarrollo. Asimismo, se evaluó la integridad de la envoltura viral mediante el uso de PMAxx, compuesto que se une de forma covalente al material genético, impidiendo su amplificación e indicando alteración de la estructura viral. La mayoría de las muestras PCR positivas amplificaron en presencia de PMAxx, evidenciando la capacidad infectiva viral.

En consecuencia, el uso de efluentes de aguas residuales para riego de cultivos a ras de piso presenta un riesgo para la salud pública.

Keywords: Salud Pública, Aguas Residuales, Wastewater-Based Epidemiology, Virus gastrointestinales

Financing: Proyectos Fondecyt 1181656. Anillo ATE20007

Acknowledgments: Expreso mi más grande agradecimiento a mi familia por apoyarme y entenderme. Agradezco a mi pareja por estar siempre presente y darme animo cuando lo necesito. Al personal de laboratorio por tenerme paciencia y enseñarme todo lo que sé.

Tipo de presentación: Panel

### **Characterization of the conformational changes in the Crimean-Congo Hemorrhagic Fever virus spikes**

### **Caracterización de cambios conformacionales en las espículas de Crimean-Congo Hemorrhagic Fever virus**

**Esteban Rodríguez Rivera**<sup>1,2</sup>, Gianina Arata<sup>1</sup>, Eduardo A. Bignon<sup>1,2</sup>, Nicole Tischler<sup>1,2</sup>

(1) Fundación Ciencia & Vida, Laboratorio de Virología Molecular, Centro Ciencia & Vida, Av. del Valle Norte 725, Santiago, Chile

(2) Universidad San Sebastián, Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina y Ciencias, Bellavista 7, Santiago, Chile

The *Bunyavirales* order includes a large group of human pathogenic viruses, such as hantaviruses, phleboviruses and nairoviruses. The nairoviruses are tick-borne viruses that includes Crimean-Congo Hemorrhagic fever virus (CCHFV), which can infect mammals including humans, where it can cause up to 30% of lethality. Thus, CCHFV is cataloged by the WHO as one of the priority agents in infectious diseases. Bunyaviruses include a lipid envelope projecting Gn/Gc glycoprotein spikes of different multimerization order with Gc having a class II fusion protein fold. In nairoviruses, the oligomerization of the spikes is still unknown. The viral spikes induce virus cell entry by receptor interaction and subsequent virus-cell membrane fusion. Also, because the spikes are surface exposed, they are the main targets of neutralizing antibody responses, and hence represent attractive antigens to induce protective immunity. Some viruses display a "breathing" behavior, where the spikes undergo a dynamic fluctuation leading to the exposure or masking of antigenic sites. In this work, we aim to study whether CCHFV spikes show dynamic fluctuations, as we have previously shown for hantaviruses. To test this, we transfect cells with a vector leading to the formation and release of virus-like particles (VLPs). Then, we corroborated their reactivity with commercial monoclonal antibodies in non-reductant conditions. We further analyzed the oligomerization of the spikes using BN-PAGE in a temperature-dependent manner, by incubating the particles at different temperatures and subsequent solubilization with a detergent, proving that they dissociate in a temperature-dependent manner. Through liposome-coflotation assays we are currently studying if CCHFV VLPs interact with artificial endosomal-membranes (liposomes) in dependence of temperature and pH. Finally, we probe that CCHFV spikes fluctuate with temperature, however, it remains to be resolved if the temperature effect in the spikes is reversible.

Keywords: human pathogenic virus, nairovirus, CCHFV, spike dynamics, class II fusion protein

Financing: This work was supported by FONDECYT (1221811) of ANID, Chile, and Centro Ciencia & Vida BASAL (FB210008) (Excellence Center). This participation was also supported by Vicerrectoría of Research and Doctorates (USS-FIN-23-CNGD-13) of San Sebastian University (USS), Chile.



Tipo de presentación: Panel

**ComicBacterias: Bringing Microbiology Closer to the General Public**

**ComicBacterias: Acercando la microbiología al público en general**

**Paola Scavone**<sup>1</sup>, Valentina Carrasco<sup>2</sup>, María José González<sup>1</sup>, Daniela Arredondo<sup>1</sup>, Nicolás Peruzzo<sup>3</sup>, Alejandro Rodríguez-Juebe<sup>3</sup>, Cecilia Taulé<sup>4</sup>, Gastón Azziz<sup>5</sup>, Karen Malán<sup>4</sup>, María Morel<sup>6</sup>, Ana Umpiérrez<sup>1</sup>, Vanessa Amarelle<sup>4</sup>

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Departamento de Microbiología, Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay

(2) Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Bionanotecnología y Microbiología, Facultad de Ciencias de la Vida, Av. República 330, Santiago, Chile

(3) Bandas Educativas, Montevideo, Uruguay

(4) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay

(5) Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Av. Gral. Eugenio Garzón 780, Montevideo, Uruguay

(6) Universidad de la República, Laboratorio de Microbiología de Suelos, Facultad de Ciencias, Mataojo 2055, Montevideo, Uruguay

A lo largo de la historia, las bacterias se han asociado principalmente con enfermedades humanas y animales. Como microbiólogos, todos conocemos la relevancia e impacto de los microorganismos en nuestra vida diaria. Incluso más, la pandemia de COVID-19 puso de manifiesto que la alfabetización en microbiología es fundamental para nuestra sociedad.

Uno de los problemas más desafiantes en microbiología es que no podemos ver los microorganismos y virus a simple vista. Además, es aún más complicado para los niños, ya que aún no contamos con planes de estudio específicos de microbiología adaptados a su edad y necesidades. En este contexto, como microbiólogos, necesitamos explorar diferentes estrategias para comunicar la disciplina. Convencidos de la importancia que la educación científica tiene en los niños, hemos estado involucrados en un proyecto que utiliza cómics como herramienta para la alfabetización microbiana, principalmente dirigido a niños y al público en general.

“La historia más pequeña jamás contada” fue el primer cómic que nuestro grupo (ComicBacterias) desarrolló, le siguió “Coco y Fran contra el coronavirus”, “Vacunas: mitos y realidades” y recientemente “El ataque del Zomvirus”. Además del material en formato historieta, hemos desarrollado diversos juegos que permiten acercar a las infancias a la microbiología de forma lúdica. Todo el material que hemos generado se encuentra disponible para descargar de forma gratuita.

El uso de diferentes estrategias para enseñar microbiología empoderará a los niños y, como consecuencia, a los padres y, finalmente, a la sociedad en general, para tomar decisiones informadas, tener argumentos a favor y en contra de la desinformación y las noticias falsas.

Keywords: Educación, Cómic, Enseñanza, Popularización de la ciencia

Financing: ANII PCTI\_X\_2016\_1\_131608 y FIC\_C\_2020\_1\_161298CSIC-UdeLaRLAGE y Cia S.A. (Lallemand)TAGACA

Tipo de presentación: Panel

### A role for extracellular membrane vesicles in *Acidithiobacillus ferrooxidans*' cell-cell communication?

Diego San Martín Figueroa<sup>1</sup>, Matías Castro-Piña<sup>2</sup>, Alvaro Banderas<sup>3</sup>, Nicolas Guiliani<sup>1</sup>, Matías Castro<sup>4</sup>

(1) Laboratorio de Comunicación Bacteriana, Universidad de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago, Chile

(2) Laboratorio de Microbiología Ambiental, Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Concepción, Chile

(3) Institut Curie, Université PSL, Sorbonne Université, CNRS UMR168, Laboratoire Physico-Chimie, 75005, Paris, France

(4) Instituto Milenio de Oceanografía 4070386, Concepción, Chile

The biomining bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* possesses a quorum sensing (QS) cell-cell communication system mediated by the hydrophobic acyl homoserine lactone (AHL) extracellular signal. This modulates cell attachment on mineral surfaces, a crucial step for bioleaching efficiency. The AHL-based QS mechanism requires the synthesis of AHLs inside the cell and their release into the extracellular space, where their concentration increases in a cell-density dependent manner. Once an AHL threshold level is reached, cells respond collectively through the coordination of gene expression. In *A. ferrooxidans*, the QS system comprises the AHL-synthase AfeI, the AHL-receptor and transcriptional regulator AfeR, and the DNA binding sites for the AfeR-AHL complex (*afe*-boxes). It has been reported that the export of AHLs with short and medium-sized acyl chains occurs either by diffusion or by a facilitating pathway through membrane transporters, respectively. Intriguingly, AHLs produced by AfeI are highly hydrophobic due to its long acyl chain up to 18 carbons making both mechanisms unlikely to suffice for an effective export. Interestingly, membrane vesicles (MVs) are nano-sized proteoliposomes derived from the bacterial envelope that perform a broad diversity of functions. Despite the molecular mechanism of MV synthesis in bacteria is not well understood, the secretion and reception of MVs is recognized as a widespread intercellular communication system. Recently, the production of MVs have been reported in some members of *Acidithiobacillus* genus, however their functions remain unexplored. Here, we assessed whether MVs could provide an efficient carrier mechanism to export *A. ferrooxidans* long chain AHLs. By using a thin-layer chromatography (TLC) assay coupled to an AHL biosensor [*Agrobacterium tumefaciens* NTL4 (pZLR4)], we detected different hydrophobic AHLs in supernatant extracts obtained from *A. ferrooxidans* ATCC 53993 cultures. Then, we isolated MVs from these supernatants and detected AHLs using the same assay, indicating a direct interaction between MVs and AHLs. Finally, we inspected MVs protein cargo by LC-MS/MS proteomic analysis, finding diverse proteins encoded by genes downstream of *afe*-boxes. We suggest that QS in *A. ferrooxidans* is directly related to vesiculation process, not only as means to transport signals, but also transport response determinants. The significance of this observation is discussed.

Keywords: *Acidithiobacillus*, Quorum Sensing (QS), Membrane Vesicles (MVs), Biofilm, cell-cell communication

Financing: Fondecyt 11201114; ICN12\_19-instituto Milenio de Oceanografía (IMO).

Acknowledgments: Melisa Institute.

Tipo de presentación: Panel

### **Unveiling the role of PRMT1 in HIV-1 Replication**

**Iván Torres Durán**<sup>1,2,3</sup>, Felipe Velásquez<sup>1,3</sup>, Ricardo Soto Rifo<sup>1,2,3</sup>, Fernando Valiente<sup>1,2,3</sup>

(1) Laboratory of Molecular and Cellular Virology, Virology Program, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Universidad de Chile, Santiago, Chile

(2) Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Santiago, Chile

(3) HIV/AIDS Workgroup (CHAIR), Faculty of Medicine, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) is the etiological agent of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Combination antiretroviral therapy (cART) has improved patient quality of life, however, owing to resistance mutations and accumulating severe side effects remain as enormous challenges to overcome. In HIV-1 replication, the 9-kb full-length RNA serves two roles: it is both packaged into nascent viral particles as the genetic material and serves as the template for translating Gag/Gag-Pol polyproteins. Gag (pr55), a structural protein, engages with approximately 1800 cellular proteins, orchestrating viral particle assembly and encapsidation. Remarkably, it also plays a role in evading the host immune response. Given its central role in the HIV-1 lifecycle, Gag emerges as a compelling target for drug development. Protein post-translational modifications (PTMs) involve covalent changes, like proteolytic cleavages or adding functional groups to amino acids after protein biosynthesis. With over 200 types, PTMs impact protein activity, localization, degradation, and interactions with other molecules. Protein methylation is one of the major type of PTM, with arginine methylation being the most studied. PRMT1 catalyzes approximately 80% of this modification, which is involved in processes such as: transcription, protein-protein and protein-nucleic acid interaction, immune response, RNA metabolism, and translation control. Due to its diversity of processes, our focus centers on elucidating how changes in the expression and function of Protein Arginine Methyl Transferase 1 (PRMT1) impact the HIV-1 Gag protein. Through protein detection by Western Blot, our investigations have unveiled a significant increase in PRMT1 levels within HeLa cells expressing a non-replicative HIV-1 vector (pNL4.3 Δenv). In HIV-1 expressing cells, we have ascertained that PRMT1 overexpression results in elevated Gag protein levels after a 24-hour timeframe. Conversely, treatment with TC-E 5003, a selective PRMT1 inhibitor, diminishing asymmetric dimethylarginine (ADMA) modifications, detected by a specific antibody. The ADMA reduction leads to a dramatic reduction in Gag protein abundance in HIV-1-expressing cells. These findings provide compelling evidence for the relevance of PRMT1 in HIV-1 replication. Therefore, this research introduces a novel dimension, proposing the potential repurposing of these inhibitors as an alternative therapeutic approach for managing HIV-1 infections.

**Keywords:** Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1), Gag synthesis, post-translational modification, protein methylation, Inhibitor

**Financing:** This work is supported by FONDECYT 1180798 & 1211547 (FV-E); Anillo inflammation in HIV/AIDS ATE220016 (InflammaIDS) (FV-E, RSR), 1190156 (RSR). ANID-ICM ICN2021 045 (FV-E, RSR).

Tipo de presentación: Panel

**Role of the HIV-1 Gag viral protein in the formation of biomolecular condensates in vitro, mediated by Ras-GTPase activating protein-binding protein 1 (G3BP1)**

**Rol de la proteína viral Gag de HIV-1 en la formación de condensados biomoleculares in vitro, mediados por la proteína 1 de unión a la proteína activadora de Ras GTPasa (G3BP1)**

**Valeria Vásquez Sáez**<sup>1</sup>, Andrés Bustamante<sup>1</sup>, Ricardo Soto-Rifo<sup>1,2</sup>, Fernando Valiente-Echeverría<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Chile, Molecular and Cellular Virology Laboratory, Virology Program, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Faculty of Medicine, Santiago, Chile

Following a viral infection, the host cell mounts a robust antiviral immune response that creates an unfavorable environment for viral replication. As a result, protein synthesis partially shuts down and biomolecular condensates, particularly stress granules (SGs), form. One of the key proteins involved in the biogenesis of SGs is the Ras GTPase-activating protein-binding protein 1 (G3BP1). This protein belongs to the RNA-binding protein family; and its structure is primarily disordered due to the presence of intrinsically disordered regions. Our laboratory has previously shown that the HIV-1 Gag viral protein can block the assembly of SGs to facilitate viral replication. However, the mechanism by which it achieves this effect has not yet been fully understood. Here, we aimed to characterize the formation of biomolecular condensates *in vitro* in the presence of the HIV-1 Gag viral protein and viral genomic RNA. To do so, we successfully purified recombinant G3BP1 protein using HisTag affinity column chromatography under low pressure and size exclusion chromatography. Our results shed light on one of the possible mechanisms by which the HIV-1 Gag viral protein inhibits SG assembly via its interaction with G3BP1 *in vitro*. We expect that our findings will prompt further investigations of SG assembly generated *in vivo* as a result of HIV-1 infections.

Keywords: G3BP1, HIV-1, Gag protein, biomolecular condensates

Financing: Financing: Acknowledgment: FONDECYT 1211547 (F.V.-E.), FONDECYT 1190156 (R.S.-R.), ANID-ICM, ICN2021\_04, and Beca de Doctorado Nacional ANID, Año académico 2023 Folio 21232039

Tipo de presentación: Panel

### **Glycation modulates dual *Streptococcus mutans*/*Candida albicans* biofilm formation on bioengineered microfabricated dentin analogs**

**simon alvarez**<sup>1,2</sup>, Carla Inostroza<sup>2</sup>, Jose Morales<sup>2,3</sup>, Paola Tiozzo<sup>2</sup>, Sebastian Aguayo<sup>2,4</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Chile, Medicine School, Faculty of Medicine, Diagonal Paraguay 362, Santiago, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, Institute for Biological and Medical Engineering, Schools of Engineering, Medicine and Biological Sciences, Vicuña Mackenna 4860, Macul, Chile

(3) Universidad Mayor, Santiago, Region Metropolitan, Chile, School of Biotechnology, Faculty of Sciences, Engineering and Technology, Camino La Pirámide 5750, Huechuraba, Chile

(4) Pontificia Universidad Católica de Chile, School of Dentistry, Faculty of Medicine, Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

Dental caries affects over 2.5 billion people globally, near-universally over 65-year-olds. Bacterial acids in dental biofilms cause demineralization of tooth structure. The primary biofilm species, *Streptococcus mutans*, produces glucosyltransferase, promoting glucan production and interbacterial binding. Recently, *Candida albicans* has been discovered in root caries lesions, enhancing *S. mutans* cariogenicity, increasing plaque accumulation, and contributing to root caries development. The challenge of multispecies biofilm formation on teeth surfaces necessitates relevant *in vitro* colonization models. Microfabrication, especially lithography, offers a solution by imprinting computer-generated patterns on biomaterial substrates at micrometer/nanometer scales. Therefore, this study presents an *in-vitro* microfabricated biomimetic dentin surface to investigate bacterial adhesion and biofilm formation of dual-species biofilms in the context of root caries on aged dental surfaces.

A computer-generated pattern of 5µm diameter micro-pits spaced at 8 µm intervals, was used to create micropatterned silicon wafers through photolithography. Subsequently, a Poly-dimethyl-siloxane (PDMS) mold was generated via silicon wafer replication, followed by treatment with oxygen plasma-cleaner and functionalized with 3-aminopropyl-triethoxysilane. Furthermore, surfaces were collagen coated and exposed to a mineralization solution to allow hydroxyapatite-crystals formation. For dental dentin aging emulation, samples were incubated with methylglyoxal (MGO) for 48hrs. A dual-species biofilm assay involved *S. mutans* and *C. albicans* seeding on mineralized and non-mineralized collagen substrates (1:1 ratio), incubated in BHI and TSB media at 37°C and 5% CO<sub>2</sub> for 24hrs. Finally, biofilms were incubated and stained with SYTO9 (1:1000) in BHI and CalcoFluor (1:1) in TSB both for 30 minutes. Samples were analyzed with Airyscan confocal microscopy to determine biofilm formation and morphology.

PDMS-Collagen exhibited higher biofilm formation versus MGO-exposed sample. In contrast, the PDMS-collagen-mineralized surface showed no significant differences in biofilm formation compared to the MGO-exposed counterpart. PDMS-collagen and PDMS-collagen-mineralized surfaces displayed similar growth of *S. mutans*/*C. albicans*, while the PDMS-collagen-mineralized-MGO sample demonstrated specific increased growth of *C. albicans* and hyphal development, with a reduced presence of *S. mutans*.

These results align with recent literature, indicating that elderly patients exhibit a higher presence of *C. albicans* in root caries and suggest that microfabrication of biomimetic dentin using photolithography enables the study of dual-species adhesion and biofilm formation *in-vitro* within the context of dental caries.

Keywords: oral biofilm, dental biomaterials, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, Dental caries

Financing: This project was supported by ANID FONDECYT #1220804

Acknowledgments: This project was supported by ANID FONDECYT #1220804

# Índice



Sociedad de Microbiología de Chile



# CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA

Del 04 de diciembre al 07 de diciembre, 2023

Hotel Enjoy Pucón, Chile

## AUSPICIADORES

