



ALAM
2018

XXIV CONGRESO LATINOAMERICANO
DE MICROBIOLOGIA

Santiago, Chile



ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA
DE MICROBIOLOGÍA



XXIV Congreso Latinoamericano de Microbiología
XL Congreso Chileno de Microbiología
II Reunión Anual de la Asociación Chilena de Inmunología
**IX Reunión de la Sociedad Latinoamericana de Tuberculosis
y otras Micobacteriosis**

**Centro de Eventos y Convenciones Centroparque,
ubicado en el Parque Araucano, Santiago, Chile**

Del 13 al 16 de noviembre de 2018

alam.science/alam-2018

LIBRO DE RESÚMENES





Invitación

La Asociación Latinoamericana de Microbiología (ALAM), la Sociedad de Microbiología de Chile (SOMICH), la Asociación Chilena de Inmunología y la Sociedad Latinoamericana de Tuberculosis y otras Micobacteriosis tienen el agrado de dar la bienvenida al XXIV congreso ALAM.

En conjunto, todas las sociedades queremos que este congreso sea una gran ventana para mostrar lo mejor de la investigación en microbiología realizada en Latinoamérica. Los invitamos cordialmente a participar de este evento que se realizará en la excitante Ciudad de Santiago de Chile, junto a la majestuosa Cordillera de los Andes y próxima al sorprendente Océano Pacífico, para compartir experiencias, recibir actualizaciones, establecer nexos y planificar futuras colaboraciones, junto al resto de la comunidad latinoamericana de microbiólogos.

Atentamente

Dr. Nicolas Guiliani
Presidente ALAM 2018

Dra. Claudia Saavedra
Presidente Comité Organizador ALAM2018
Presidente de la Sociedad de Microbiología de Chile
Embajador ASM-CHILE





COMITÉ

Organizador

COMITÉ ORGANIZADOR ALAM - DIRECTORIO SOMICH



Presidente ALAM – Presidente Anterior

Dr. Nicolas Guiliani

Profesor Departamento de Biología
Facultad de Ciencias Universidad de Chile
Universidad de Chile

Email: nguilian@uchile.cl

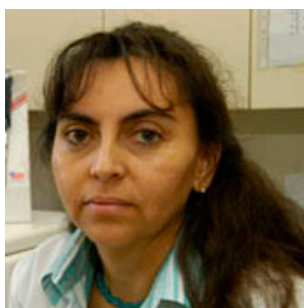


Presidenta SOMICH

Dra. Claudia Saavedra

Profesora Titular
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Andrés Bello

Email: csaavedra@unab.cl



Vicepresidenta SOMICH

Dra. Cecilia Toro

Profesor Asociado
ICBM, Facultad de Medicina
Universidad de Chile

Email: cetoro@u.uchile.cl



Tesorero SOMICH

Dr. Luis Castillo

Profesor Asociado
Departamento de Biología
Facultad de Ciencias
Universidad de La Serena

Email: lcastillo@userena.cl



Secretario SOMICH

Dr. Renato Chavéz

Profesor Asociado
Facultad de Química y Biología
Universidad de Santiago de Chile

Email: renato.chavez@usach.cl



Director SOMICH

Dr. Francisco Remonsellez

Profesor Asociado
Departamento de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas
Universidad Católica del Norte

Email: fremonse@ucn.cl



Director SOMICH

Dr. Juan Carlos Salazar

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



Director SOMICH

Dr. Mario Tello

Profesor Asistente
Centro de Biotecnología Acuícola, Facultad de Química y Biología,
Universidad de Santiago de Chile

Email: mario.tello@usach.cl



Director SOMICH

Dr. Fernando Valiente-Echeverría

Profesor Asistente
ICBM, Facultad de Medicina
Universidad de Chile

Email: fvaliente@uchile.cl

COMITÉ ORGANIZADOR ASOCHIN



President

María Rosa Bono, PhD

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

Email: mrbono@uchile.cl



Vice-President

Karina Pino, PhD.

Associate Professor, Centro de Investigación Biomédica.
Facultad de Medicina, Universidad de los Andes.

Email: kpino@uandes.cl



Secretary

Caroll Beltrán, PhD.

Assistant Professor, Hospital Clínico Universidad de Chile.
Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Email: cbeltran@med.uchile.cl



Treasurer

Alejandro Escobar, PhD.

Assistant Professor, Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas.
Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

Email: a.escobar@odontologia.uchile.cl



Director

Alvaro Lladser, PhD.

Principal Investigator, Fundación Ciencia y Vida

Email: alladser@cienciavida.org



Director

Luis Mercado, PhD.

Full Professor, Instituto de Biología.
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Email: luis.mercado@pucv.cl



Director

Fabiola Osorio, PhD.

Assistant Professor, Programa Disciplinario de Inmunología.
Instituto de Ciencias Biomedicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Email: fabiolaosorio@med.uchile.cl



Director

Rodrigo Pacheco, PhD.

Associate Professor, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas,
Universidad Andrés Bello



Director

María Isabel Yuseff, PhD.

Assistant Professor, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Email: myuseff@bio.puc.cl

Comité Organizador SLAMTB

- **President** Patricia Del Portillo - Colombia
- **Vice president** Sylvia Leão - Brazil
- **Secretary** Angel Cataldi - Argentina
- Clara Espitia - Mexico
- Fabiana Bigi - Argentina
- Carlos Robledo - Uruguay
- Pedro Eduardo Almeida da Silva - Brazil
- Wellman Ribón - Colombia



COMITÉ

Científico

COMITÉ CIENTÍFICO



Dr. Francisco Chavez

Universidad de Chile

Email: fpchavez@uchile.cl

Linkedin: <https://www.linkedin.com/in/fpchavez/>



Dra. Raquel Quatrini

Fundación Ciencia y vida

Email: raquelquatrini@cienciavida.org



Dr. Luis Larrondo

Universidad Católica

Email: llarrondo@bio.puc.cl

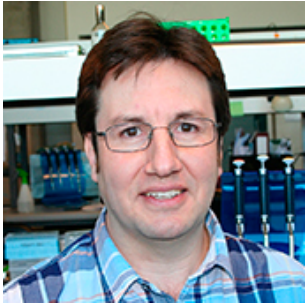
Linkedin: <https://www.linkedin.com/in/luis-larrondo-a6613460/>



Dra. Claudia Saavedra

Profesora Titular
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Andrés Bello

Email: csaavedra@unab.cl



Dr. Carlos Santiviago

Universidad de Chile

Email: csantiviago@ciq.uchile.cl

Linkedin: <https://www.linkedin.com/in/carlos-santiviago-a6483544/>



Dr. Fernando Valiente

(Coordinador General)

Universidad de Chile

Email: fvaliente@uchile.cl

Linkedin: <https://www.linkedin.com/in/fvalient/>

Miembros del Comité Científico extendido

Revisores de resúmenes SOMICH/ALAM

- Dr. Daniel Aguayo, Universidad Andrés Bello
- Dr. Gonzalo Barriga, Universidad de Chile
- Dr. Carlos Blondel, Universidad Autónoma de Chile
- Dra. Susan Bueno, P. Universidad Católica de Chile
- Dr. Iván Calderón, Universidad Andrés Bello
- Dr. Luis Castillo, Universidad de La Serena
- Dr. Renato Chávez, Universidad de Santiago de Chile
- Dra. Nicole Ehrenfeld, Universidad Santo Tomás
- Dra. Verónica García, Universidad de Santiago de Chile
- Dr. Álex González, Universidad de Los Lagos
- Dra. Claudia Lefimil, Universidad de Chile
- Dr. Oscar León, Universidad de Chile
- Dra. Gloria Levicán, Universidad de Santiago de Chile
- Dra. Carla Lozano, Universidad de Chile
- Dra. Vivian Luchsinger, Universidad de Chile
- Dra. Paola Navarrete, Universidad de Chile
- Dr. José Manuel Pérez, Universidad Andrés Bello
- Dr. Francisco Remonsellez, Universidad Católica del Norte
- Dra. Angélica Reyes, Universidad de Chile
- Dr. Juan Carlos Salazar, Universidad de Chile
- Dr. Francisco Salinas, Universidad de Santiago de Chile
- Dr. Mario Tello, Universidad de Santiago de Chile
- Dra. Cecilia Toro, Universidad de Chile
- Dra. Magaly Toro, Universidad de Chile
- Dra. Inmaculada Vaca, Universidad de Chile
- Dra. Marcela Wilkens, Universidad de Santiago de Chile

Revisores de resúmenes ASOCHIN

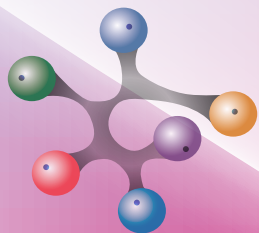
- Dra. María Rosa Bono, Universidad de Chile.
- Dr. Álvaro Lladser, Fundación Ciencia & Vida

Comité Científico SLAMTB

- Dra. Ana María Zárraga, Universidad Austral de Chile
- Dr. Jorge Fernandez, Instituto de Salud Pública de Chile

Revisores de resúmenes SLAMTB

- Dra. Fabiana Bigi, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina
- Dr. Rogelio Hernández-Pando, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, Mexico DF
- Dr. Carlos Robello, Instituto Pasteur de Montevideo, Uruguay
- Dr. Jaime Robledo, Corporación para Investigaciones Biológicas, Colombia
- Dra. Andrea von Groll, Universidad Federal de Rio Grande FURG, Brasil



BIOTECOM®

es Biología Molecular

DIAGNÓSTICO HUMANO

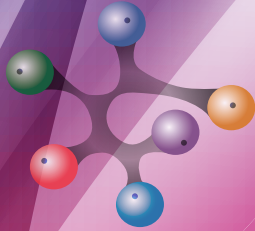
DIAGNÓSTICO AGROVETERINARIO

INVESTIGACIÓN

SERVICIOS

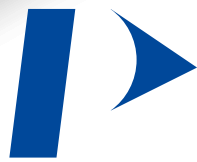
AV. ECHEÑIQUE # 5839 OF. 502 - LA REINA

WWW.BIOTECOM.CL



BIOTECOM[®]

es Biología Molecular



PerkinElmer[®]
For the Better

SIEMENS



Check & Trace
Salmonella



genesig



Miltenyi Biotec



MOLBIOL



Asuragen[®]



FAVORGEN[®]
BIOTECH CORP.

AV. ECHEÑIQUE # 5839 OF. 502 - LA REINA

WWW.BIOTECOM.CL

GeneProof
Molecular diagnostics for your routine



ESTABLISHED INNOVATIONS IN DIAGNOSTICS

Avanzando

Juntos





ESPECIALISTAS EN SERVICIOS DE VENTA, DISTRIBUCIÓN Y ASESORÍA EN PRODUCTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR.

Somos el distribuidor exclusivo de los equipos y reactivos GeneXpert de Cepheid.

rochembiocare.com
(+56 2) 2664 8781 - 2664 1858
ventasrbchile@rochembiocare.com



ROCHEM[®]
BIOCARE CHILE S.A



¿QUÉ ES ALAM?

Historia



Sobre la ALAM y el congreso ALAM

La Asociación Latinoamericana de Microbiología (ALAM) está constituida por las Asociaciones Nacionales de Microbiología de los Países, que en la actualidad incluye activamente a las asociaciones de microbiología de Argentina, Chile, Uruguay, Paraguay, Brazil, Colombia, Ecuador, México.

El propósito de ALAM, declarado explícitamente en sus **estatutos**, es “unir a los Microbiólogos en todo lo que sea de interés para el ejercicio y el progreso de su disciplina y la investigación científica”

Para lograr este propósito los objetivos de la ALAM son asegurar la continuidad de los Congresos Latinoamericanos de Microbiología, organizar diversas reuniones de carácter científico, mantener en contacto las Asociaciones de Microbiología y Ciencias afines de Latinoamérica y otros países, ayudar a la formación y desarrollo de Asociaciones de Microbiología en los Países Latinoamericanos, estimular el intercambio y perfeccionamiento entre profesores, investigadores y estudiantes de Microbiología, impulsar el conocimiento microbiológico en los diferentes Países Latinoamericanos a través de Congresos, discusiones y publicaciones, y estimular la investigación científica.

Actualmente, los congresos de ALAM se llevan a cabo cada 2 años en un país elegido previamente. Esta periodicidad se ha mantenido constante desde mediados de la década de 1990. Los congresos de ALAM son un punto de encuentro para Microbiólogos latinoamericanos y brindan la oportunidad para intercambiar información, discutir estrategias de investigación, y planificar cursos de acción, cooperación y desarrollo para proyectos de interés común. También son un foro abierto para encontrarse con colegas de otros países que, por su propia iniciativa o invitados por la organización, asistir al evento.

El resultado es un intercambio científico animado e inspirador que especialmente beneficia a los jóvenes investigadores Latinoamericanos, que pueden aumentar sus conocimientos, aprende nuevas técnicas y contribuye con su entrenamiento al progreso personal y social.

Organización





PROGRAMA ALAM

Martes 13 de Noviembre

PLENARIA 1 - Auspiciada por American Society of Microbiology



“Healthy Guts Exclude Oxygen”

Andreas J. Bäumler, Ph.D. Professor in the Department of Medical Microbiology and Immunology at the University of California, Davis School of Medicine, in Davis, California, USA

The Bäumler lab studies the human disease manifestations associated with Salmonella serotypes such as typhoid fever caused by *Salmonella typhi* and gastroenteritis caused by non-typhoidal *Salmonella* serotypes (e.g. *S. Typhimurium*). One focus of Dr. Bäumler’s research is to understand why typhoid fever and gastroenteritis differ in the host response elicited at the site where both infections originate, the intestinal mucosa.

The Bäumler lab aims to understand what *Salmonella* virulence factors and host factors contribute to the different disease manifestations caused by different serotypes of *Salmonella*.

Email: ajbaumler@ucdavis.edu

Web: https://www.ucdmc.ucdavis.edu/medmicro/Faculty_MR/Baumler/baumler_index_mr.html

Twitter:

PLENARIA 2 - Auspiciado por Asociación Chilena de Inmunología



“Neuroimmune interactions in the intestinal mucosa associated with irritable bowel syndrome pathogenesis”

Maria Vicario, Ph.D. Associate Researcher, Digestive Diseases Research Unit, Vall d’Hebron Hospital, Autonomous University, Barcelona. Spain (ASOCHIN)

Her research line is focused on the identification of neuro-immune mechanisms associated with mucosal barrier alterations that compromise organ function, with a special focus on digestive diseases and functional disorders. She is a member of the European Society of Eosinophilic Oesophagitis (EUREOS) and coordinator of the Strategic Action of CIBER-EHD (2016) for the establishment of research networks in basic science in gastroenterology in Spain.

DATOS WEB:

contacto: maria.vicario@vhir.org

<http://www.vhir.org/portal1/fitxa-personal.asp?p=vicario-perez-maria&id=31225>

<http://www.vhir.org/portal1/grup-lines.asp?s=recerca&contentid=187019&idrefer=187018>

Maria Vicario | PhD | VHIR Vall d’Hebron Research Institute, Barcelona | VHIR | Division of Digestive and Liver Diseases | ResearchGate

SIMPOSIO S1 - Bacterias en Enfermedades Orales: ¿Quiénes son y qué están haciendo?

Coordinador/a (nombre) Carla Lozano Moraga

Email address: clozano@odontologia.uchile.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad de Chile

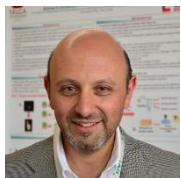
Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Bacterias en Enfermedades Orales: ¿Quiénes son y qué están haciendo?

Breve descripción del Simposio: El microbioma oral es una comunidad bacteriana que coexiste en la cavidad bucal con una diversidad de cientos de especies bacterianas. Este ecosistema cuando se encuentra en simbiosis, el hospedero está estable, sano oralmente. Sin embargo, cuando se altera este microambiente se produce una disbiosis, modificando las interacciones entre las especies, por lo que algunas de ellas prevalecerán en la nueva condición promoviendo la aparición de enfermedades como caries dental y periodontitis.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Rodrigo Giacaman

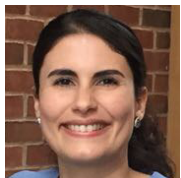
Panelista 1 (Afiliación Completa): Unidad de Cariología, Departamento de Rehabilitación Oral, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Talca

Panelista 1 (Ciudad y País): Talca, Chile

Panelista 1 (email): giacaman@utalca.cl

Panelista 1 (Título de la Conferencia): “Caries dental: infección o disbiosis? El delicado equilibrio ecológico en el biofilm dental” / Dental caries: infection or dysbiosis? The delicate ecological balance in the dental biofilm”.

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0003-3362-5173>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Loreto Abusleme

Panelista 2 (Afiliación Completa): Oral Immunity and Inflammation Unit, NIDCR, NIH

Panelista 2 (Ciudad y País): Bethesda, Maryland, United States

Panelista 2 (email): loreabusleme@gmail.com

Panelista 2 (Título de la Conferencia): “Cambios en estructura y función de comunidades bacterianas asociadas a las enfermedades periodontales” / “Changes in structure and function of bacterial communities associated with periodontal diseases”.

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0002-7210-1236>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Claudia Lefimil

Panelista 3 (Afiliación Completa): Laboratorio Bioquímica y Biología Oral, Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad Odontología, Universidad de Chile

Panelista 3 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 3 (email): clefimil@odontologia.uchile.cl

Panelista 3 (Título de la Conferencia): “Comunicación en la biopelícula dental: Quorum sensing en bacterias orales” / “Communication in the dental biofilm: Quorum sensing in oral bacteria”

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0002-5164-3757>

SIMPOSIO S2 - Virus en los Alimentos y Aguas: Importancia País.

Coordinador/a (nombre) Viviana Cachicas

Email address: vcachica@ispch.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Instituto de Salud Pública de Chile

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago de Chile

País: Chile

Título del Simposio: Virus en los Alimentos y Aguas: Importancia País.

Breve descripción del Simposio: El simposio presentará una actualización de los mecanismos de patogenicidad de Norovirus y Hepatitis A, experiencia país en la caracterización ambiental de virus asociados a brotes masivos en Chile y un modelo de vigilancia aplicable a la agricultura.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Dra Gloria Sanchez Moragas

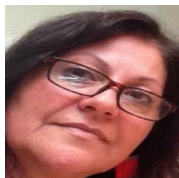
Panelista 1 (Afilación Completa): Departamento de Microbiología y Ecología. Universidad de Valencia.

Panelista 1 (Ciudad y País): Valencia España

Panelista 1 (email): gloriasanchez@iata.csic.es

Panelista 1 (Titulo de la Conferencia): Patogenicidad de Norovirus y Hepatitis A (Pathogenicity of Norovirus and Hepatitis A virus).

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): <http://www.researcherid.com/rid/C-1307-2009>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Viviana Cachicas

Panelista 2 (Afilación Completa): Microbiología de Alimentos. Instituto de Salud Pública de Chile.

Panelista 2 (Ciudad y País): Santiago Chile

Panelista 2 (email): vcachica@ispch.cl

Panelista 2 (Titulo de la Conferencia): Norovirus y Hepatitis A en Aguas y Alimentos asociados a brotes en Chile: 2010 -2017. (Norovirus and Hepatitis A virus related to outbreaks in Chile: 2010-2017)

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-002-1554-8496>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Veronica Garcia

Panelista 3 (Afilación Completa): Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Santiago.

Panelista 3 (Ciudad y País): Santiago Chile

Panelista 3 (email): veronica.garcia@usach.cl

Panelista 3 (Titulo de la Conferencia): Detección de virus en berries. Importancia de aguas de riego y la manipulación de la producción. (Detection of viruses in berries. Importance of irrigation water and production management)

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0002-6906-2221>

SIMPOSIO S3 - Comunidades Microbianas en Ambientes Poco Explorados.

Coordinador/a (nombre) Dra. Beatriz Camara

Email address: beatriz.camara@usm.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad Técnica Federico Santa María

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Valparaíso

País: Chile

Título del Simposio: Comunidades Microbianas en Ambientes Poco Explorados.

Breve descripción del Simposio: Comunidades Microbianas en Ambientes Poco Explorados.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Dra. María Mercedes Zambrano

Panelista 1 (Afiliación Completa): Corpogen

Panelista 1 (Ciudad y País): Bogotá, Colombia

Panelista 1 (email): mechaszambrano@gmail.com

Panelista 1 (Título de la Conferencia): Diversidad y función de microbiomas en ecosistemas de páramo

Diversity and function of microbiomes in paramo ecosystems

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0002-0796-4473>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Dr. Alexandre Macedo

Panelista 2 (Afiliación Completa): Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

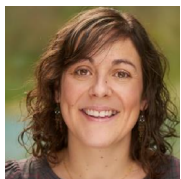
Panelista 2 (Ciudad y País): Porto Alegre, Brasil

Panelista 2 (email): alexandre.macedo@ufrgs.br

Panelista 2 (Título de la Conferencia): Cold- and salt-adapted microorganisms as source for antibiofilm metabolites

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID):

https://www.researchgate.net/profile/Alexandre_Macedo



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Dra. Lorena Fernández Martínez

Panelista 3 (Afiliación Completa): Biology Department, Edge Hill University

Panelista 3 (Ciudad y País): Ormskirk, UK

Panelista 3 (email): fernandl@edgehill.ac.uk

Panelista 3 (Título de la Conferencia): Cool tools for the genetic manipulation of Actinomycetes.

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

<https://www.edgehill.ac.uk/biology/staff/lorena-fernandez-martinez/>

SIMPOSIO S4 - 100 years since the 1918 pandemic: developments in vaccines and understanding pathogenesis

Coordinador: Rafael A. Medina

Email address: rafael.medina.silva@gmail.com

Nombre de la Institución a la que pertenece: Pontificia Universidad Católica de Chile

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: 100 years since the 1918 pandemic: developments in vaccines and understanding pathogenesis

Breve descripción del Simposio: This symposium will be held in the year that we commemorate 100 years since the 1918 Spanish influenza pandemic emerged killing ~50 million people worldwide. Hence, this symposium will cover state of the art research developments in the areas of viral pathogenesis and the development of the universal vaccine against influenza virus.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Peter Palese

Panelista 1 (Afilación Completa): Horace W. Goldsmith Professor and Chair
Department of Microbiology Professor, Department of Medicine
Icahn School of Medicine at Mount Sinai

Panelista 1 (Ciudad y País): New York, USA

Panelista 1 (email): peter.palese@mssm.edu

Panelista 1 (Título de la Conferencia INGLÉS y ESPAÑOL):

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): <http://labs.icahn.mssm.edu/paleselab/>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Kanta Subbarao

Panelista 2 (Afilación Completa): Director, WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza

The Peter Doherty Institute for Infection and Immunity

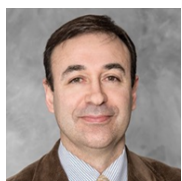
Panelista 2 (Ciudad y País): Melbourne, Australia

Panelista 2 (email): kanta.subbarao@influenzacentre.org

Panelista 2 (Título de la Conferencia INGLÉS y ESPAÑOL):

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID):

<https://www.doherty.edu.au/people/dr-kanta-subbarao>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Daniel Perez

Panelista 3 (Afilación Completa): Professor, Department of Poultry Medicine, Georgia Research Alliance Distinguished Investigator, Caswell S Eidson Chair in Poultry Medicine, University of Georgia, College of Veterinary Medicine

Panelista 3 (Ciudad y País): Athens, Georgia - USA

Panelista 3 (email): dperez1@uga.edu

Panelista 3 (Título de la Conferencia INGLÉS y ESPAÑOL):

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

<https://vet.uga.edu/cvi/person/daniel-perez>

SIMPOSIO S5 - Proteomic strategies in the study of virulence and host-microbe interactions

Coordinador/a (nombre) Jorge González

Email address: jorge.gonzalez@uantof.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad de Antofagasta

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Antofagasta

País: Chile

Título del Simposio: Proteomic strategies in the study of virulence and host-microbe interactions

Breve descripción del Simposio: El simposio se orienta presentar avances en el ámbito de de la investigación de la biología y virulencia de los microorganismos, en los cuales se utiliza la proteómica como instrumento para preguntas relevantes.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Leonard Foster

Panelista 1 (Afilación Completa): Michael Smith Laboratories Vancouver Campus 2185 East Mall Vancouver, BC Canada V6T 1Z4

Panelista 1 (Ciudad y País): Vancouver, Canada

Panelista 1 (email): foster@msl.ubc.ca

Panelista 1 (Titulo de la Conferencia): "Uncovering novel pathways in Salmonella pathogenesis using proteomics / Descubrir nuevas vías en la patogénesis de Salmonella usando proteómica

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): <http://fosterlab.msl.ubc.ca>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Jorge González

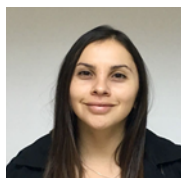
Panelista 2 (Afilación Completa): Unidad de parasitología Molecular. Deapartamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta

Panelista 2 (Ciudad y País): Antofagasta, Chile

Panelista 2 (email): jorge.gonzález@uantof.cl

Panelista 2 (Titulo de la Conferencia): papel de la proteómica en el estudio de la virulencia de Trypanosoma cruzi / Role of proteomic in the study of Trypanosoma cruzi virulence

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): www.uantof.cl



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Macarena Varas Poblete

Panelista 3 (Afilación Completa): Department of Structural Biology, Faculty of Sciences, University of Chile, Santiago, Chile.

Panelista 3 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 3 (email): mvaras26@gmail.com

Panelista 3 (Titulo de la Conferencia): Global proteomic profiles for comparing virulence traits of Salmonella typhimurium in different surrogate host models".

(Perfiles globales de proteómica para comparar los patrones de virulencia de Salmonella typhimurium en diferentes modelos de huéspedes alternativos)

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

https://www.researchgate.net/profile/Macarena_Varas

SIMPOSIO S6 - New trends in food safety and microbiological food surveillance

Coordinador/a (nombre) Magaly Toro (y Angélica Reyes)

Email address: magaly.toro.i@gmail.com

Nombre de la Institución a la que pertenece: INTA, Universidad de Chile

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Nuevas tendencias en inocuidad alimentaria y vigilancia microbiológica de alimentos

Breve descripción del Simposio: En este simposio se presentarán las nuevas tendencias en inocuidad alimentaria y vigilancia epidemiológica de bacterias aisladas desde alimentos. Se enfatizará en 1) el uso de la genómica en la investigación de brotes causados por patógenos transmitidos por los alimentos, y 2) vigilancia de resistencia a antibióticos en bacterias aisladas de alimentos las que pueden actuar como reservorios de genes de resistencia, y se incluirá una actualización de estas tendencias en Chile.

En primer lugar, en el estudio de brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos, las herramientas de secuenciación masiva se han posicionado como las técnicas de elección. Estas técnicas permiten un nivel de discriminación máximo entre aislados y ayudan a la atribución de las fuentes de brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos. En este simposio se darán ejemplos de la utilización de estas herramientas y como han permitido establecer las fuentes de origen de las enfermedades.

La resistencia a agentes antimicrobianos es un problema global y que debe ser abordado integralmente considerando que es necesario disponer de información útil para preservar la efectividad de los antibióticos de uso animal y humano. Por ello en USA, el programa NARMS entrega información acerca de la resistencia bacteriana emergente, para ello monitorea la resistencia antimicrobiana en bacterias entéricas tanto en pacientes, carnes, y animales de producción. En este simposio, se presentarán resultados del monitoreo de la resistencia en bacterias aisladas desde carnes comercializadas directamente a la población y su impacto en la salud pública.

En Chile recientemente se han utilizado las herramientas genómicas para caracterizar y asociar patógenos transmitidos por los alimentos, entre ellos Salmonella, Listeria monocytogenes y E. coli productoras de Shiga-Toxina. Además, el estudio de resistencia antimicrobiana en bacterias aisladas de alimentos está cobrando mayor atención. En este simposio se pretende responder la pregunta ¿Donde está y hacia dónde va Chile y Latinoamérica con respecto a estas tendencias de vanguardia en microbiología aplicada de los alimentos?



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Marc Allard

Panelista 1 (Afilación Completa): Division of Microbiology, Office of Regulatory Science, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, USA

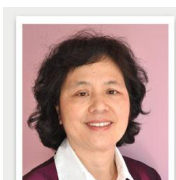
Panelista 1 (Ciudad y País): College Park, Maryland, USA

Panelista 1 (email): Marc.Allard@fda.hhs.gov

Panelista 1 (Título de la Conferencia): GenomeTrakr database and network: WGS network for real-time characterization and source tracking of foodborne pathogens / Base de datos y red GenomeTrakr: Una red de secuenciación masiva de genomas para la caracterización y rastreo de fuentes de patógenos transmitidos por los alimentos en tiempo real

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID):

https://scholar.google.com/citations?user=_3QupRwAAAAJ&hl=en



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Shaohua Zhao

Panelista 2 (Afilación Completa): Division of Animal and Food Microbiology, Office of Research, Center for Veterinary Medicine, U.S. Food and Drug Administration, USA

Panelista 2 (Ciudad y País): Laurel, Maryland, USA

Panelista 2 (email): shaohua.zhao@fda.hhs.gov

Panelista 2 (Titulo de la Conferencia): Monitoring Antimicrobial Resistance of Foodborne pathogens in Retail Meats: NARMS at FDA / Monitoreo de la resistencia a los antimicrobianos en patógenos transmitidos por los alimentos: NARMS en la FDA

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID):

https://scholar.google.com/citations?user=3_93G8cAAAAJ&hl=en



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Magaly Toro

Panelista 3 (Afilación Completa): Profesor asistente, INTA, Universidad de Chile

Panelista 3 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 3 (email): magaly.toro@inta.uchile.cl

Panelista 3 (Titulo de la Conferencia): Food microbiology in Chile: Applied genomics and antimicrobial resistance surveillance as tools to ensure food safety / Microbiología de los alimentos en Chile: genómica aplicada y vigilancia de resistencia antimicrobiana como herramientas para asegurar la inocuidad de los alimentos.

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.com/citations?user=R6pMi78AAAAJ&hl=en>

SIMPOSIO S7 - Yeasts for food science and technology

Coordinador/a (nombre) Claudio Martínez

Email address: claudio.martinez@usach.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad de Santiago de Chile

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Yeasts for food science and technology

Breve descripción del Simposio: El simposio coordinado por el Dr. Claudio Martínez (USACH, Chile) abordará diversos tópicos relacionados a la biotecnología y biología molecular de levaduras. Por una parte, los Dres. José Manuel Guillamón (IATA, Valencia, España) y Claudio Martínez abordarán el estudio de las bases genéticas y moleculares involucradas en el consumo de nitrógeno en diferentes cepas de levaduras, siendo este nutriente esencial y limitante durante el proceso de fermentación alcohólica. Luego, el Dr. Francisco Salinas (USACH, Chile), nos mostrará como herramientas de biología sintética pueden ser utilizadas para generar cepas de levaduras con nuevas propiedades industriales, así como también, como estas herramientas pueden ser usadas para la caracterización funcional de genes adquiridos por transferencia horizontal en levaduras.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): José Manuel Guillamón

Panelista 1 (Afilación Completa): Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos

Panelista 1 (Ciudad y País): Valencia, España

Panelista 1 (email): guillamon@iata.csic.es

Panelista 1 (Título de la Conferencia): “Mecanismos moleculares de adaptación de las levaduras vínicas a las condiciones de fermentación: Estrategias de mejora genética”

“Molecular mechanisms of adaptation of wine yeasts to fermentation conditions: Strategies of genetic improvement”

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0001-5414-0787>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Francisco Salinas

Panelista 2 (Afilación Completa): Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de Santiago de Chile

Panelista 2 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 2 (email): francisco.salinas@usach.cl

Panelista 2 (Título de la Conferencia): “Un nuevo interruptor optogenético para la biotecnología de levaduras y la genómica funcional”

“A new optogenetic switch for yeasts biotechnology and functional genomics”

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0002-8391-8145>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Claudio Martínez

Panelista 3 (Afilación Completa): Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de Santiago de Chile

Panelista 3 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 3 (email): claudio.martinez@usach.cl

Panelista 3 (Título de la Conferencia): “Vía de señalización TORC1 y su efecto sobre el consumo de nitrógeno en *Saccharomyces cerevisiae* durante fermentación alcohólica”

“TORC1 signaling pathway on nitrogen consumption in *Saccharomyces cerevisiae* during alcoholic fermentation”

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0001-8564-9287>

SIMPOSIO S8 - NEURO-IMMUNE RESPONSE

Moderan

Prof. Mario Roseblatt, PhD.

Executive Director

Fundación Ciencia & Vida.

<http://www.cienciavida.org/mario-roseblatt-phd/>

Daniela Sauma, PhD.

Facultad de Ciencias

Universidad de Chile

https://www.researchgate.net/profile/Daniela_Sauma2



Panelista (Nombre y Apellido): Francisco Quintana, PhD

Panelista (Afilación Completa): Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School and The Broad Institute of Harvard and MIT

Panelista (Ciudad y País): Boston, MA, USA

Panelista (email): fquintana@bwh.harvard.edu

Panelista (Titulo de la Conferencia): Regulation of CNS inflammation

Panelista (página web/google scholar/ORCID):

https://www.researchgate.net/profile/Francisco_Quintana

<https://www.brighamandwomens.org/research/labs-and-projects/quintana/overview>



Panelista (Nombre y Apellido): Rodrigo Naves, PhD

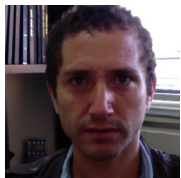
Panelista (Afilación Completa): Profesor Asistente, Programa Disciplinario de Inmunología. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina Universidad de Chile

Panelista (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista (email): rodrigonaves@med.uchile.cl

Panelista (Titulo de la Conferencia): Dual role of interferon-gamma in experimental and human multiple sclerosis / Función dual de interferón gamma en esclerosis múltiple humana y experimental

Panelista (página web/google scholar/ORCID):



Panelista (Nombre y Apellido): Rodrigo Pacheco, PhD

Panelista (Afilación Completa): Head of the Laboratory of Neuroimmunology in the Fundación Ciencia & Vida, Santiago, Chile.

Panelista (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista (email): rpacheco@cienciavida.org

Panelista (Titulo de la Conferencia): "Regulación dopaminérgica de la inflamación mediada por células T / Dopaminergic regulation of T-cell mediated inflammation"

Panelista (página web/google scholar/ORCID):

https://www.researchgate.net/profile/Rodrigo_Pacheco2



Panelista (Nombre y Apellido): Caroll Beltrán M., PhD

Panelista (Afilación Completa): Profesor Asistente, Facultad de Medicina Universidad de Chile, Jefa Laboratorio Inmunogastroenterología, Servicio Gastroenterología, Hospital Clínico Universidad de Chile

Panelista (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista (email): cbeltran@med.uchile.cl; carollbeltranm@gmail.com

Panelista (Titulo de la Conferencia): El papel neuro-inmune de mastocitos en los desórdenes de la interacción cerebro-intestino / The neuroimmune role of mast cell in the disorders of Gut-Brain Interaction.

Panelista (página web/google scholar/ORCID):

https://www.researchgate.net/profile/Caroll_Beltran

SIMPOSIO S9 - The Twin Threats of *Klebsiella pneumoniae* Infections: Antimicrobial Drug Resistance and Hypervirulence

Coordinador/a (nombre) Andrés Marcoleta / Rosalba Lagos

Email address: amarcoleta@uchile.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad de Chile

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: The Twin Threats of *Klebsiella pneumoniae* Infections: Antimicrobial Drug Resistance and Hypervirulence

Breve descripción del Simposio: This symposium will focus on the genetic factors that determine the hypervirulence, host infection/response, and multi-drug resistance of this bacterial pathogen, as well as how these factors disseminate and constitute a highly diverse pangenome. Also, we will discuss about the population structure and evolution of relevant *K. pneumoniae* hypervirulent and multiresistant lineages, and the incoming convergence of both traits. Bioinformatic, genetic, biochemical, clinical, and immunological evidence will be discussed.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Andrés Marcoleta

Panelista 1 (Afilación Completa): Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

Panelista 1 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 1 (email): amarcoleta@uchile.cl

Panelista 1 (Título de la Conferencia): The impact of genomic islands on the virulence and genome evolution of *Klebsiella pneumoniae*

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.cl/citations?user=I234qnwAAAAJ&hl=en&oi=sra>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Yunn Hwen Gan

Panelista 3 (Afilación Completa): Department of Biochemistry, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore

Panelista 3 (Ciudad y País): Singapore

Panelista 3 (email): bchganyh@nus.edu.sg

Panelista 3 (Título de la Conferencia): "Colonization and virulence potential of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*".

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

https://www.researchgate.net/profile/Yunn-Hwen_Gan



Panelista (Nombre y Apellido): Kelly Wyres

Panelista (Afilación Completa): Panelista (Ciudad y País): Department of Biochemistry and Molecular Biology, Bio21 Molecular Science and Biotechnology Institute, University of Melbourne, Australia

Panelista (email): kwyres@unimelb.edu.au

Panelista (Título de la Conferencia Español/Inglés): Population genomic insights into the evolution of multi-drug resistant and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*

Panelista (página web/google scholar/ORCID):

<https://holtlab.net/kelly-wyres/>

<https://scholar.google.com/citations?user=anwFM9oAAAAJ&hl=es&oi=ao>

SIMPOSIO S10 - Actualización en patógenos transmitidos por los alimentos

Coordinador/a (nombre) Angélica Reyes (Magaly Toro)

Email address: areyesjara@gmail.com

Nombre de la Institución a la que pertenece: INTA, Universidad de Chile

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Actualización en patógenos transmitidos por los alimentos

Breve descripción del Simposio: Los patógenos transmitidos por los alimentos son un serio problema de salud pública que a nivel mundial producen importantes pérdidas económicas. Dentro de los agentes causales, 3 patógenos destacan por la importancia de los cuadros clínicos que causan y su morbimortalidad asociada: Escherichia coli productoras de toxinas del tipo Shiga (STEC, por su sigla en inglés), Listeria monocytogenes y Salmonella. En este simposio se presentará una actualización acerca de los nuevos hallazgos en microbiología de los alimentos e inocuidad asociada a estos 3 patógenos con respecto a su prevalencia en Chile y en el mundo, los nuevos avances en el conocimiento de su patogenicidad y las estrategias de control de estos patógenos que utiliza la industria de alimentos.

STEC es uno de los patógenos causantes de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) de mayor impacto ya que causa enfermedad severa, muerte y es capaz de producir brotes masivos. Diferentes alimentos han sido involucrados en brotes de STEC, donde las carnes y productos cárnicos destacan como el vehículo más frecuente de infección. Tradicionalmente, STEC O157:H7 han sido asociadas a enfermedades severas y brotes de ETA, pero otros serogrupos también son capaces de producir enfermedades severas y brotes: Las STEC no-O157. Se reconoce que STEC O26, O45, O103, O111, O121 y O145 (las "big-six") causan el 70% de los casos de enfermedad producida por STEC no-O157. En este simposio se presentarán los principales reservorios de STEC y la importancia de STEC como patógeno transmitido por alimentos.

L. monocytogenes es uno de los principales patógenos alimentarios y agente causal de listeriosis, una enfermedad que afecta mayoritariamente a personas con el sistema inmune deprimido, niños menores de 2 años y mujeres embarazadas. La principal vía de contagio es a través del consumo de alimentos listos para el consumo que favorecen la multiplicación de la bacteria. Si bien la frecuencia de aparición de listeriosis es baja, la tasa de mortalidad puede llegar a ser hasta del 30%. L. monocytogenes es capaz de resistir y adaptarse a condiciones ambientales adversas aplicadas en la industria de alimentos para el control de patógenos. En este simposio se presentará una actualización de la prevalencia de esta bacteria en alimentos y los mecanismos que utiliza para resistir el estrés que aplica la industria de alimentos para su control.

Salmonella es la principal causa de gastroenteritis en el mundo y aunque las carnes de aves han sido descritas como la principal fuente de enfermedad humana, las infecciones se han atribuido a diferentes fuentes, incluyendo productos de origen vegetal, animal y alimentos procesados. Dentro de los serotipos mayormente asociados a enfermedad, están S. Enteritidis, S. Infantis, y S. Typhimurium. La salmonelosis es un cuadro clínico autolimitado que se caracteriza por diarrea, fiebre y/o dolor abdominal, sin embargo, algunos pacientes requieren hospitalización. En esta presentación se hablará del impacto de Salmonella en la contaminación de alimentos y las nuevas estrategias que se desarrollan para el control de este patógeno.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Jianghong Meng

Panelista 1 (Afilación Completa): Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition, University of Maryland, College Park,

Panelista 1 (Ciudad y País): Maryland, United States of America.

Panelista 1 (email): jmeng@umd.edu

Panelista 1 (Titulo de la Conferencia): Shiga toxin-producing E. coli: source and significance as foodborne pathogens / E. coli productora de toxinas del tipo Shiga: Fuentes e importancia como patógenos transmitidos por los alimentos

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.com/citations?user=Q92xUygAAAAJ&hl=en>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Angélica Reyes

Panelista 2 (Afilación Completa): INTA, Universidad de Chile

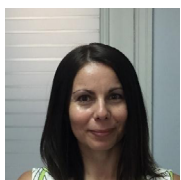
Panelista 2 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 2 (email): areyes@inta.uchile.cl

Panelista 2 (Titulo de la Conferencia): Listeria monocytogenes: A persistent pathogen in the food industry / Listeria monocytogenes: un patógeno persistente en la industria de los alimentos

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID):

https://scholar.google.com/citations?view_op=list_works&hl=es&user=hejrXzQAAAAJ



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Andrea Moreno

Panelista 3 (Afilación Completa): Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andres Bello

Panelista 3 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 3 (email): andrea.moreno@unab.cl

Panelista 3 (Titulo de la Conferencia): Salmonella: from serotypes, contamination sources to food control / Salmonella: desde serotipos, fuentes de contaminación y control en alimentos

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.cl/citations?user=f58C-NAAAAAJ&hl=en>

SIMPOSIO S11 - Colecciones de Cultivos Microbianos/Microbial Culture Collection

Coordinador/a (nombre) Dr. Michael Seeger y Dra. Beatriz Cámara

Email address: michael.seeger@gmail.com

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad Técnica Federico Santa María.

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Valparaíso

País: Chile

Título del Simposio: Colecciones de Cultivos Microbianos/Microbial Culture Collections.

Breve descripción del Simposio: Colecciones de Cultivos Microbianos/Microbial Culture Collections.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Dr. Edward Moore

Panelista 1 (Afilación Completa): Culture Collection of University of Gothenburg, Suecia. Curador CCUG.

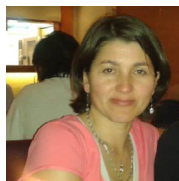
Panelista 1 (Ciudad y País): Gothenburg, Suecia

Panelista 1 (email): erbmoore@ccug.se

Panelista 1 (Título de la Conferencia):

Evolving Strategies of Microbial Resource Centres as Repositories of Genetic Resources and Service Providers / Estrategias en evolución de Centros de Recursos Microbianos como Depósitos de Recursos Genéticos y Proveedores de Servicios

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0001-7693-924X>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Dra. Lorena Barra Bucarei

Panelista 2 (Afilación Completa): Instituto de Investigaciones Agropecuarias - INIA, Chile

Panelista 2 (Ciudad y País): Chillán, Chile

Panelista 2 (email): lbarra@inia.cl

Panelista 2 (Título de la Conferencia):

Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos: importancia estratégica para el desarrollo científico y tecnológico a nivel nacional e internacional.

Chilean Culture Collection of Microbial Genetic Resources: strategic relevance for scientific and technological development national e international level.

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): www.inia.cl



Panelista (Nombre y Apellido): Beatriz Cámara

Panelista (Afilación Completa): Departamento de Química y Centro de Biotecnología, Universidad Técnica Federico Santa María

Panelista (Ciudad y País): Valparaíso, Chile

Panelista (email): Beatriz.camara@usm.cl

Panelista (Título de la Conferencia Español/Ingles): Colección chilena de actinobacterias marinas: un recurso importante para la bioprospección/Chilean marine actinobacterial culture collection: an important resource for bioprospection

Panelista (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.cl/citations?user=BQcTIKIAAAJ&hl=en>

SIMPOSIO S12 - Una Salud y la Expansión de la Resistencia Antimicrobiana, Un Desafío Transversal

Coordinador/a (nombre) Juan Carlos Hormazábal

Email address: jchormazabal@ispch.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Instituto de Salud Pública de Chile

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: “Una Salud y la Expansión de la Resistencia Antimicrobiana, Un Desafío Transversal”

Breve descripción del Simposio:



Panelista 1 (Nombre y Apellido): JC Hormazabal

Panelista 1 (A filiación Completa): Jefe Subdepto. Enfermedades Infecciosas, Departamento de Laboratorio Biomédico, Instituto de Salud Pública de Chile. Coordinador Una Salud Chile

Panelista 1 (Ciudad y País): Santiago

Panelista 1 (email): jchormazabal@ispch.cl

Panelista 1 (Título de la Conferencia): Concepto Una Salud, Escenario en Chile y América Latina

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID):

<http://www.inofood.cl/Conferencistas/dr-juan-carlos-hormazabal/>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Roberto Melano

Panelista 2 (A filiación Completa): Microbiólogo Molecular, Laboratorio de Salud Pública, Public Health Ontario, Canada. Profesor Asistente, LMP, Universidad de Toronto, Canada

Panelista 2 (Ciudad y País): Toronto, Canada

Panelista 2 (email): roberto.melano@oahpp.ca

Panelista 2 (Título de la Conferencia): Estrategia Una Salud frente a Mecanismos de Resistencia de Potencial Epidémico

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID):

<http://www.lmp.utoronto.ca/research/faculty-research-database/melano-roberto>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): José Manuel Munita

Panelista 3 (A filiación Completa): Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Facultad de Medicina Universidad del Desarrollo, Santiago Chile

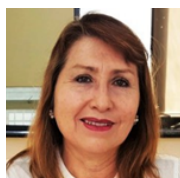
Panelista 3 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 3 (email): josemunita@udd.cl

Panelista 3 (Título de la Conferencia): Resistencia Antimicrobiana, Desafíos para Chile en la detección y la investigación aplicada

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

<http://medicina.udd.cl/persona/jose-manuel-munita/>



Panelista (Nombre y Apellido): Jeannete Zurita

Panelista (A filiación Completa):

Panelista (Ciudad y País): Prof. de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Ecuador. Jefa del Servicio de Microbiología y Tuberculosis del Hospital Vozandes, Quito.

Panelista (email): jeannetezurita@zuritalaboratorios.com

Panelista (Título de la Conferencia Español/Ingles): Vigilancia Integrada y Uso Racional de los Antimicrobianos, Desafíos para América Latina

Panelista (página web/google scholar/ORCID): <http://zuritalaboratorios.com/>

PLENARIA 3 - Inauguración (Auspiciada por Biotecom)



“Phage and the Evolution of New Infectious Diseases”

Stanley Maloy, Ph.D. Professor of Microbiology and Dean of the College of Sciences at San Diego State University, USA

Stanley Maloy is Associate Vice President for Research & Innovation and Professor of Biology at SDSU. Prior to this position, he was Dean of the College of Sciences at SDSU for 11 years.

Stanley obtained a PhD in Molecular Biology and Biochemistry from UC Irvine, did a postdoctoral fellowship in Genetics at the University of Utah, then moved to a faculty position at the University of Illinois in Urbana-Champaign where he was a Professor of Microbiology for 18 years. Before moving to SDSU, he served as Director of the Illinois Biotechnology Center.

Stanley served as President of the American Society for Microbiology, one of the largest international scientific societies. He has served as an advisor for U.S. and international agencies on research, biosafety, biodefense, health, and graduate education. He has testified before the U.S. House Appropriations Committee.

Research in Stanley’s lab focuses on how new infectious diseases arise, and the development of new vaccines and antimicrobials. He is the author of over 100 scientific publications and 10 books. He has developed widely used educational websites, and hosted popular scientific podcasts and videos. He has organized courses and conferences around the world, and has received several teaching awards, Honorary Professorships, an Honorary PhD, and is an elected Fellow of the American Academy for Microbiology.

Email: smaloy@mail.sdsu.edu

Web: <http://www.bio.sdsu.edu/faculty/maloy.html>

Twitter: @Typhi



PROGRAMA ALAM

Miércoles 14 de Noviembre

PLENARIA 4 - “Mechanisms of Immune Modulation by Dengue Virus”



Ana Fernandez-Sesma, Professor of Microbiology, Co-director of the Microbiology Main Training Area, Graduate School of Biomedical Sciences, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, USA

The Fernandez-Sesma laboratory studies innate immunity evasion by viruses of human health interest, such a dengue virus (DENV), influenza virus and other viruses, such as HIV. The main area of research in the Fernandez-Sesma laboratory is DENV, which is the most important mosquito transmitted virus in the world for which no vaccines or antiviral drugs are available. Additionally the Fernandez-Sesma laboratory investigates the interactions of influenza viruses with human immune cells and the strategies of innate immune evasion developed by important human pathogen.

Email: ana.sesma@mssm.edu

Web: <http://labs.icaohn.mssm.edu/fernandez-sesma-lab/>

Twitter: [@SesmaLab](https://twitter.com/SesmaLab)

PLENARIA 5 - “Use of genomics to examine the diversity and dynamics of enteric pathogens”



David Rasko, Ph.D. Professor in the Department of Microbiology and Immunology and a member of the Institute for Genome Science at University of Maryland School of Medicine, USA

I am a Professor in the Department of Microbiology and Immunology and a member of the Institute for Genome Sciences. During my career I have developed expertise in comparative microbial genomics, bioinformatics and functional genomics. I have led comparative genome sequencing and analysis projects for important human diarrheal pathogens, focusing on *Escherichia coli* and *Shigella* species as well as *Bacillus cereus* group isolates. I have developed comparative bioinformatics tools designed to characterize the genetic diversity in closely related bacterial isolates. Also, I was the first to publish a comparative genomic study that included a genome reference from a true commensal, each of the six diarrheagenic *E. coli* pathogenic variants (pathovars) as well as representatives of the urinary tract and avian derived *E. coli* to total 17 genomes. This resulted in the first description of the *E. coli* pangenome as “open” and identified a core gene set of ~2200 genes present in all *E. coli*. This comparative work has laid the framework for the continued functional study of the evolution of these pathogens, which has recently been expanded to include *Shigella* spp., as well as functional studies of these unique and conserved gene features.

Email: drasko@som.umaryland.edu

Web: <http://www.medschool.umaryland.edu/profiles/Rasko-David/>

Twitter:

Fondecyt 1161161 Roberto Vidal

SIMPOSIO S13 - VII Reunión LACER (Latin American Coalition for Escherichia coli Research)

Coordinador/a (nombre) Alfredo Torres

Email address: altorres@utmb.edu

Nombre de la Institución a la que pertenece: University of Texas Medical Branch

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: ASM - American Society for Microbiology (Miembro Observador)

Ciudad: Galveston

País: Estados Unidos

Título del Simposio: VII Reunión LACER (Latin American Coalition for Escherichia coli Research)

Breve descripción del Simposio: El simposio presentara los ultimos avances en la investigacion sobre Escherichia coli realizada por investigadores Latino Americanos, ademas de celebrar 10 años de la formacion de LACER



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Bertha González-Pedrajo

Panelista 1 (Afilación Completa): Departamento de Genética Molecular, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México

Panelista 1 (Ciudad y País): Ciudad de México, México

Panelista 1 (email): bpedrajo@ifc.unam.mx

Panelista 1 (Titulo de la Conferencia): Avances recientes en los mecanismos moleculares de la secreción tipo III en EPEC / Recent progress in molecular mechanisms of type III secretion in EPEC

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): <http://www.ifc.unam.mx/investigadores/bertha-gonzalez>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Alfredo Torres

Panelista 3 (Afilación Completa): University of Texas Medical Branch

Panelista 3 (Ciudad y País): Galveston, USA

Panelista 3 (email): altorres@utmb.edu

Panelista 3 (Titulo de la Conferencia): Una decada de LACER: Retos y Oportunidades / A decade of LACER: Challenges and Opportunities

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID): <https://microbiology.utmb.edu/faculty/alfredotorres-phd>



Dra. Maria Marta Amaral

Laboratorio de Fisiopatogenia. Instituto de Fisiología y Biofísica “Bernardo Houssay” (IFIBIO-Houssay).

Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (UBA-CONICET), Argentina.

Web <http://www.ifibio-uba-conicet.gob.ar/labs/ibarra/>

Título: Accion de la toxina Shiga y la citotoxina subtilasa sobre celulas epiteliales y endoteliales humanas bajo condiciones o no de interacción: modelos in vitro para estudiar los mecanismos involucrados en el daño renal en el síndrome urémico hemolítico.

Title in english: Action of Shiga toxin type 2 and Subtilase Cytotoxin on human renal epithelial and endothelial cells under conditions or not of cross talk: in vitro models to study the mechanisms involved in the renal injury in Hemolytic Uremic Syndrome.

Email mamaral@fmed.uba.ar



Dr. (c) David Montero

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

Web https://www.researchgate.net/profile/David_Montero2

Título: Contribución de las islas de patogenicidad a la virulencia y emergencia de cepas de Escherichia coli productor de Shiga toxina LEE-negativo.

Title in english: Contribution of the pathogenicity islands to virulence and emergence of isolates of Shiga toxin-producing Escherichia coli LEE-negative.

SIMPOSIO S14 - Ecología Microbiana de Ambientes Acuáticos de Sudamérica

Coordinador/a (nombre) Cristina Dorador

Email address: criordor@gmail.com

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad de Antofagasta

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Antofagasta

País: Chile

Título del Simposio: Ecología Microbiana de Ambientes Acuáticos de Sudamérica

Breve descripción del Simposio: Este simposio busca conocer los avances en Ecología Microbiana de ambientes acuáticos continentales de Sudamérica con énfasis en los procesos y en los catálogos de diversidad microbiana generados por distintos proyectos de microbioma ambiental.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Verónica Molina Trincado

Panelista 1 (Afilación Completa): Departamento de Biología, Universidad de Playa Ancha

Panelista 1 (Ciudad y País): Valparaíso, Chile

Panelista 1 (email): veronica.molina@upla.cl

Panelista 1 (Titulo de la Conferencia): Variabilidad de grupos funcionales del ciclo del nitrógeno en ambientes acuáticos diversos de Chile

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID):

https://www.researchgate.net/profile/Veronica_Molina2



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Sara Cuadros-Orellana

Panelista 2 (Afilación Completa): Departamento de Ciencias Forestales, Universidad Católica del Maule

Panelista 2 (Ciudad y País): Talca, Chile

Panelista 2 (email): srcuadros@gmail.com

Panelista 2 (Titulo de la Conferencia): Microbial ecology of mildly acidic hot springs of the Laguna del Maule volcanic field

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.com/citations?user=SoZ70swAAAAJ>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Luisa Falcón

Panelista 3 (Afilación Completa): Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México

Panelista 3 (Ciudad y País): Ciudad de México, México

Panelista 3 (email): luisaifalcon@gmail.com

Panelista 3 (Titulo de la Conferencia): Laguna Bacalar: arrecifes microbianos en un ecosistema en peligro

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

https://scholar.google.com/citations?hl=en&user=eMXLlsAAAAAJ&view_op=list_works&sortby=pubdate

SIMPOSIO S15 - Metagenómica y Genómica Funcional de Microorganismos

Coordinador/a (nombre) Michael Seeger

Email address: michael.seeger@gmail.com

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad Técnica Federico Santa María
Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Valparaíso

País: Chile

Título del Simposio: Metagenómica y Genómica Funcional de Microorganismos.

Breve descripción del Simposio: Metagenómica y Genómica Funcional de Microorganismos.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Dr. Gabriel Padrón

Panelista 1 (Afilación Completa): Laboratory of Leishmaniosis, Institute Oswaldo Cruz, FIOCRUZ

Panelista 1 (Ciudad y País): Rio de Janeiro, Brazil

Panelista 1 (email): gpadronpalomares@gmail.com

Panelista 1 (Título de la Conferencia): Mass spectrometry in microbiology / Espectrometría de masas en Microbiología

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID):

https://www.researchgate.net/profile/Gabriel_Padron



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Dr. Howard Junca

Panelista 2 (Afilación Completa): Microbiomas Foundations, Colombia. Ex Presidente Sociedad de Microbiología de Colombia

Panelista 2 (Ciudad y País): Bogota Colombia

Panelista 2 (email): howard.junca@gmail.com

Panelista 2 (Título de la Conferencia): Ecogenómica y holobiontes: herramientas y recursos de exploración biotecnológica, entendimiento evolutivo y restauración ambiental / Ecogenomics and holobionts: Resources and tools for biotech exploration, evolution studies and environmental restoration

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0003-4546-6229>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Dr. Michael Seeger

Panelista 3 (Afilación Completa): Universidad Técnica Federico Santa María. Ex Presidente Asociación Latinoamericana de Microbiología.

Panelista 3 (Ciudad y País): Valparaíso, Chile

Panelista 3 (email): michael.seeger@gmail.com

Panelista 3 (Título de la Conferencia): Genomics and metabolic reconstruction of environmental bacteria / Genómica y Reconstrucción Metabólica de Bacterias Ambientales.

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0002-3925-1996>

SIMPOSIO S16 - Neutrophil Biology and Infection (ASM)

Coordinador/a (nombre) Susan Bueno

Email address: sbueno@bio.puc.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Pontificia Universidad Católica de Chile

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Neutrophil Biology and Infection

Breve descripción del Simposio: Neutrophils are innate immune cells derived from myeloid precursors, whose main function is the clearance of infecting pathogens. However, recent studies have shown a diverse function of these cells and have recognize a plethora of subsets that play an specific roles in clearance (such as Neutrophil extracellular traps production) and immunomodulation (such as interleukin-10 production). Further, bacterial pathogens (such as Salmonella) have developed mechanisms to evade the function of these cells. The talks included in this symposium will address these three aspects of neutrophil biology during infection.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Lee-Ann Allen

Panelista 1 (Afilación Completa): University of Iowa, USA

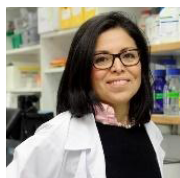
Panelista 1 (Ciudad y País): Iowa, USA

Panelista 1 (email): lee-ann-allen@uiowa.edu

Panelista 1 (Título de la Conferencia): Human neutrophil plasticity and Helicobacter pylori infection

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID):

<https://medicine.uiowa.edu/microbiology/profile/lee-ann-allen>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Claudia Saavedra

Panelista 2 (Afilación Completa): Lab. Microbiología Molecular Dpto. Ciencias Biológicas Fac. Ciencias Biológicas Universidad Andres Bello

Panelista 2 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 2 (email): csaavedra@unab.cl

Panelista 2 (Título de la Conferencia): ArcA transcription factor influence in Salmonella neutrophil infection

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): csaavedra@unab.cl



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Susan Bueno

Panelista 3 (Afilación Completa): Laboratorio de Patogénesis Microbiana, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile

Panelista 3 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 3 (email): sbueno@bio.puc.cl

Panelista 3 (Título de la Conferencia): Role of interleukin-10 producing neutrophils during respiratory bacteria infection

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

https://scholar.google.cl/citations?user=hKS_mMsAAAAJ&hl=es

SIMPOSIO S17 - Resistencia Antimicrobiana- La Última Frontera

Coordinador/a (nombre) German Esparza- Colombia.

Email address: gesparza@javeriana.edu.co

Título del Simposio: Resistencia Antimicrobiana- La Última Frontera



Panelista (Nombre y Apellido): Dr. Silvio Vega

Panelista (Afilación Completa): Profesor de Microbiología y Medicina Tropical en University of South Florida Campus Panamá y en University of Arizona, Tucson. Sub-Director Médico del Complejo Hospitalario Metropolitano de la Caja de Seguro Social en Panamá. Director del Programa Stewardship del hospital. Presidente de la Asociación Panamericana de Infectología (API)

Panelista (Ciudad y País): Ciudad de Panamá-Panamá

Panelista (email): sivede13@gmail.com

Panelista (Título de la Conferencia): Impacto clínico del Resistoma y la transferencia de genes de resistencia antimicrobiana

Panelista (página web/google scholar/ORCID):



Panelista (Nombre y Apellido): Dra Patricia García Cañete.

Panelista (Afilación Completa): Profesor Titular, Departamento de Laboratorios Clínicos, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile

Panelista (Ciudad y País): Santiago- Chile

Panelista (email): pgarciacan@uc.cl

Panelista (Título de la Conferencia): Tecnología Emergente en el diagnóstico de bacterias MDR por el laboratorio

Panelista (página web/google scholar/ORCID):



Panelista (Nombre y Apellido): Germán Esparza

Panelista (Afilación Completa): Director del programa de Control externo en microbiología de PROASECAL SAS Colombia, Profesor de microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana. Miembro del panel de expertos en microbiología de la CLSI de USA y Coordinador del comité de microbiología de la API.

Panelista (Ciudad y País): Bogotá-Colombia

Panelista (email): gesparza@javeriana.edu.co

Panelista (Título de la Conferencia): Interpretación clínica de la concentración inhibitoria mínima (CIM) en la era de la multi-resistencia

Panelista (página web/google scholar/ORCID):

SIMPOSIO S18 - Astrobiology

Coordinador/a (nombre) Cecilia Demergasso

Email address: cdemerga@ucn.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte
Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Antofagasta

País: Chile

Título del Simposio: Astrobiology

Breve descripción del Simposio: South America and Antarctica have long been recognized as exceptional terrestrial analogs to the early martian environment (e.g., gypsum deposits, deserts, hot-springs, dry valleys), and provide critical areas of astrobiological research. The symposium we are proposing herein will provide an up-to-date overview of the research in Astrobiology undertaken in South America by NASA and Latin American research institutions, and will discuss research goals, objectives, strategies, and results.



Panelista (Nombre y Apellido): David Wettergreen

Panelista (Afilación Completa):

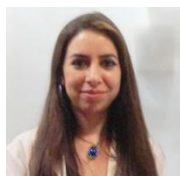
Panelista (Ciudad y País): The Robotics Institute Carnegie Mellon University

Panelista (email): dw0s@andrew.cmu.edu

Panelista (Título de la Conferencia Español/Ingles): Developing Technologies to Study of Life and Habitat in the Atacama Desert and on Mars

Panelista (página web/google scholar/ORCID):

<https://www.ri.cmu.edu/ri-faculty/david-wettergreen/>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Dr. Ximena Abrevaya

Panelista 2 (Afilación Completa): Instituto de Astronomía y Física del Espacio (IAFE), UBA – CONICET, Ciudad Universitaria, Buenos Aires, Argentina

Panelista 2 (Ciudad y País): Buenos Aires, Argentina

Panelista 2 (email): abrevaya@iafe.uba.ar

Panelista 2 (Título de la Conferencia): Interdisciplinary astrobiological research using laboratory simulations: from lithopanspermia to planetary habitability

Investigaciones astrobiológicas interdisciplinarias utilizando simulaciones de laboratorio: desde la litopanspermia hasta la habitabilidad planetaria

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.com/citations?user=-3qzZLsAAAAJ&hl=es>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Dr. Cecilia Demergasso

Panelista 3 (Afilación Completa): Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte

Panelista 3 (Ciudad y País): Antofagasta, Chile

Panelista 3 (email): cdemerga@ucn.cl

Panelista 3 (Título de la Conferencia): Habitability, biosignature microbial production and preservation in a saline-volcanic-desertic setting.

Habitabilidad, producción microbiana y conservación de signos de vida en ambientes salinos, volcánicos y desérticos.

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0003-4563-3066>

SIMPOSIO S19 - Bacteriófagos y sus aplicaciones biotecnológicas

Coordinador/a (nombre) Leticia Bentancor (coordinador)

Email address: paulaluc@vet.unicen.edu.ar

Nombre de la Institución a la que pertenece: CIVETAN-Fac. Cs. Veterinarias-UNCPBA

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: AAM - Asociación Argentina de Microbiología

Ciudad: Tandil

País: Argentina

Título del Simposio: Bacteriófagos y sus aplicaciones biotecnológicas

Breve descripción del Simposio: El Simposio propuesto es en vistas de dar continuidad a la presencia de la temática en ALAM. El primer simposio titulado "Bacteriófagos, interacción con sus hospedadores y aplicaciones biotecnológicas" se realizó en el XXIII Congreso Latinoamericano de Microbiología y XIV Congreso Argentino de Microbiología en la Ciudad de Rosario. Debido a que es un tema que está creciendo a nivel global, quisieramos tener la oportunidad de dar a conocer las investigaciones mas recientes. El año pasado se ha creado la red argentina de bacteriófagos, y este simposio también permitiría un crecimiento internacional de dicha red (<http://redargentinadebacteriofagos.web.unq.edu.ar>).



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Martha J. Vives

Panelista 1 (Afiliación Completa): Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes

Panelista 1 (Ciudad y País): Bogota, Colombia

Panelista 1 (email): mvives@uniandes.edu.co

Panelista 1 (Título de la Conferencia): Efecto del coctel de bacteriófagos SalmoFree en el microbioma de pollos de engorde / Effect of the phage cocktail SalmoFree on the poultry microbiome and the Salmonella prevalence in farm

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): <https://cienciasbiologicas.uniandes.edu.co/index.php/es/programas/pregrado/microbiologia/2-uncategorised/92-martha-vives-f>

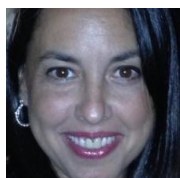


Panelista 1 (Nombre y Apellido): Viviana Clavijo

Panelista 1 (Afiliación Completa): Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes

Panelista 1 (Ciudad y País): Bogota, Colombia

Panelista 1 (email): mvives@uniandes.edu.co



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Mariana Piuri

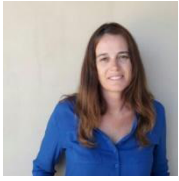
Panelista 2 (Afiliación Completa): Depto. Química Biológica, FCEN UBA; IQUIBICEN-CONICET, UBA

Panelista 2 (Ciudad y País): Buenos Aires, Argentina

Panelista 2 (email): mpiuri@qb.fcen.uba.ar

Panelista 2 (Título de la Conferencia): Del genoma al dominio proteico: estudio de la maquinaria de interacción con el hospedador en fagos de Lactobacillus spp / From genome to protein domain: study of the host recognition machinery in Lactobacillus phages

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): <http://www.iquibicen.fcen.uba.ar/investigador/mariana-piuri-2/>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Alejandra Krüger

Panelista 3 (Afilación Completa): Departamento de Ciencias Biológicas - Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires; Investigador Adjunto – CIVETAN – CONICET, UNCPBA, CICIPBA.

Panelista 3 (Ciudad y País): Tandil, Argentina

Panelista 3 (email): akruger@vet.unicen.edu.ar

Panelista 3 (Titulo de la Conferencia): ¿Qué conocemos de los bacteriófagos portadores de genes de toxina Shiga? / What do we know about Shiga toxin-encoding bacteriophages?

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

https://www.researchgate.net/profile/Alejandra_Krueger

SIMPOSIO S20 (ASOCHIN) - COMPARATIVE IMMUNOLOGY. Fish pathogens & Immunology

Moderan:

Kevin Maisey, PhD.,
Laboratorio de Inmunología Comparativa
Centro de Biotecnología Acuícola (CBA)
Edificio de Investigación Eduardo Morales
Universidad de Santiago de Chile
https://www.researchgate.net/profile/Kevin_Maisey

Sebastián Reyes, PhD., Profesor Asistente.
Centro de Genómica y Bioinformática
Facultad de Ciencias,
Universidad Mayor.
https://www.researchgate.net/profile/Sebastian_Reyes-Cerpa



Panelista (Nombre y Apellido): Dr. Sergio Marshall González
Panelista (Afilación Completa): Profesor Emérito Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Director del Laboratorio OIE de Referencia Mundial virus ISA, y referencia nacional de P. salmonis.
Panelista (Ciudad y País): Valparaíso, Chile
Panelista (email): sergio.marshall@pucv.cl
Panelista (Titulo de la Conferencia): The main pathogens in Chilean aquaculture: Molecular characterization /Los principales patógenos de la acuicultura chilena: Caracterización molecular
Panelista (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0002-8484-4555>



Panelista (Nombre y Apellido): Dra. Mónica Imarai
Panelista (Afilación Completa): Prof. Titular de la Universidad de Santiago de Chile. Directora del grupo de Inmunología de peces, Laboratorio del Centro de Biotecnología Acuícola de la Universidad de Santiago.
Panelista (Ciudad y País): Santiago, Chile
Panelista (email): monica.imarai@usach.cl
Panelista (Titulo de la Conferencia): In the horizon of prophylaxis: adaptive immunity of salmonids
Panelista (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0001-8767-9180>



Panelista (Nombre y Apellido): Dr. Luis Mercado
Panelista (Afilación Completa): Prof. Titular Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Director del Grupo de Marcadores Inmunológicos del Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular.
Panelista (Ciudad y País): Valparaíso, Chile
Panelista (email): luis.mercado@pucv.cl
Panelista (Titulo de la Conferencia): In the horizon of prophylaxis: innate immunity of salmonids
Panelista (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0003-3883-5188>

SIMPOSIO S21 - Mecanismos de persistencia y epidemiología molecular de Clostridium difficile

Coordinador/a (nombre) Daniel Paredes-Sabja

Email address: daniel.paredes.sabja@gmail.com

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad Andrés Bello

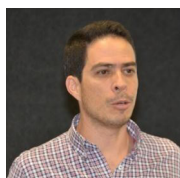
Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Mecanismos de persistencia y epidemiología molecular de Clostridium difficile

Breve descripción del Simposio: El enteropatógeno nosocomial anaerobio y esporulado, Clostridium difficile, es el causante de las infecciones intrahospitalarias más frecuentes a nivel mundial. Las infecciones causadas por C. difficile afecta aproximadamente 25% de los pacientes hospitalizados que reciben tratamiento con antibióticos desarrolla una Infección por C. difficile (ICD) cuya tasa de mortalidad superan el 9% de los pacientes infectados. En este sentido, en el presente simposio se abordarán avances sobre los mecanismos que contribuyen a la persistencia de C. difficile en el hospedero, y nuevos factores que contribuyen la incrementada virulencia observada en cepas epidémicas de C. difficile.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Esteban Chaves Olarte

Panelista 1 (Afiliación Completa): Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales; Facultad de Microbiología; Universidad de Costa Rica

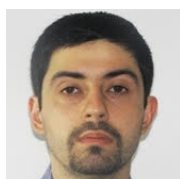
Panelista 1 (Ciudad y País): Costa Rica

Panelista 1 (email): esteban.chaves@ucr.ac.cr

Panelista 1 (Título de la Conferencia): Factores dependientes e independientes de toxinas que explican la virulencia incrementada de cepas epidémicas de Clostridium difficile (Toxin dependent and independent factors that explain the increased virulence of epidemic strains of Clostridium difficile)

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.com/citations?user=Bkox9hoAAAAJ&hl=es>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Fernando Gil

Panelista 2 (Afiliación Completa): Microbiota-Host Interactions and Clostridia Research Group, Universidad Andrés Bello,

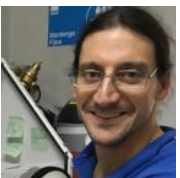
Panelista 2 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 2 (email): fernandogil@unab.cl

Panelista 2 (Título de la Conferencia): Formación de persister cells como posible mecanismo de persistencia de Clostridium difficile

(Formation of persister cells as a posible persistence mechanism of Clostridium difficile)

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): microbioma.cl



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Daniel Paredes-Sabja

Panelista 3 (Afiliación Completa): Microbiota-Host Interactions and Clostridia Research Group, Universidad Andrés Bello,

Panelista 3 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 3 (email): daniel.paredes.sabja@gmail.com

Panelista 3 (Título de la Conferencia): Mecanismos de persistencia de esporas de Clostridium difficile y su contribución a las infecciones recurrentes.

(Mechanisms of Clostridium difficile spore persistence and its contribution to recurrent infections)

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID): microbioma.cl

SIMPOSIO S22 - Metagenomic approaches for microbial community studies: from pristine to engineered ecosystems

Coordinador/a (nombre) Roberto Orellana Roman

Email address: roborellana@gmail.com

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad Tecnica Federico Santa Maria

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Valparaiso

País: Chile

Título del Simposio: Metagenomic approaches for microbial community studies: from pristine to engineered ecosystems

Breve descripción del Simposio: Como una actividad asociada al Proyecto número #170600 titulado “Biología de Sistemas como una herramienta de estudio de la biodiversidad viral y microbiana en ecosistemas acuáticos” (del Concurso Apoyo a la Formación de redes Internacionales para Investigadores en etapa inicial, CONICYT) hemos organizado la visita a Chile de los investigadores Dra. Kristen DeAngelis (UMASS, USA) y Dr. Andrea Franzetti (University of Milano-Bicocca) para la misma fecha del congreso ALAM. Estos investigadores poseen una amplia experiencia en estudios de ecología microbiana utilizando herramientas omicas, tanto en ecosistemas no intervenidos a nivel local (DeAngelis- <http://science.sciencemag.org/content/358/6359/101>) como en sistemas modificados (Franzetti - <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389417305630>). Adicionalmente, quien propone el Simposio, presentara su trabajo relacionado al desarrollo de Proyecto anteriormente mencionado.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Kristen DeAngelis

Panelista 1 (Afiliación Completa): Department of Microbiology University of Massachusetts Amherst

Panelista 1 (Ciudad y País): Amherst, USA

Panelista 1 (email): deangelis@microbio.umass.edu

Panelista 1 (Titulo de la Conferencia): Ecology and evolution of soil microbes in a warming world / Ecología y evolución de microorganismos del suelo en distintos escenarios de calentamiento global

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.com/citations?user=YTnhbK8AAAAJ&hl=en>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Andrea Franzetti

Panelista 2 (Afiliación Completa): University of Milano - Bicocca

Panelista 2 (Ciudad y País): Milano Italy

Panelista 2 (email): andrea.franzetti@googlemail.com

Panelista 2 (Titulo de la Conferencia): Ecological and applied aspects of plant-microbe interactions in urban areas / Aspectos ecológicos y aplicados de las interacciones planta-microbio en áreas urbanas

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.com/citations?user=nVZKx3QAAAAJ&hl=en>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Roberto Orellana

Panelista 3 (Afiliación Completa): Centro de Biotecnología Daniel Alkalay-Lowitt, Universidad Tecnica Federico Santa Maria

Panelista 3 (Ciudad y País): Valparaiso Chile

Panelista 3 (email): roborellana@gmail.com

Panelista 3 (Titulo de la Conferencia): Metagenomic insights into viral dark matter in aquatic ecosystems: from identification to ecological strategies / Avances en metagenómica de virus de ecosistemas acuáticos: desde su identificación hasta estrategias ecológicas

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.com/citations?user=qUMntLgAAAAJ>

SIMPOSIO S23 - Outbreaks of emerging and re-emerging viruses: a new era of research

Coordinador: Marcelo López-Lastra

Email address: lopezlastra@gmail.com

Nombre de la Institución a la que pertenece: Pontificia Universidad Católica de Chile

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH

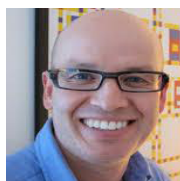
Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Outbreaks of emerging and re-emerging viruses: a new era of research

Breve descripción del Simposio:

The recent outbreak of emerging and re-emerging viruses in the Americas and worldwide have had a great health and economical impact. We will revise how these viruses arise and evolve, the recent zoonotic events occurring in South America and the novel tools and approaches to understand the molecular virology of these emerging pathogens.



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Eddie Holmes

Panelista 2 (Afilación Completa): FAA, FRS. ARC Australian Laureate Fellow Faculty, SoLES. Faculty, Sydney Medical School. Member, Marie Bashir Institute for Infectious Diseases and Biosecurity Member, Charles Perkins Centre. Fellow, Australian Academy of Science Fellow, The Royal Society. University of Sydney.

Panelista 2 (Ciudad y País): Sydney, Australia

Panelista 2 (email): edward.holmes@sydney.edu.au

Panelista 2 (Título de la Conferencia INGLÉS y ESPAÑOL):

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID):

<http://sydney.edu.au/science/people/edward.holmes.php>



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Luiz Tadeu M Figueiredo

Panelista 1 (Afilación Completa):

Chair Professor of the Virology Research Center
School of Medicine of the University of São Paulo in Ribeirão Preto

Panelista 1 (Ciudad y País): Ribeirão Preto, SP, Brazil

Panelista 1 (email): ltmfigue@fmrp.usp.br

Panelista 1 (Título de la Conferencia INGLÉS y ESPAÑOL):

Zoonotic emerging viruses in Brazil

Virus zoonóticos emergentes en Brasil

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID):

https://scholar.google.com/citations?user=l_glavMAAAAJ&hl=en



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Adolfo Garcia-Sastre

Panelista 3 (Afilación Completa):

Professor, Department of Microbiology
Fishberg Professor, Department of Medicine, Division of Infectious Diseases
Director, Global Health and Emerging Pathogens Institute
Icahn School of Medicine at Mount Sinai

Panelista 3 (Ciudad y País): New York, USA

Panelista 3 (email): Adolfo.Garcia-Sastre@mssm.edu

Panelista 3 (Título de la Conferencia INGLÉS y ESPAÑOL):

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

<http://labs.icahn.mssm.edu/garcia-sastre/>

SIMPOSIO S24 (SLAMTB) - Tuberculosis bovina y desarrollo de vacunas: De la investigación básica a su aplicación en el campo

Coordinador

Dr. Ángel Cataldi, INTA, Argentina

Web

<https://inta.gob.ar/personas/cataldi.angeladrian>

Email

cataldi.angeladrian@inta.gob.ar



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Dra. Ana María Zarraga

Panelista 1 (Afilación Completa): Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile,

Panelista 1 (Ciudad y País): Valdivia, Chile

Panelista 1 (email): anamaria.zarraga@gmail.com

Panelista 1 (Titulo de la Conferencia): Distribution and diversity of Mycobacterium bovis in Chile. Distribución y diversidad de Mycobacterium bovis en Chile

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): http://www.ciencias.uach.cl/instituto/bioquimica_microbiologia/investigacion/ana_maria_zarraga.php



El Dr. Martin Vordermeier Es el director del Programa de Vacunas en TB. Su interés está centrado en la respuesta inmune a infecciones mycobacterianas con el fin de desarrollar una vacuna para la tuberculosis bovina. (<http://www.jenner.ac.uk/jenner-researchers/researcher/martin-vordermeier>), Instituto Jenner, Reino Unido.

El Dr. Martin Vordermeier is the Director of the TB Vaccine Program at the The Jenner Institute Laboratories, University of Oxford. His interest is focused on the immune response to mycobacterial infections in order to develop a vaccine for bovine tuberculosis.

Panelista 2 (Nombre y Apellido): Dr. Martin Vordermeier

Panelista 2 (Afilación Completa): Animal and Plant Health Agency, Department of Bacteriology, Weybridge, UK.

Panelista 2 (Ciudad y País): Weybridge, UK

Panelista 2 (email): Martin.Vordermeier@apha.gsi.gov.uk

Panelista 2 (Titulo de la Conferencia): Development of blood and skin test based DIVA tests for cattle to distinguish BCG vaccinated from infection cattle. Desarrollo de test DIVA en sangre y piel para distinguir animales vacunados con BCG del ganado infectado.

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): <http://www.jenner.ac.uk/jenner-researchers/researcher/martin-vordermeier>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Dr. Patricio Retamal

Panelista 3 (Afilación Completa): Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Panelista 3 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 3 (email): pretamal@uchile.cl

Panelista 3 (Titulo de la Conferencia): "Evaluación de la vacunación en la cepa BCG de Mycobacterium bovis para la prevención de tuberculosis bovina em Chile". "Vaccine Testing with the BCG of Mycobacterium bovis for Bovine tuberculosis prevention in Chile

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

PLENARIA 6 - “Synthetic Biology and Optogenetics in a Microbial System: Developing Biotechnological Solutions and Pushing the Boundaries between Science and Art”



Luis Larrondo, Ph.D. Associate Professor at the School of Biological Sciences at the Pontificia Universidad Católica de Chile. Director of Millennium Institute for Integrative Systems and Synthetic Biology and Howard Hughes del Medical Institute International Research Scholar.
Chile

I received my Ph.D. in Cellular and Molecular Biology at the P. Universidad Católica de Chile. My thesis work focused on understanding lignin degradation by white rot fungi. During my thesis I conducted pioneer work, characterizing the founding member of a new branch of the multicopper oxidase superfamily of proteins and also participating in the annotation of the first published genome of a basidiomycete, work that got me involved on several other fungal genome projects. Then, with the support of the PEW foundation I went to the Dunlap-Loros labs (Dartmouth Medical School), where as a postdoc I became interested in fungal functional genomics and circadian regulation, developing different tools such as a high-throughput platform for in vivo circadian studies in *Neurospora*. In 2009, I went back to my home institution, in Chile, where currently I am Associate Professor and the director of the Millennium Nucleus for Fungal Integrative and Synthetic Biology. Work conducted in my lab, and in the labs of collaborators, has contributed to advance our understanding of circadian timing, the role of clock-regulation on plant-pathogen interactions, and rules governing transcription factor binding specificity across species. In addition, through optogenetics and synthetic biology-based approaches my lab is also exploring the design of new oscillatory circuits capable of starting and sustaining circadian rhythms, and developing new tools to design elaborated circuits to reprogram gene expression.

Email: llarrondo@bio.puc.cl

Web: <http://www.larrondolab.com/>

Twitter: [@lflarrondo](https://twitter.com/lflarrondo)



PROGRAMA ALAM

Jueves 15 de Noviembre

PLENARIA 7 - “Molecular interference with immunological and neurological synapses as virulence mechanisms of hRSV. Implications for vaccine design.”



Alexis M. Kalergis, Ph.D. Full Professor at the Department of Molecular Genetics and Microbiology, School of Biological Sciences and the Department of Endocrinology, School of Medicine, at the Pontificia Universidad Católica de Chile. Director of the Millennium Nucleus and Institute on Immunology and Immunotherapy Chile

Dr. ALEXIS M. KALERGIS is a Biochemist from the Pontificia Universidad Católica de Chile and a Ph.D. in Microbiology and Immunology from the Albert Einstein College of Medicine in New York-USA. After his PhD, he performed two post-doctorates, one at the Albert Einstein and another at The Rockefeller University, New York, USA.

He is currently Full Professor in the Department of Molecular Genetics and Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Pontificia Universidad Católica de Chile, and Professor at the Faculty of Medicine at the same university. Dr. Kalergis is a renowned researcher, he has won the prize for the best doctoral thesis at the Albert Einstein College of Medicine, has given numerous international conferences and has published more than fifty articles in leading journal in the field. He has also been awarded and funded by several prestigious institutions in the USA, as the Helen Hay Whitney Foundation, the Irvington Foundation, the Irene Diamond Foundation and TWAS.

Dr. Kalergis has been awarded and directed research programs and projects from Fondecyt, Fondef, International Foundation For Science, Technology Consortia, Millennium Scientific Initiative and has also participated as an independent researcher in interdisciplinary projects of the European Community and Fondap. He is also director of the Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, which is supported by the Millennium Science Initiative. His research focuses on the molecular level in the immune response against infectious agents and tumors, as well as re-establishing immune balance in autoimmune disorders.

He has published numerous articles in high impact journals and has contributed to the scientific training of dozens of undergraduate and postgraduate researchers in the field of immunology. His laboratory has recently succeeded in generating a vaccine against the respiratory syncytial virus, which is currently being prepared for being applied into humans. If this vaccine works, it could solve one of the major public health problems currently affecting the country.

Email: akalergis@bio.puc.cl

Web: <http://www.imii.cl/en/biografia-del-director/>

Twitter:

PLENARIA 8 - “Una Travesía por el Mundo Microbiano”



Roberto Kolter, Ph.D. Dept. of Microbiology and Immunobiology. Harvard Medical School, USA

Roberto Kolter is past president of the American Society for Microbiology, an author, and Professor Emeritus of microbiology at Harvard Medical School. Kolter has been at Harvard Medical School since 1983 and has been Co-director of Harvard’s university-wide Microbial Sciences Initiative since 2003. In 2016, Kolter became co-blogger (with Moselio Schaechter) of the popular microbiology blog, Small Things Considered. He is a fellow of the American Association for the Advancement of Science and of the American Academy of Microbiology.

During the 35-year term of the Kolter Laboratory at Harvard Medical School, more than 120 graduate student and postdoc trainees have explored an eclectic mix of topics gravitating around the study of microbes. In the 1990s, Kolter’s research group was among the first to study the genetics of bacteria adhered to surfaces, living within communities called biofilms, and to consider biofilms as developmental and multicellular forms of microbes. The lab has discovered basic communication pathways underpinning biofilm development and characterized materials within the extracellular matrix of biofilms using model bacterial species like *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis*. Kolter’s lab also published early studies of cellular differentiation and division of labor in the context of multicellular microbial communities. In addition to biofilm biology, his group has done extensive work on bacterial physiology, intra and interspecies communication, microbial evolution, microbiome ecology, and bioactive compound discovery. Kolter has co-authored over 240 research and other scholarly articles which have been cited over 42,000 times in total.

Email: roberto_kolter@hms.harvard.edu

Web: <http://gasp.med.harvard.edu/>

Twitter:

SIMPOSIO S25 - Un simposio en honor a James P. Nataro: Celebrando su contribución en el campo de las enfermedades infecciosas en Latino America

Coordinador/a (nombre) Mauricio J. Farfan y Roberto Vidal

Email address: mfarfan@med.uchile.cl / rvidal@uchile.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad de Chile

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Un simposio en honor a James P. Nataro: Celebrando su contribución en el campo de las enfermedades infecciosas en Latino America. A symposium in honor of James P. Nataro: Celebrating its contribution to the field of infectious disease in Latin America.

Breve descripción del Simposio: We want to hold this symposium in representation of all the Latin Americans researchers who have had the privilege to share with Dr. Nataro throughout its successful career as a researcher and mentor of new scientists. Undoubtedly, this symposium will be a memorable celebration and a unique moment to share with him and thank its tremendous contributions to the field of infectious diseases in children Latin America. At this point, the symposium will include a presentation by former fellows Fernando Navarro (México), Waldir Elias (Brasil) and Mauricio J. Farfan (Chile).



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Waldir Pereira Elias Junior

Panelista 1 (Afiliación Completa): Laboratory of Bacteriology, Instituto Butantan

Panelista 1 (Ciudad y País): São Paulo, Brazil

Panelista 1 (email): waldir.elias@butantan.gov.br

Panelista 1 (Título de la Conferencia): Secretion of virulence factors by bacterial enteropathogens / Secreción de factores de virulencia por enteropatógenos bacterianos

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): http://www.butantan.gov.br/pesquisa/unidadesdepesquisa/labacteriologia/Paginas/default_en.aspx



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Fernando Navarro-Garcia

Panelista 2 (Afiliación Completa): Department of Cell Biology, Centro de Investigacion y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV-IPN)

Panelista 2 (Ciudad y País): México DF, México

Panelista 2 (email): fnavarro@cell.cinvestav.mx

Panelista 2 (Título de la Conferencia): Studying and Understanding the celular microbiology of bacterial enteropathogens / Estudiando y comprendiendo la microbiología celular de enteropatógenos bacterianos

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): <http://www.cell.cinvestav.mx/depto.php?lang=es&tit=4&subt=1&subsubt=2>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Mauricio J. Farfan

Panelista 3 (Afiliación Completa): Departamento de Pediatría, Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Panelista 3 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 3 (email): mfarfan@med.uchile.cl

Panelista 3 (Título de la Conferencia): Host (gut microbiota)-pathogen interaction: Role of the microbiota in the virulence regulation of enteropathogens / Interacción hospedero (microbiota intestinal)-patógeno: Participación de la microbiota en la regulación de la virulencia de enteropatógenos

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID): <https://www.patogenosentericos.cl>

SIMPOSIO S26 - Extremophile Microbiology: Past and present of four model acidophiles

Coordinador/a (nombre) Coordinador/a (nombre) * 1) Raquel Quatrini / 2) Gloria Levicán

Email address: rquatrini@cienciavida.org

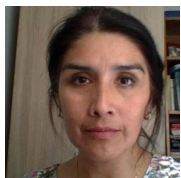
Nombre de la Institución a la que pertenece: 1) Fundación Ciencia & Vida; 2) Universidad de Santiago de Chile
Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Extremophile Microbiology: Past and present of four model acidophiles.

Breve descripción del Simposio: Acidophiles are life-forms that grow preferentially in natural or man-made environments where the pH drops below 3. Together with other categories of extremophiles, they have greatly expanded our knowledge of the diversity of life and its evolution and our understanding on how microorganisms adapt to seemingly hostile situations using individual and collective strategies. Leading researchers in this field will contribute an overview of the history and current status of the microbiology of four model acidophiles (Leptospirillum, Acidithiobacillus, Acidiferrobacter and Sulfolobus) relevant in basic and applied research.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Gloria Levicán

Panelista 1 (Afiliación Completa): Associate Professor, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile

Panelista 1 (Ciudad y País): Santiago, CHILE

Panelista 1 (email): gloria.levican@usach.cl

Panelista 1 (Título de la Conferencia): Los Leptospirilli, fisiología y respuesta frente a estrés / The Leptospirilli, physiology and stress response

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): <http://www.quimicaybiologia.usach.cl/academico/levican-jaque-gloria>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Mario Vera Véliz

Panelista 2 (Afiliación Completa): Assistant Professor, Institute for Biological and Medical Engineering. Schools of Engineering, Biological Sciences and Medicine, Department of Hydraulic and Environmental Engineering. School of Engineering, Pontificia Universidad Católica de Chile

Panelista 2 (Ciudad y País): Santiago, CHILE

Panelista 2 (email): maverav@uc.cl

Panelista 2 (Título de la Conferencia): Acidiferrobacter, genome analyses, and interactions in multispecies biofilms / Acidiferrobacter. Análisis genómico e interacciones en biofilm multiespecie.

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): <https://scholar.google.com/citations?user=6yefjgoAAAAJ&hl=en>



Panelista (Nombre y Apellido): Raquel Quatrini

Panelista (Afiliación Completa): Fundación Ciencia & Vida, Centro de Investigación Basal BFP-16; Millennium Nucleus in the Biology of the Intestinal Microbiota, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andres Bello.

Panelista (Ciudad y País): Santiago, CHILE

Panelista (email): rquatrini@cienciavida.org

Panelista (Título de la Conferencia Español/Ingles): The Acidithiobacilli, genomics and evolution of the taxon

Panelista (página web/google scholar/ORCID): <http://www.cienciavida.org/raquel-quatrini-phd/>

SIMPOSIO S27 - Microbiología de la conservación y servicios ecosistémicos microbianos

Coordinador/a (nombre) Cristina Dorador

Email address: criordor@gmail.com

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad de Antofagasta

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Antofagasta

País: Chile

Título del Simposio: Microbiología de la conservación y servicios ecosistémicos microbianos

Breve descripción del Simposio: Este simposio busca dar a conocer nuevos aspectos en la conservación de los microorganismos considerando hábitats y condiciones únicas presentes en Sudamérica. Del mismo modo, se conversará acerca de la importancia de las nuevas tecnologías para la utilización de información microbiana para la toma de decisiones ambientales.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Cristina Dorador

Panelista 1 (A filiación Completa): Departamento de Biotecnología & Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta

Panelista 1 (Ciudad y País): Antofagasta, Chile

Panelista 1 (email): criordor@gmail.com

Panelista 1 (Título de la Conferencia): Desafíos de preservación de hábitats microbianos del norte de Chile

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): https://scholar.google.cl/citations?hl=en&user=JGCbLoIAAAAJ&view_op=list_works&sortby=pubdate

Panelista 2 (Nombre y Apellido): Eduardo Castro-Nallar

Panelista 2 (A filiación Completa): Universidad Andrés Bello

Panelista 2 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 2 (email): eduardo.castro@unab.cl

Panelista 2 (Título de la Conferencia): “El microbioma y resistoma del fiordo de Comau (42S): explorando un potencial impacto antropogénico”

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): <http://www.castrolab.org/>



Panelista (Nombre y Apellido): Fiona Henriquez

Panelista (A filiación Completa): Panelista (Ciudad y País): Professor, Infection and Microbiology Research Group

Professor, Institute for Biomedical and Environmental Health Research, University of the West of Scotland

Panelista (email): Fiona.Henriquez@uws.ac.uk

Panelista (Título de la Conferencia Español/Ingles):

The role of legacy pollution and the environmental microbiome in the emergence of antibiotic resistance in industrialised estuaries? A case study in the West of Scotland

Panelista (página web/google scholar/ORCID): <https://research-portal.uws.ac.uk/en/persons/fiona-henriquez>

SIMPOSIO S28 - Evolution of Salmonella

Coordinador/a (nombre) Stanley Maloy

Email address:

Nombre de la Institución a la que pertenece: San Diego State University

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: ASM

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Evolution of Salmonella

Breve descripción del Simposio:



Panelista (Nombre y Apellido): Lionello Bossi

Panelista (Afilación Completa): Institute for Integrative Biology of the Cell, I2BC, CNRS

Panelista (Ciudad y País): Gif-sur-Yvette, France

Panelista (email): Lionello.BOSSI@i2bc.paris-saclay.fr

Panelista (Titulo de la Conferencia Español/Ingles): Gene silencing pathways in horizontally acquired DNA in Salmonella

Panelista (página web/google scholar/ORCID): <https://www.i2bc.paris-saclay.fr/spip.php?article656&lang=en>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Linda Kenney

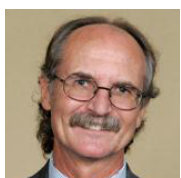
Panelista 2 (Afilación Completa): Professor of Microbiology at the University of Illinois-Chicago

Panelista 2 (Ciudad y País): xxx

Panelista 2 (email): csaavedra@unab.cl

Panelista 2 (Titulo de la Conferencia): Regulation and evolution of Salmonella lifestyle choice

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): xxx



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Stanley Maloy

Panelista 3 (Afilación Completa): xxx

Panelista 3 (Ciudad y País): xxx

Panelista 3 (email): csaavedra@unab.cl

Panelista 3 (Titulo de la Conferencia): Evolution of Salmonella: Adaptation to different environmental niches

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID): xxx

SIMPOSIO S29 - Bacterial pathogenesis: mechanisms involved in survival, resistance and virulence

Coordinador/a (nombre) Lucia Yim

Email address: lyim@higiene.edu.uy

Nombre de la Institución a la que pertenece: www.sumuy.org.uy

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SUM - Sociedad Uruguaya de Microbiología

Ciudad: Montevideo

País: Uruguay

Título del Simposio: Bacterial pathogenesis: mechanisms involved in survival, resistance and virulence / “Patogenicidad bacteriana: mecanismos involucrados en la supervivencia, resistencia y virulencia”

Breve descripción del Simposio: NA



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Eleonora Garcia Vescovi

Panelista 1 (Afilación Completa): Laboratorio de Patogénesis Bacteriana, Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET), Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario

Panelista 1 (Ciudad y País): Rosario, Argentina

Panelista 1 (email): infosumuy@sumuy.org.uy

Panelista 1 (Titulo de la Conferencia): Survival strategies learned from an opportunistic pathogen / Estrategias de sobrevivencia de un patógeno oportunista

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): <http://www.ibr-conicet.gov.ar/laboratorios/garcia-vescovi/>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): JA Chabalgoity

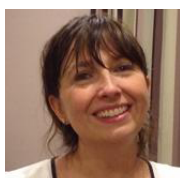
Panelista 2 (Afilación Completa): Depto de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene/Facultad de Medicina, Universidad de la República

Panelista 2 (Ciudad y País): Montevideo, Uruguay.

Panelista 2 (email): infosumuy@sumuy.org.uy

Panelista 2 (Titulo de la Conferencia): Streptococcus pneumoniae: pathogenesis and immunity / Streptococcus pneumoniae: patogenia e inmunidad

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): <http://www.higiene.edu.uy/ddbp/integrantes.html>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Paola Scavone

Panelista 3 (Afilación Completa): Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)

Panelista 3 (Ciudad y País): Montevideo, Uruguay.

Panelista 3 (email): infosumuy@sumuy.org.uy

Panelista 3 (Titulo de la Conferencia): Efflux pumps: the new targets for antimicrobials / Bombas de eflujo: los nuevos blancos para antimicrobianos

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID): https://www.researchgate.net/profile/Paola_Scavone



Panelista 4 (Nombre y Apellido): Francisco García del Portillo

Panelista 4 (Afilación Completa): Centro Nacional de Biotecnología (CSIC, Madrid, España)

Panelista 4 (Ciudad y País): CSIC, Madrid, España.

Panelista 4 (email): fgportillo@cnb.csic.es

Panelista 4 (Titulo de la Conferencia): Role of peptidoglycan enzymes in Salmonella virulence

Panelista 4 (página web/google scholar/ORCID): <http://www.cnb.csic.es/index.php/es/investigacion/departamentos-de-investigacion/biotecnologia-microbiana/laboratorio-de-patogenos-bacterianos-intracelulares>



SIMPOSIO S30 (RESERVADO)

SIMPOSIO S31 - Systems and synthetic biotechnology of microbial factories

Coordinador/a (nombre) Ignacio Poblete castro

Email address: ignacio.poblete@unab.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad Andrés Bello

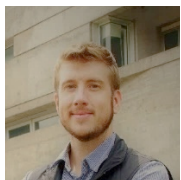
Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Systems and synthetic biotechnology of microbial factories

Breve descripción del Simposio:



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Pablo Ivan Nickel

Panelista 1 (Afiliación Completa): Senior Researcher & Group Leader at The Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability, TU Denmark

Panelista 1 (Ciudad y País): Lyngby, Denmark

Panelista 1 (email): pabnik@biosustain.dtu.dk

Panelista 1 (Título de la Conferencia): Design and Implementation of orthogonal metabolism in environmental bacteria.

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): <https://scholar.google.com/citations?user=flmgvwwAAAAJ>



Panelista (Nombre y Apellido): Gonzalo Durante Rodriguez

Panelista (Afiliación Completa): Panelista

(Ciudad y País): Departamento de Microbiología Medioambiental, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC de Madrid, España

Panelista (email): gdurante@cib.csic.es

Panelista (Título de la Conferencia Español/Ingles): Exploiting new regulatory systems to develop bacterial cell biosensors

Panelista (página web/google scholar/ORCID): https://scholar.google.es/citations?user=2vbl_YkAAAAJ&hl=en



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Ignacio Poblete Castro

Panelista 3 (Afiliación Completa): CBIB, Biosystems Engineering Laboratory, Universidad Andres Bello

Panelista 3 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 3 (email): ignacio.poblete@unab.cl

Panelista 3 (Título de la Conferencia): Rewiring the metabolic network of Pseudomonas strains for the synthesis of valuable industrial compounds

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID): <https://scholar.google.es/citations?user=Bj5qFdAAAAAJ&hl=en&oe=ASCII>

SIMPOSIO S32 (ASOCHIN) - IMMUNE CELL BIOLOGY: UNVEILING THE DYNAMIC NATURE OF ANTIGEN PRESENTING CELLS

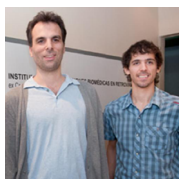
Moderan

Pablo Vargas, PhD.
Institute Curie,
Paris, Francia

https://www.researchgate.net/profile/Pablo_Vargas7

Leandro Carreño, PhD.
Programa de Inmunología
Instituto de Ciencias Biomédicas,
Facultad de Medicina,
Universidad de Chile

https://www.researchgate.net/profile/Leandro_Carreno



Panelista (Nombre y Apellido): Dr Matias Ostrowski, DVM, Ph.D.,

Panelista (Afilación Completa): Associate Professor, University of Buenos Aires, National Council of Research, Argentina.

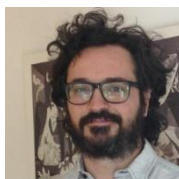
Panelista (Ciudad y País): Buenos Aires, Argentina

Panelista (email): maostro@fmed.uba.ar

Panelista (Titulo de la Conferencia): HIF-1 α and Extracellular Vesicles drive inflammation induced by HIV-1 infected CD4+ T cells

Panelista (página web/google scholar/ORCID):

http://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?id=37589&datos_academicos=yes



Panelista (Nombre y Apellido): Dr Ignacio Cebrian

Panelista (Afilación Completa): Instituto de Histología y Embriología de Mendoza (IHEM , Universidad Nacional de Cuyo, CONICET), Facultad de Ciencias Médicas , Mendoza , Argentina

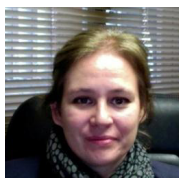
Panelista (Ciudad y País): Mendoza , Argentina

Panelista (email): ignaciocebrian@yahoo.com.ar

Panelista (Titulo de la Conferencia): Dynamic interaction between the endocytic and secretory pathway during antigen cross-presentation by dendritic cells

Panelista (página web/google scholar/ORCID):

http://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?id=40180&datos_academicos=yes



Panelista (Nombre y Apellido): Dra. Maria Isabel Yuseff

Panelista (Afilación Completa): Department of Cellular and Molecular Biology. Faculty of Sciences. Pontificia Universidad Católica de Chile,

Panelista (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista (email): myuseff@bio.puc.cl

Panelista (Titulo de la Conferencia): "Regulating of B Cell Responses to Antigens by Cell Polarity and Membrane Trafficking.

Panelista (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0001-8172-3785>



Panelista (Nombre y Apellido): Dra. Fabiola Osorio

Panelista (Afilación Completa): Assistant Professor, Program of Immunology, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Universidad de Chile.

Howard Hughes Medical Institute - International Research Scholar.

Panelista (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista (email): fabiolaosorio@med.uchile.cl

Panelista (Titulo de la Conferencia): Regulation of dendritic cell function by the unfolded protein response

Panelista (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0001-5306-7856>

SIMPOSIO S33 - Uso de organismos modelo para el estudio de la interacción patógeno-hospedero

Coordinador/a (nombre) Carlos Santiviago y Francisco Chávez

Email address: csantiviago@ciq.uchile.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad de Chile

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Uso de organismos modelo para el estudio de la interacción patógeno-hospedero (Use of simple model organisms to study host-pathogen interaction)

Breve descripción del Simposio: En este simposio se abordarán aspectos relacionados con el uso de organismos modelo para el estudio de la interacción patógeno-hospedero de distintas bacterias. El Dr. Carlos Santiviago (U. de Chile) presentará resultados asociados con los mecanismos moleculares involucrados en la supervivencia intracelular de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium en protozoos usando como hospedero modelo a la ameba social *Dictyostelium discoideum*. Por su parte, el Dr. Francisco Chávez (U. de Chile) mostrará resultados relacionados con el uso del pez cebra (*Danio rerio*) como organismo modelo para el estudio de distintos aspectos de la patogenicidad de *Pseudomonas aeruginosa*. Finalmente, la Dra. Andrea Calixto (U. Mayor) presentará resultados relacionados con los mecanismos utilizados por el nemátodo *Caenorhabditis elegans* para evitar las infecciones bacterianas.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Carlos Santiviago

Panelista 1 (Afiliación Completa): Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile

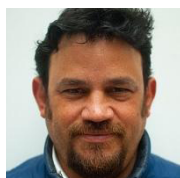
Panelista 1 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 1 (email): csantiviago@ciq.uchile.cl

Panelista 1 (Título de la Conferencia): Mecanismos moleculares involucrados en la supervivencia intracelular de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium en la ameba social *Dictyostelium discoideum* (Molecular mechanisms involved in the intracellular survival of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in the social amoeba *Dictyostelium discoideum*)

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.cl/citations?user=kZDCVj8AAAAJ&hl=es>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Francisco Chávez

Panelista 2 (Afiliación Completa): Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

Panelista 2 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 2 (email): fpchavez@uchile.cl

Panelista 2 (Título de la Conferencia): “Zebradish”: estudios de la interacción hospedero-patógeno-microbiota en larvas de pez cebra (“Zebradish”: host-pathogen-microbiome interaction studies in zebrafish larvae)

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.cl/citations?user=Wvo5eEEAAAAJ&hl=es>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Andrea Calixto

Panelista 3 (Afilación Completa): Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor

Panelista 3 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 3 (email): andrea.calixto@umayor.cl

Panelista 3 (Titulo de la Conferencia): Comunicación bacteria-nemátodo mediada por RNAs no codificantes como estrategia de supervivencia transgeneracional (Non-coding RNA mediated bacteria-worm crosstalk in transgenerational strategies of survival)

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.cl/citations?user=WrdY7MsAAAAJ&hl=es>

SIMPOSIO S34 - Omics perspectives in microbial oceanography

Coordinador/a (nombre) Nicole Trefault

Email address: nicole.trefault@umayor.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad Mayor

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Omics perspectives in microbial oceanography

Breve descripción del Simposio: Durante este simposio se abordarán aspectos de ecología microbiana en el océano mediante aproximaciones ómicas.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Osvaldo Ulloa

Panelista 1 (Afilación Completa): Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción

Panelista 1 (Ciudad y País): Concepción, Chile

Panelista 1 (email): oulloa@udec.cl

Panelista 1 (Título de la Conferencia): “Meta-ómica y el rol biogeoquímico de los microorganismos en aguas marinas anóxicas”

“Meta-omic and the biogeochemical rol of microorganisms in anoxic marine waters”.

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID):

https://www.researchgate.net/profile/Osvaldo_Ulloa



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Nicole Trefault

Panelista 2 (Afilación Completa): Universidad Mayor. Centro de Genómica y Bioinformática

Panelista 2 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 2 (email): nicole.trefault@umayor.cl

Panelista 2 (Título de la Conferencia):”

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID):

https://www.researchgate.net/profile/Nicole_Trefault



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Alejandro Murillo

Panelista 3 (Afilación Completa): European Molecular Biology Laboratory | EMBL · Structural and Computational Biology Unit (Heidelberg)

Panelista 3 (Ciudad y País): Heidelberg, Alemania

Panelista 3 (email): alejandro.murillo@embl.de

Panelista 3 (Título de la Conferencia): “Estructura taxonómica microbiana, patrones funcionales e interacciones trans-dominio en el océano global”

“Microbial taxonomic structure, functional patterns and trans-domain interactions in the global ocean”

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

https://www.researchgate.net/profile/Alejandro_Murillo3

SIMPOSIO S35 – Molecular and cellular immunity during health and disease

Coordinador/a (nombre) Dr. Pablo González

Email address: pagonzalez@bio.puc.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Pontificia Universidad Católica de Chile

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Molecular and cellular immunity during health and disease

Chair: Dr. Pablo González, Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Pontificia Universidad Católica de Chile

Co-chair: Dr. Alexis Kalergis, Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Pontificia Universidad Católica de Chile

Panelista (Nombre y Apellido): Angela Pearson

Panelista (Afiliación Completa): INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Québec, Canada

Panelista (Ciudad y País): Québec, Canada

Panelista (email): angela.pearson@iaf.inrs.ca

Panelista (Titulo de la Conferencia Español/Ingles): Inhibition of Herpes Simplex Virus 1 Replication by Upstream Binding Factor

Panelista (página web/google scholar/ORCID): <http://www.inrs.ca/english/angela-pearson>



Panelista (Nombre y Apellido): Pablo González

Panelista (Afiliación Completa): Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Departamento de Genética Molecular, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Panelista (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista (email): pagonzalez@bio.puc.cl

Panelista (Titulo de la Conferencia Español/Ingles): Identification of an HSV-2 glycoprotein-mutant virus that enables dendritic cell-mediated T cell activation and the establishment of antiviral immunity in vivo.

Panelista (página web/google scholar/ORCID):

<http://biologia.uc.cl/es/cuerpo-academico/profesor/31>



Panelista (Nombre y Apellido): Andrew Mouland

Panelista (Afiliación Completa): Professor, McGill University; Senior Investigator, Lady Davis Institute at the JGH; HIV-1 RNA Trafficking Laboratory

Panelista (Ciudad y País): Montreal, Canada

Panelista (email): andrew.mouland@mcgill.ca

Panelista (Titulo de la Conferencia Español/Ingles): HIV-1 regulates autophagy by controlling mTORC1 and late endosome/lysosome positioning

Panelista (página web/google scholar/ORCID): <http://www.ladydavis.ca/en/andrewmouland>



SIMPOSIO S36 (SLAMTB) - Genómica y Bioinformática de Mycobacterias

Coordinadora



Dra. Patricia del Portillo, Corpogen, Colombia

Web

<https://www.linkedin.com/in/patricia-del-portillo-48012521/>

Email

pdelportillo@corpogen.org



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Dr. Rogelio Hernández Panda

Panelista 2 (Afilación Completa): Dirección de Investigación-Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México

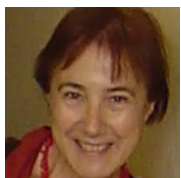
Panelista 2 (Ciudad y País): México

Panelista 2 (email): rogelio.hernandezp@incmsnz.mx

Panelista 2 (Titulo de la Conferencia): “Transcripción génica del huésped y patógeno en la fase temprana y avanzada de la tuberculosis pulmonar experimental”

“mRNA transcription from the host and pathogen during early and advanced experimental pulmonary tuberculosis”.

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): <http://innsz.mx/Investigacion/investigador.jsp?id=45>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Dra. María Jesús García

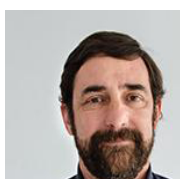
Panelista 2 (Afilación Completa): Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Spain

Panelista 2 (Ciudad y País): Madrid, Spain

Panelista 2 (email): mariaj.garcia@uam.es

Panelista 2 (Titulo de la Conferencia): “How close is close? Comparison of genomes in the genus Mycobacterium” ¿Que tan cerca es cerca? Comparación de genomas en el género Mycobacterium.

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): https://www.uam.es/ss/Satellite/Medicina/es/1242662781044/1242666463171/persona/detallePDI/Maria_Jesus_Garcia_Garcia.htm



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Dr. Jaime Robledo

Panelista 2 (Afilación Completa): Corporación para Investigaciones Biológicas and Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, Colombia

Panelista 2 (Ciudad y País): Medellín, Colombia

Panelista 2 (email): jrobledo@cib.org.co

Panelista 2 (Titulo de la Conferencia): Whole genome sequencing and tuberculosis in Latino América. Secuencia de genomas completos y tuberculosis en América Latina

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): http://scienti.colciencias.gov.co:8081/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000017736

Plenaria 9 - Auspiciado por SLAMTB



“Host-pathogen interactions in tuberculosis“

Geanncarlo Lugo

Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, Université de Toulouse, CNRS, UPS, Toulouse, France.

We and others previously reported that the *Mycobacterium tuberculosis* ancestor underwent massive episodes of horizontal gene transfer (HGT), mostly from environmental species (Becq et al. 2007 *Mol Biol Evol*; Jang et al. 2008 *Trends microbiol*). Here, I will discuss our recent published and unpublished discoveries that light on the role of ancient HGT in *M. tuberculosis* evolution, physiology and virulence.

Email: gc_lugo@yahoo.com

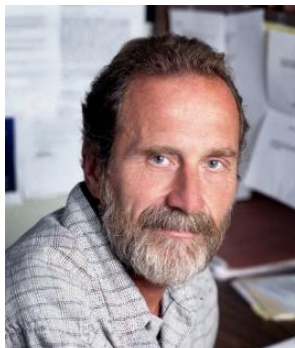
Web: <http://orcid.org/0000-0003-4620-8491>



PROGRAMA ALAM

Viernes 16 de Noviembre

Plenaria 10 - Auspiciada por ASOCHIN



“Endogenous glucocorticoids suppress spontaneous gastric inflammation and spasmodic polypeptide expressing metaplasia in mice”

John A. Cidlowski, Ph.D., Senior Investigator,
Signal Transduction Laboratory / Molecular Endocrinology Group
NIEHS (National Institute of Environmental Health Sciences)
NIH Intramural Research Program, NC, USA.
Chief of the Signal Transduction Laboratory and head of the Molecular Endocrinology Group.

Research areas:

To elucidate how cells and tissues respond to both environmental and physiological stressors. Insights into stress signalling pathways can aid in the understanding of complex human disease processes and improve disease therapy. The research group is focussed on the actions of glucocorticoids, a primary stress response hormone released from the adrenal gland following the activation of the stress responses.

A second focus of his research group is to understand actions of glucocorticoids on apoptosis in the immune system and specifically their role in T-lymphoid cell apoptosis. Apoptosis, or programmed cell death, has now been associated with more than 50 human diseases including cancer, AIDS and Alzheimer’s disease. Apoptosis has a strong environmental component, which reflects its activation by a variety of environmental contaminants including herbicides, arsenic, TCDD, PAHs, cadmium, asbestos and diesel combustion particles. The research seek to understand the molecular mechanisms that cells employ to activate and/or inhibit apoptosis with specific emphasis on defining how the function of ion channels and volume regulatory processes impinge on cell life/death decisions. In addition, recent discoveries have shown a remarkable stimulatory action of glucocorticoids on components of innate immunity and unprecedented synergy with proinflammatory signaling molecules.

Web site: <https://irp.nih.gov/pi/john-cidlowski>

SIMPOSIO S37 - Marine extremophilic microorganisms and biogeochemical cycles

Coordinador: NICOLAS GUILIANI)

email: nguilian@uchile.cl



Panelista (Nombre y Apellido): Dr. Antonio Ventosa

Panelista (Afilación Completa): Department of Microbiology and Parasitology, University of Sevilla, 41012 Sevilla, Spain

Panelista (Ciudad y País): Sevilla, España

Panelista (email): ventosa@us.es

Panelista (Título de la Conferencia): Phylogenetic and Metabolic Diversity of the Prokaryotic Community in Saline Soils versus Aquatic Hypersaline Habitats

Panelista (página web/google scholar/ORCID):

https://www.researchgate.net/profile/Antonio_Ventosa



Panelista (Nombre y Apellido): Dr. Bernard Ollivier

Panelista (Afilación Completa): Aix-Marseille Université, Université du Sud Toulon-Var, CNRS/INSU, IRD, Mediterranean, Institute of Oceanography (MIO), UM 110, 13288, Marseille, Cedex 09, France.

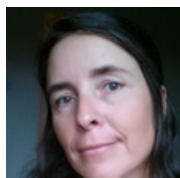
Panelista (Ciudad y País): Marseille, France

Panelista (email): bernard.ollivier@mio.osupytheas.fr

Panelista (Título de la Conferencia): Microbiology of oilfield ecosystems

Panelista (página web/google scholar/ORCID):

https://www.mio.univ-amu.fr/spip.php?page=pageperso&id_user=4874&lang=fr



Panelista (Nombre y Apellido): Dr. Janja Ceh

Panelista (Afilación Completa): Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Universidad de Antofagasta

Panelista (Ciudad y País): Antofagasta, Chile

Panelista

(email): janja.m.ceh@gmail.com

Panelista (Título de la Conferencia):

Jellyfish life stages shape associated microbial communities, while a core microbiome is maintained across all

Panelista (página web/google scholar/ORCID):

<https://scholar.google.cl/citations?hl=en&pli=1&user=YyQ4wEsAAAAJ>

SIMPOSIO S38 - Virus DNA oncogénicos: Interacciones medioambientales y con el hospedero

Coordinador/a (nombre) Francisco Aguayo González

Email address: faguayo@med.uchile.cl

Nombre de la Institución a la que pertenece: Universidad de Chile

Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: SOMICH - Sociedad de Microbiología de Chile

Ciudad: Santiago

País: Chile

Título del Simposio: Virus DNA oncogénicos: Interacciones medioambientales y con el hospedero

Breve descripción del Simposio: Se incluirán dos virus DNA: virus papiloma humano y poliomavirus. En este simposio se expondrán resultados obtenidos respecto de potenciales nuevos biomarcadores en cáncer cervico-uterino y tumores asociados a HPV y vías de señalización involucradas. Además se expondrán resultados sobre presencia y rol de poliomavirus en cáncer. La perspectiva será básico-clínica.



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Enrique Boccardo

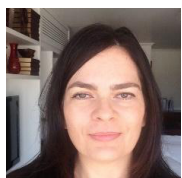
Panelista 1 (Afiliación Completa): Department of Microbiology, Institute of Biomedical Sciences, University of Sao Paulo

Panelista 1 (Ciudad y País): Sao Paulo, Brazil

Panelista 1 (email): eboccardo@usp.br

Panelista 1 (Titulo de la Conferencia): Human polyomavirus and cancer: a Brazilian study; Poliomavirus humanos y cáncer: Un estudio en Brasil

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0003-1900-0273>



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Lara Termini

Panelista 2 (Afiliación Completa): Instituto do Câncer do Estado de São Paulo, Centro de Investigação Translacional em Oncologia, Laboratório de Oncologia Experimental

Panelista 2 (Ciudad y País): Sao Paulo, Brazil

Panelista 2 (email): terminilara@gmail.com

Panelista 2 (Titulo de la Conferencia): Molecular biomarkers for cervical cancer; Biomarcadores moleculares en cáncer de cuello uterino

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID): <https://orcid.org/0000-0002-3588-8877>



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Francisco Aguayo

Panelista 3 (Afiliación Completa): Departamento de Oncología Básico-Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Panelista 3 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 3 (email): faguayo@med.uchile.cl

Panelista 3 (Titulo de la Conferencia): Interaction between viral infections and environmental factors in cancer; Interacción entre infecciones virales y factores medioambientales en cáncer

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID): <https://scholar.google.com/citations?user=fPqxTfgAAAAJ&hl=en>

SIMPOSIO S39 (ASOCHIN) - MICROBIOTA AND IMMUNE RESPONSE:

Moderan

Alejandro Escobar, PhD.

Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas (ICOD)

Facultad de Odontología

Universidad de Chile

<https://www.linkedin.com/in/alejandro-escobar-%C3%A1-a2685b22/>

Francisco Chavez, PhD.



Panelista (Nombre y Apellido): Martin Gotteland, PhD

Panelista (Afilación Completa): Prof Titular Facultad de Medicina Universidad de Chile

Panelista (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista (email): mgottela@med.uchile.cl

Panelista (Título de la Conferencia): “Metabolitos bacterianos e inflamación intestinal / Bacterial metabolites and gut inflammation”

Panelista (página web/google scholar/ORCID): ResearcherID: A-1841-2008 <https://www.nutricion-uchile.cl/>



Panelista (Nombre y Apellido): Marcela Hermoso, PhD

Panelista (Afilación Completa): Prof Titular, Programa Disciplinario de Inmunología. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina Universidad de Chile

Panelista (Ciudad y País): Saniago, Chile

Panelista (email): mhermoso@med.uchile.cl

Panelista (Título de la Conferencia): “Immune dysregulation of the gut and microbial handling”

Panelista (página web/google scholar/ORCID): https://www.researchgate.net/profile/Marcela_Hermoso2



Panelista (Nombre y Apellido): Marcela Hernández Ríos, DDs, MSc, Ph.D., Senior Investigator

Panelista (Afilación Completa): Department of Oral Pathology and Medicine & Laboratory of Periodontal Biology; Faculty of Dentistry Universidad de Chile. Associate researcher, Faculty of Health Sciences, Universidad Autónoma de Chile

Panelista (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista (email): mhernandezrios@odontologia.uchile.cl

Panelista (Título de la Conferencia Español/Ingles): Crosstalk between local and systemic host's inflammatory response in endodontic infection

Panelista (página web/google scholar/ORCID): https://www.researchgate.net/profile/Marcela_Hernandez7

<http://www.odontologia.uchile.cl/investigacion/laboratorios-de-investigacion-docentes/51037/biologia-periodontal>

SIMPOSIO S40 - De la epidemiología a la regulación genética en Escherichia coli diarregénica y Vibrio cholerae

Coordinador/a (nombre) Dr. José Luis Puente

Email address: puente@ibt.unam.mx

Nombre de la Institución a la que pertenece: Asociación Mexicana de Microbiología

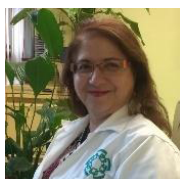
Sociedad afiliada ALAM a la cual pertenece: Asociación Mexicana de Microbiología

Ciudad: México

País: México

Título del Simposio: De la epidemiología a la regulación genética en Escherichia coli diarregénica y Vibrio cholerae

Breve descripción del Simposio:



Panelista 1 (Nombre y Apellido): Dra. María Teresa Estrada

Panelista 1 (Afiliación Completa): Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional

Panelista 1 (Ciudad y País):

Panelista 1 (email):

Panelista 1 (Titulo de la Conferencia): “Epidemiología, filogenia y genes de virulencia de Escherichia coli diarregénicas aisladas de niños mexicanos / Epidemiology, phylogeny and virulence genes of diarrheagenic Escherichia coli isolated from Mexican children”

Panelista 1 (página web/google scholar/ORCID):



Panelista 2 (Nombre y Apellido): Dr. Víctor Antonio García-Angulo

Panelista 2 (Afiliación Completa): Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Panelista 2 (Ciudad y País): Santiago, Chile

Panelista 2 (email):

Panelista 2 (Titulo de la Conferencia): “Regulación genética recíproca de hierro y riboflavina en Vibrio cholerae / Iron-riboflavin reciprocal genetic regulation in Vibrio cholerae “

Panelista 2 (página web/google scholar/ORCID):



Panelista 3 (Nombre y Apellido): Dr. José Luis Puente

Panelista 3 (Afiliación Completa): Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)

Panelista 3 (Ciudad y País):

Panelista 3 (email): puente@ibt.unam.mx

Panelista 3 (Titulo de la Conferencia): La isla de patogenicidad LEE de E. coli enteropatógena: una caja de herramientas para la regulación de genes de virulencia / The LEE pathogenicity island of enteropathogenic E. coli: a toolbox for virulence gene regulation.

Panelista 3 (página web/google scholar/ORCID):

Plenaria 11 - “Evolution of Salmonella: Adaptation to different environmental niches CRISPR-Cas systems: fascinating biology and limitless applications”



Eugene Koonin, USA

Eugene Koonin is a Russian-American biologist and Senior Investigator at the National Center for Biotechnology Information (NCBI). He is a recognised expert in the field of evolutionary and computational biology.

Koonin’s principal research goals include the comparative analysis of sequenced genomes and automatic methods for genome-scale annotation of gene functions. He also researches in the application of comparative genomics for phylogenetic analysis, reconstruction of ancestral life forms and building large-scale evolutionary scenarios, as well as mathematical modeling of genome evolution. Koonin’s research also investigates computational study of the major transitions in the evolution of life (such as the origin of eukaryotes), the evolution of eukaryotic signaling and developmental pathways from the comparative-genomic perspective.

Email: koonin@ncbi.nlm.nih.gov

Web: <https://irp.nih.gov/pi/eugene-koonin>

Twitter:



“The adaptation pathway of CRISPR-Cas”

Francisco Mojica

España

Francisco JM Mojica, is a Spanish microbiologist at the University of Alicante in Spain, known for his research on the CRISPR gene editing technique. In 2001, Mojica and Ruud Jansen, who was searching for additional interrupted repeats, proposed the acronym CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) to alleviate the confusion stemming from the numerous acronyms used to describe the sequences in the scientific literature. 2017 Mojica was a winner of the Albany Medical Center Prize

Email: fmojica@ua.es

Web: <https://imem.ua.es/en/about-us/francisco-juan-martinez-mojica.html>

Twitter:



MINI SYMPOSIUM

ASOCHIN



13-nov ASOCHIN: Mini Symposium Immune disorders (Oral communications)

16.10-17.40	<p>Yessia Hidalgo (MR Bono's group) "Functional alterations in the thymus of the systemic lupus erythematosus murine model NZBWF1"</p>
	<p>Juan Tichauer (R Naves's group) "Interferon-gamma-induced tolerogenic profile in a microglia subset in experimental autoimmune encephalomyelitis"</p> <p>Juan Tichauer (R Naves's group) "Interferon-gamma-induced tolerogenic profile in a microglia subset in experimental autoimmune encephalomyelitis"</p> <p>Carolina Prado (R Pacheco's group) "Dopamine receptor D3 plays a dual role in B-cells favoring antigen-presenting cell function and stimulating the suppressive activity of regulatory B-cells in autoimmunity"</p> <p>Karen Dubois-Camacho (M Hermoso's group) "MicroRNA 378a-3p, a Novel Post-transcriptional Regulator of IL33 Expression"</p> <p>Jaxaira Maggi (JC Aguillon's group) "Tolerogenic dendritic cells generated with dexamethasone and monophosphoryl lipid A are characterized by a particular transcriptional profile associated with immunoregulatory features"</p> <p>Pablo Veloso (M Hernandez's group) "Macrophages increase their polarization towards M1 and M2 in symptomatic apical periodontitis"</p>

13-nov ASOCHIN: Mini Symposium – Basic Immunology(Oral communications)

16.10-17.40	<p>Danitza Fuentes (MI Yuseff's group). "Role of the KDEL receptor in actin remodeling and function of the immune synapse in B lymphocytes"</p> <p>Mariana Roseblatt (D Sauma's group) "Expression of the ectonucleotidase CD73 enhances the proliferative response of naïve CD8+ T cells"</p> <p>Sarah Nunez (M Roseblatt's group) "Novel role of the thymus during inflammatory immune responses"</p> <p>Carolina Schafer (L Carreno's group) "NKT cell stimulation by glycolipid ligands modified from α-galactosylceramide results in differential cytokine secretion profiles"</p> <p>Manuel Flores (A Onate's group) "Evaluación inmunológica de una vacuna quimérica de ADN basada en los marcos de lectura abiertos BAB1_0270, BAB1_0267 y el gen SodC de Brucella abortus 2308"</p> <p>Jose Jimenez (MI Becker's group) "TLR4, but not Dectin-1 or Dectin-2, participates in the proinflammatory effects induced by mollusk hemocyanins in antigen presenting cells of mammals"</p>
-------------	--



15-nov	ASOCHIN: Mini Symposium – Tumor Immunology (Oral Communications)
16.10-17.40	Francisca Hoffman (F Salazar's group) "Cx43-mediated Gap Junctions intercellular communications participate in Cytotoxic Immunological Synapse enabling tumor killing by CTL"
	Lia Hojjman (M Lopez's group) "Modulation of the lymphocyte axis TH1/TH17/TReg by narrowband ultraviolet B light: Possible role of TRPV1 and TRPV4 channels" Felipe Flores (F Osorio's group) "Regulation of the antitumor immunity by the IRE1a/XBP1 axis in dendritic cells" Pamina Contreras (K Pino-Lagos's group) "CD49b+Foxp3- T cells present in the tumor site have a Tr1-like phenotype and are greatly expanded in a murine melanoma model" Sofia Hidalgo (A Lladser's group) "Tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes displaying a resident memory phenotype in renal cell carcinoma patients" Felipe Galvez-Jiron (CH Ribeiro's group) "A dual role for invariant Natural Killer T cells in immunity to gastric cancer"



PROGRAMA SATÉLITE

SOMICH



13-nov

Simposio FEMS-ALAM: Microbiological strategies for arsenic remediation Coordinador[a]: Dra. Gloria Levican, Universidad de Santiago de Chile y Dr. Michael Schlömann, Technische Universität Bergakademie Freiberg, Freiberg

14:30-14:50	Nai Corrado		FEMS & ALAM – building a trans-Atlantic bridge to strengthen the global microbiology community
14:50-15:10	Lukasz Drewniak	Polonia	Arsenic-Oxidizing Bacteria Ensifer sp. M14 – from genome characterization to application in pilot plant installation
14:30-14:50	Nai Corrado		FEMS & ALAM – building a trans-Atlantic bridge to strengthen the global microbiology community
15:50-16:00	Mesa Redonda		

14-nov

9:00-12:45	Taller WHONETS-OPS		Coordinador[a]: Dr. Marcelo Galaz (OPS Washington) y Exequiel Tuduri (Instituto Malbrán, Argentina)
14:30-17:40	Taller Educación-ASM Polonia		Coordinador[a]: Dra. Diana Vullo y Dra Claudia Martinez de la Peña
17:40-19:15	Reunión Embajadores ASM		Coordinador[a]: Dra. Claudia Saavedra y Dr. Andres Oposo

15-nov

9:00-12:45	Taller WHONETS-OPS		Coordinador[a]: Dr. Marcelo Galaz
13:00-16:00	Asamblea de Socios SOMICH		Coordinador[a]: Directorio SOMICH
17:40-19:15	Homenaje al Dr. Romilio Espejo		Coordinador[a]: Directorio SOMICH

16-nov

Simposio ISME-ALAM Coordinador[a]: Dra. Cristina Dorador

10:00-10:15	Lise Øvreås	Noruega	Cave Glacier Microbiome and its response to climate change and anthropogenic pollution
10:15-10:30	10:15-10:30	Rumania	Microbiome from Late Glacial perennial ice of Scarisoara ice cave
10:30-10:45	María Eugenia Farias	Argentina	Microbial ecosystems in atacama puna extreme environments: biofilms, microbial mats microbialites and endoevaporites. Science as the basis for the preservation of the oldest environments on the planet
10:45-11:00	ISME Ambassadors		ISME Latin-American Meeting: round table with ISME Ambassadors



PROGRAMA SATÉLITE

SLAMTB



13-nov

Coordinador[a]: Andrea von Groll

11:15-11:45	André Kipnis	Brasil	Mycobacterium abscessus iron homeostasis: evolution or adaptation?
11:45-12:05	Fabiana Bigi	Argentina	Characterization of the two component regulatory system phoPR in Mycobacterium bovis
12:25-12:45	Pedro Almeida da Silva	Brasil	Mycobacteria efflux, from supporting to best actor
12:25-12:45	Carlos A. Aranaga	Colombia	Evaluación de productos naturales como inhibidores del crecimiento micobacteriano
Lunch Break			

Coordinador: Pedro Almeida da Silva

14:30-15:00	Patricia Del Portillo	Colombia	Bioperfiles de Mycobacterium tuberculosis identificados mediante biología de sistemas y útiles en el diseño de nanosensores
15:00-15:20	Carlos Yesid Soto	Colombia	Potencial de las ATPasas tipo P como dianas para el diseño de compuestos antituberculosos
15:20-15:40	Gabriela Gago	Argentina	Transcriptional regulation of fatty acid metabolism in Mycobacterium tuberculosis: identification and validation of new drug targets
15:40-16:00	Karina Giraldi	Brasil	Schwann cells lipid metabolism impairs neuronal physiology after Mycobacterium leprae infection

Coordinador[a]: Jorge Fernandez

16:10-16:40	Maria Mercedes Zambrano	Colombia	Diversidad y función de microbiomas en ecosistemas de páramo
16:40-17:00	María Elvira Balcells	Chile	¿Qué sabemos de nuevo sobre la infección inicial por Mycobacterium tuberculosis?
17:00-17:20	María Isabel Romano	Argentina	Diseño y optimización de una poliproteína de fusión para el diagnóstico diferencial de Tuberculosis y Paratuberculosis bovina, y su potencial uso como vacuna.
17:20-17:40	Samantha Yong-Mendoza	México	Infección de macrófagos con Mycobacterium tuberculosis latente: Análisis transcripciona



14-nov

Coordinador[a]: María Jesús García

11:15-11:45	Guilherme Mendes	USA	NGS in Clinical Diagnosis of TB Rapid
11:45-12:05	Andrea von Groll	Brasil	Contribution of molecular tools in cases of recurrent tuberculosis.
12:25-12:45	Leila Mendonça Lima	Brasil	Comparative genomics of strains used in BCG vaccine production
12:25-12:45	Nataly Alvarez	Colombia	Metilación en el DNA y su relación con la resistencia a Levofloxacin en Mycobacterium tuberculosis
Lunch Break			

Coordinador[a]: Ana María Zarraga

14:30-15:00	Pablo Fresia	Uruguay	Whole genome sequencing of the monomorphic pathogen Mycobacterium bovis reveals local differentiation of cattle clinical isolates
15:00-15:20	Mariana Piuri	Argentina	Empleo de micobacteriófagos reporteros para el diagnóstico y la búsqueda de nuevas drogas anti TB
15:20-15:40	Paulina Fernandez Soto	United Kingdom	Antivirulence drugs as an alternative to antibiotics to treat Tuberculosis
15:40-16:00	Roxana Paul	Argentina	Discrepancias entre pruebas fenotípicas y genotípicas de sensibilidad a rifampicina en Mycobacterium tuberculosis en Argentina



15-nov

Coordinador[a]: Rogelio Hernández Pando

11:15-11:45	Clara Espitia	México	Immunological and funcional characterization of recombinant Mycobacterium tuberculosis HBHA expressed in Rhodococcus erythropolis
11:45-12:05	Isabelle Maridonneau Parini	Francia	Mycobacterium tuberculosis promueve la replicación del HIV en los macrófagos
12:25-12:45	Ana Paula Junqueira Kipnis	Brasil	Similar profiles of circulating monocytes in severe obesity-related diabetes and tuberculosis patients could contribute to susceptibility to M.tuberculosis infection
12:25-12:45	Rocio Fernandez	Argentina	Concentraciones elevadas de glucosa modulan la expresión de PPARalfa y PPARgama en macrófagos estimulados con Mtb y adicionados o no con cortisol
Lunch Break			
14:30-16:00	Asamblea de SLAMTB		



Martes 13 de Noviembre 2018

CONFERENCIAS



PLE1 - Auspiciada por American Society of Microbiology

Healthy guts exclude oxygen

Andreas Bäumler, Ph.D^{1, (1)} Professor in the Department of Medical Microbiology and Immunology at the University of California, Davis School of Medicine, in Davis, California, USA

Email: ajbaumler@ucdavis.edu

Web: https://www.ucdmc.ucdavis.edu/medmicro/Faculty_MR/Baumler/baumler_index_mr.html

An imbalance in the colonic microbiota might underlie many human diseases, but the mechanisms maintaining homeostasis remain elusive. Recent insights suggest that colonocyte metabolism functions as a control switch, mediating a shift between homeostatic and dysbiotic communities. During homeostasis, colonocyte metabolism is directed towards oxidative phosphorylation, resulting in high epithelial oxygen consumption. The consequent epithelial hypoxia helps maintain a microbial community dominated by obligate anaerobic bacteria, which provide benefit by converting fiber into fermentation products absorbed by the host. Conditions that alter the metabolism of the colonic epithelium increase epithelial oxygenation, thereby driving an expansion of facultative anaerobic bacteria, a hallmark of dysbiosis in the colon. Enteric pathogens subvert colonocyte metabolism to escape niche protection conferred by the gut microbiota. The reverse strategy, a metabolic reprogramming to restore colonocyte hypoxia, represents a promising new therapeutic approach for rebalancing the colonic microbiota in a broad spectrum of human diseases.



PLE2 - Auspiciado por Asociación Chilena de Inmunología

Neuro-immune interactions in the intestinal mucosa associated with Irritable Bowel Syndrome pathogenesis

Maria Vicario Pérez, PhD¹. ⁽¹⁾Associate Researcher, Translational Mucosal Immunology Group, Digestive Diseases Research Unit, Vall d'Hebron Hospital, Autonomous University, Barcelona. Spain (ASOCHIN)

Email: maria.vicario@vhir.org

Web: <http://www.vhir.org/portal1/fitxa-personal.asp?p=vicario-perez-maria&id=31225>

Web: <http://www.vhir.org/portal1/grup-lines.asp?s=recerca&contentid=187019&idrefer=187018>

Maria Vicario | PhD | VHIR Vall d'Hebron Research Institute, Barcelona | VHIR | Division of Digestive and Liver Diseases | ResearchGate

Irritable bowel syndrome (IBS) is the most common functional gastrointestinal disorder, affecting 10-15% of the population. Abdominal pain is associated with changes in bowel habit in the absence of a well-defined pathobiological substrate. IBS is also associated with psychological factors (anxiety, depression), which are important moderators of symptom severity and persistence. IBS is a serious burden to society, leading to considerable direct and indirect costs, and imposes a poor quality of life to patients and their social environment. Despite intensive research, IBS pathophysiology remains unknown, however, common findings reveal intestinal homeostasis disruption, defined by altered epithelial permeability associated with low-grade mucosal inflammation leading to, or being the consequence of, brain-gut axis dysfunction. Our research has demonstrated distinctive mucosal transcriptomic and proteomic profile in IBS, identifying immune activation, mitochondrial dysfunction and cytoskeleton signaling as the most significant alterations. Paired gene and protein expression analysis extends our results of dysfunctional tight junction signaling with altered cellular assembly and cell-to-cell signaling in IBS, supporting the loss of intestinal epithelia barrier function as central molecular mechanism in the disease. Mucosal immune cells actively participate in local defense by innate and adaptive mechanisms and also by modulating epithelial permeability. The control of epithelial barrier function is further monitored by the nervous system, directly through interaction between nerves and epithelial cells and, indirectly, by neuro-immune cross talk in the intestinal mucosa. Among immune cells, mast cells and eosinophils feature these interactions, as both cells carry receptors and release mediators that facilitate bidirectional communication with nerve cells. In IBS, mast cells locate in proximity to nerves and eosinophils contain corticotropin-releasing factor, findings positively associated with symptom severity. B cells and plasma cells are also differentially activated and mucosal immunoglobulin production is significantly higher as compared with health, also in association with the level of visceral pain. In this talk, I will review the most recent findings in IBS pathophysiology and highlight the role mucosal immunity play in this disorder, with a special focus on mucosal neuro-immune interactions, supporting their role in IBS pathophysiology.

Funded by Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities (PI16/00583; CPII16/00031) and CIBEREHD. Government of Spain.



PLE3 - Inauguración (Auspiciada por Biotecom)

Phage and the evolution of new infectious diseases

Stanley Maloy, PhD¹. ⁽¹⁾ Professor of Microbiology and Dean of the College of Sciences at San Diego State University, USA. Center for Microbial Sciences, San Diego State University, San Diego, CA.

Email: smaloy@mail.sdsu.edu

Web: <http://www.bio.sdsu.edu/faculty/maloy.html>

Twitter: [@Typhi](https://twitter.com/Typhi)

Phage are promiscuous mediators of genetic exchange that often carry genes capable of altering the phenotypes of their bacterial hosts. Phage-encoded genes can influence a host's ability to adapt to its environment by providing enhanced or novel metabolic properties, acquisition of antibiotic resistance, resistance to protozoan predation, or new virulence properties. Many exotoxin genes associated with human and animal disease are carried on phage. The classical view of these diseases involves cognate pairs of phage and bacterial hosts: when phage carrying an exotoxin gene lysogenizes the cognate bacterium, it acquires ability to produce the exotoxin responsible for disease symptoms (e.g. *Vibrio cholerae* + *ctx* prophage produces Cholera toxin, *E. coli* + *stx* phage produces Shiga toxin, etc.). However, metagenomic studies identified exotoxin genes in environments that lacked the cognate bacteria known to cause a particular exotoxin-associate disease. Following up on these metagenomic studies, we demonstrated that there are environmental reservoirs of bacteria that carry phage encoded exotoxin genes associated with a variety of different diseases. Similarly, phage that carry antibiotic resistance genes are common in the environment. Evidence from recent outbreaks with novel strains of pathogens indicate that movement of phage carrying these virulence genes between different types of bacteria may facilitate the evolution of new infectious diseases.



Martes 13 de Noviembre 2018

SIMPOSIOS



SMP1.1

Comunicación en la biopelícula dental: quorum sensing en bacterias orales

Claudia Andrea Lefimil¹. ⁽¹⁾ Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

La caries dental es una patología crónica multifactorial, altamente prevalente en humanos, desarrollada por un desbalance entre los procesos fisiológicos de desmineralización y remineralización de esmalte y dentina, debido a disminuciones de pH, bajo el punto crítico de desmineralización. Esta disminución se debe a la presencia de una biopelícula sobre la superficie dental, formada por microorganismos acidogénicos y acidúricos, que generan ácidos orgánicos por su metabolismo fermentador de carbohidratos. Las comunidades microbianas en esta biopelícula varían dependiendo de la profundidad de la lesión de caries, siendo las capas más internas de menor diversidad, donde *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium dentium*, bacterias Gram positivo, son especies dominantes. Esto indica que poseen mecanismos adaptativos para sobrevivir en estas lesiones, mayores que otras especies. ¿Qué les permite coexistir en estos sitios? ¿Cuál es el tipo de interacción que establecen? En general, los microorganismos pueden interactuar a través de *quorum sensing*, un proceso de comunicación basado en la producción y detección de químicos extracelulares llamados autoinductores, influenciando funciones como virulencia, tolerancia a ácido, formación de biopelículas, etc. En bacterias Gram positivo, se ha descrito *quorum sensing* mediado por autoinductor-2, producido por la enzima LuxS. En nuestro laboratorio, analizamos la presencia y funcionalidad de este sistema en *L. casei* ATCC 4646 y *B. dentium* ATCC 27534, ambas aisladas desde lesiones de caries. En ambos casos, se estableció la presencia del gen *luxS*, así como los niveles de su mRNA por RT-PCR cuantitativo. Se determinó que ambas cepas son capaces de producir y exportar autoinductor-2 al medio externo, así como de detectarlo y responder activando señales que influyen positivamente la adherencia a superficies y la formación de biopelículas. Dado que *L. casei* y *B. dentium* son capaces de coexistir en lesiones de caries, y ambos comparten este sistema de *quorum sensing*, se hipotetizó que podrían actuar cooperativamente a través de él, y se analizó el efecto mediado por AI-2 de *L. casei* sobre *B. dentium* y viceversa. Los resultados indican efectos positivos en ambos microorganismos, en la adherencia y formación de biopelículas, que han sido descritos como mecanismos favorecedores de la permanencia de microorganismos en lesiones de caries.

FONDECYT 11150928



SMP1.2

Modulación del microbioma oral mediada por células T helper 17

Loreto Abusleme Ramos¹. ⁽¹⁾ Departamento de Patología y Medicina Oral, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL.

La cavidad oral es un ecosistema complejo, habitado por comunidades microbianas diversas que se encuentran en íntima relación con el sistema inmune del hospedero. Una de las principales células inmunes que contribuye a la protección de las mucosas son los linfocitos T helper 17 (Th17). Interesantemente, las células Th17 parecen tener roles contrapuestos en la mucosa oral. En condiciones basales, estos linfocitos coordinan respuestas immuno-protectoras. Sin embargo, un aumento en las células Th17 se asocia con inflamación y destrucción de los tejidos de soporte de los dientes, enfermedad conocida como periodontitis. En este contexto, nuestros estudios se han enfocado en definir la influencia de la respuesta inmune mediada por las células Th17 en el microbioma oral. Para ello, hemos analizado las comunidades microbianas orales durante una patología caracterizada por expansión de células Th17 (periodontitis) y en el escenario de deficiencia de éstas (Síndrome de Híper-IgE). En periodontitis, la acumulación bacteriana es el factor desencadenante de la respuesta inmune-inflamatoria exagerada dominada por células Th17 en el hospedero. El microbioma asociado con periodontitis se caracteriza por un aumento significativo de la diversidad y de la carga bacteriana (particularmente en sitios inflamados), en comparación a lo que se observa en salud. Además, se observan cambios ecológicos en la estructura y composición de estas comunidades bacterianas. Por otra parte, una disminución de las células Th17 en la mucosa oral se asocia una alta susceptibilidad a infecciones por *Candida* spp. De hecho, pacientes con la inmunodeficiencia primaria Síndrome de Híper-IgE autosómico dominante (AD-HIES), quienes presentan un defecto en la diferenciación de los linfocitos Th17, manifiestan candidiasis oral recurrente. En estos pacientes, nuestros análisis revelan comunidades fúngicas disbióticas dominadas por *Candida albicans*, acompañadas de alteraciones en las comunidades bacterianas representadas por un aumento de streptococci (*S. oralis* y *S. mutans*). Estos resultados sugieren una interacción sinérgica entre *C. albicans* y *Streptococcus* orales en humanos, ilustrando una interrelación dinámica entre dichos microorganismos. En conclusión, el balance de la inmunidad mediada por las células Th17 tiene un rol fundamental como modulador del microbioma oral y su desequilibrio tiene consecuencias profundas asociadas con patologías humanas relevantes.

Programa Intramural del NIDCR, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA.



SMP1.3

¿Caries dental: infección o disbiosis? El delicado equilibrio ecológico en el biofilm dental

Rodrigo Giacaman A^{1,2}. ⁽¹⁾ Unidad de Cariología, Departamento de Rehabilitación Buco-máxilofacial, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, CL. ⁽²⁾ Programa de Investigación de Excelencia Interdisciplinario en Envejecimiento Saludable (PIEI-ES), Universidad de Talca, Talca, CL.

La caries dental continúa siendo la enfermedad no transmisible más prevalente del ser humano. Además de la obvia relevancia impuesta por su alta prevalencia y por afectar la calidad de vida de las personas, es de interés revisar su naturaleza no infecciosa y los actuales conceptos relacionados con su etiopatogénesis, desde una perspectiva microbiológica. Por varias décadas, la enfermedad fue concebida como una infección causada por un único patógeno, el *Streptococcus mutans*, el que colonizaba tempranamente la boca de los niños, en muchas ocasiones transmitido directamente desde la madre al hijo. Si bien esta especie es altamente cariogénica, dadas sus capacidades metabólicas y enzimáticas para la producción de ácidos y de polisacáridos extracelulares, su rol en la enfermedad dista mucho de ser causal, en conformidad con las concepciones más contemporáneas. El advenimiento de la genómica y de la secuenciación de la microbiota oral han permitido una mejor comprensión de la complejidad del biofilm dental que coloniza el diente y sus tejidos anexos. En ese contexto, la caries dental se entiende como una disbiosis, en la que las bacterias normales del biofilm dental son alteradas en su equilibrio ecológico bajo condiciones de stress inducido por azúcares, lo que hace que se rompa la simbiosis del consorcio. Bajo estas condiciones disbióticas, se crean nuevas relaciones de competición y de colaboración en el biofilm que seleccionan bacterias con mayor potencial cariogénico o que crean condiciones para la producción de lesiones de caries. Así, la caries dental es entendida actualmente como una enfermedad caracterizada por un proceso de desmineralización de los tejidos duros del diente, causada por una frecuente exposición a carbohidratos fermentables sobre el biofilm dental, lo que torna el balance ecológico hacia una disbiosis polimicrobiana no infecciosa. La adecuada comprensión de la patología permitirá cambios paradigmáticos en el manejo clínico de la enfermedad.



SMP2.1

Detection of virus in berries. Importance of irrigation water and the human manipulation during the production

Verónica García^{1,2}, José Luis Palacios². ⁽¹⁾ Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Santiago de Chile. ⁽²⁾ Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Santiago de Chile.

Chile es un país productor y exportador de alimentos, por lo cual debe constantemente invertir en sistemas e aseguramiento de calidad, incluyendo estándares internacionales. En este sentido y debido a la importancia de los patógenos asociados a alimentos es que es necesario identificar los puntos y vectores de contaminación en la cadena productora con el fin de tomar medidas preventivas. En este trabajo, se realizó un levantamiento de información de la cadena productora de berries, usando frambuesa como modelo de estudio, con el fin de identificar los puntos de contaminación asociados a los virus entéricos Norovirus y Hepatitis A. Para esto se realizaron muestreos durante dos temporadas (2016-2017 y 2017-2018) en donde se analizó desde el campo productor hasta la empresa exportadora, como marcador de contaminación fecal se analizó la presencia de coliformes fecales en cada muestra. Se dividió la cadena productora en 3 etapas: precosecha, cosecha y post-cosecha. En cada una de ellas se tomaron muestras de fruta y los vectores asociados a estos virus entéricos: agua de riego, agua de aplicación, manipuladores, bandejas colectoras, bandejas de acopio, etc. Los resultados muestran la presencia de coliformes fecales en varias etapas del proceso, indicando que se requiere un mayor control, de los sistemas de limpieza y control microbiológico. Por otro lado, se observó una baja cantidad de muestras contaminadas con los virus analizados. Sin embargo, los detectamos antes de ser cosechada indicando que uno de los vectores más relevantes es el agua que está en contacto con la fruta. Estos resultados muestran que la cadena productora de frambuesa posee buenos estándares de inocuidad, pero que a la luz de nuevos requerimientos internacionales y la importancia de patógenos emergentes es necesario mejorar algunos puntos esenciales tales como un mayor control sobre el agua de aplicación que se utiliza en el campo.



SMP2.2

Norovirus y hepatitis A en aguas y alimentos asociados a brotes en Chile (2010-2017)

Viviana Cachicas¹. ⁽¹⁾ Microbiología de Alimentos, Departamento de Salud Ambiental, Instituto de Salud Pública de Chile.

El virus de hepatitis A (VHA) y Norovirus (NoV) son virus entéricos y pueden estar presentes en aguas y alimentos y causar enfermedad por transmisión vía oral-fecal. VHA es miembro de la familia Picornaviridae y NoV a Caliciviridae. Mientras NoV es responsable de casos esporádicos y brotes agudos de gastroenteritis, VHA causa infección hepática con periodos de incubación mayores lo que hace difícil relacionarla con un consumo de alimentos o agua. Estos virus entéricos han producido brotes masivos de enfermedad en Chile y han sido molecularmente caracterizados desde muestras ambientales desde el año 2010. En relación a NoV, la ciudad de Antofagasta sufrió un brote con 31.036 casos de gastroenteritis en dos meses. El brote se asoció a la falta de cloro disponible en las aguas tratadas utilizadas para riego de hortalizas. En el año 2013, la ciudad de Ovalle, registró un brote por NoV posterior a una fiesta costumbrista cercana al río Limarí. Se notificaron 4615 casos en 20 días. En la zona sur del país en la región del Biobío, desde el año 2013 se presentan tasas de HAV mayores que el resto del país y VHA ha sido detectado en moluscos bivalvos de la región. En estas tres historias epidemiológicas de brotes por virus entéricos, se ha podido detectar y cuantificar copias de los genomas por retro PCR en tiempo real desde muestras ambientales. Las muestras han sido concentradas por ultrafiltración y ultra centrifugación, lo que ha permitido su detección y contrastación con aislados clínicos del mismo periodo y lugar. El brote de Antofagasta fue causado principalmente por un genotipo de NoV filogenéticamente cercano a la variante de New Orleans y Ovalle por un genotipo más cercano a la variante Sydney. VHA es confirmado por serología o nexos epidemiológicos y por primera vez en el país, los aislados ambientales fueron detectados primero que los clínicos confirmando la presencia del genotipo IA. Estos estudios, han permitido analizar la similitud de los aislados ambientales con los clínicos, fortaleciendo la toma de decisiones y señalando la importancia de promover un permanente saneamiento ambiental.

Trabajos colaborativos entre Secretarías Regionales Ministeriales de Salud (Seremi), Instituto de Salud Pública (ISP) y Ministerio de Salud de Chile (MINSAL).



SMP2.3

Human enteric viruses in food: current trends and future challenges

Gloria Sánchez¹. ⁽¹⁾ Department of Preservation and Food Safety Technologies, IATA, CSIC.

Human enteric viruses, namely human noroviruses and hepatitis A virus, are primarily transmitted by the fecal–oral route, either by person-to-person contact, or by ingestion of contaminated food or water. Moreover, human enteric viruses significantly contribute to foodborne diseases being the most frequently detected causative agent of foodborne outbreaks in high-income countries. Foods may be contaminated by enteric viruses at any point from the farm to fork, and transmission can occur by consumption of food contaminated during the production process (primary production, or during further processing), or contaminated by infected food handlers. Foods of primary importance are bivalve mollusks, particularly, oysters, clams, and mussels; produce (soft fruits and leafy greens), and ready to eat meals. Despite advances in the development of techniques for enteric virus detection in foods, the environmental and food virology field still presents many difficulties at the analytical level. A significant amount of work is being done to address these issues, and latest developments and the application of these techniques in naturally contaminated samples will be presented.



SMP3.1

Cool tools for the genetic manipulation of Actinomycetes

Lorena Fernandez¹. ⁽¹⁾ Biology Department, Faculty of Arts and Sciences, Edge Hill University, Ormskirk, L39 4QP, U.K.

The search for new natural products is leading to the isolation of novel actinomycete species, many of which will ultimately require genetic analysis. Therefore, genetic manipulation of actinomycetes species is essential for the biotechnological industry. Some of these isolates are likely to exhibit low intrinsic frequencies of homologous recombination and fail to sporulate under laboratory conditions, exacerbating the construction of targeted gene deletions and replacements in genetically uncharacterised strains. To facilitate the genetic manipulation of such species, we have developed an efficient method to generate gene or gene cluster deletions in actinomycetes by homologous recombination that does not introduce any other changes to the targeted organism's genome. This method takes advantage of the yeast I-SceI homing endonuclease which produces double strand breaks at a unique introduced 18 base pair recognition sequence. Only those genomes that undergo homologous recombination survive, approximately half of which possess the desired mutant genotype. This provides a powerful selection tool for recombinants. The actinomycetes' optimised I-SceI system is broadly applicable across a wide range of actinomycetes. This and other genetic and bioinformatic tools allow actinomycete researchers across the globe to understand gene function and increase yield of compounds derived from any actinomycetes.



SMP3.2

Cold- and salt-adapted microorganisms as source for antibiofilm metabolites

Alexandre Macedo¹. ⁽¹⁾ Faculty of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Extreme environments always require from organisms adaptative metabolic pathways when compared to the homologues living in regular conditions. These pathways involve production of a series of compounds with a variety of activities to allow survival in this environment. Usually the chemistry of these molecules are peculiar and is considered an important source of innovative molecules for drug development. In this context, marine and Antarctic environment provides unique possibilities to discover new bioactives upon biofilm-forming pathogenic bacteria. Biofilms are structured bacterial communities embedded in a self-produced exopolymeric matrix. This lifestyle offers a protected mode of growth that allows survival in a hostile environment, capable to overcome host-immune responses and tolerate high concentrations of antibiotics. This ability challenges modern medicine and up to 80% of hospital-acquired infections are related to biofilms. In this opportunity, we will present results obtained by the action of metabolites from bacteria and fungi from cold and salt environments with the capacity to avoid biofilm formation of pathogens.



SMP3.3

Diversidad y función de microbiomas en ecosistemas de páramo

María Mercedes Zambrano¹. ⁽¹⁾ Molecular Genetics, Corporación Corpogen.

Los páramos, ecosistemas de alta montaña endémicos de los Andes americanos, se consideran estratégicos por su riqueza biológica y por su papel en el almacenamiento y regulación del agua. A pesar de los múltiples estudios sobre fauna y flora, estamos apenas comenzando a estudiar los microorganismos que habitan estos ambientes. Con el fin de conocer y acceder al potencial de las comunidades microbianas de páramo, analizamos microbiomas asociados a plantas y a líquenes. Se encontraron comunidades complejas asociadas con la filósfera de plantas endémicas y representantes cultivables que además contienen adaptaciones a las condiciones ambientales extremas de temperatura y UV características de alta montaña. En la rizósfera se encontró que las propiedades del suelo parecen ser determinantes para la estructura taxonómica de las comunidades en plantas endémicas. Finalmente, los líquenes mostraron asociación con diversos microorganismos, algunos de ellos pertenecientes a las Actinobacterias, un grupo importante para la producción de moléculas bioactivas relevantes para la salud.



SMP4.1

Antigenic flexibility of influenza virus

Daniel Pérez¹. ⁽¹⁾ Department of Poultry Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Georgia, Athens, US.

The hemagglutinin (HA), a glycoprotein on the surface of influenza A virus (IAV), initiates the virus life cycle by binding to terminal sialic acid (SA) residues on host cells. The HA protein gradually accumulates amino acid (aa) substitutions that allow IAV to escape population immunity through a mechanism known as antigenic drift. We recently confirmed that a small set of aa residues are largely responsible for driving antigenic drift in swine-origin H3 IAV. All identified residues are located adjacent to the HA receptor binding site (RBS), suggesting that substitutions associated with antigenic drift may also influence receptor binding. To determine whether there are functional constraints to substitutions near the RBS and their impact on receptor binding and antigenic properties, we carried out site-directed mutagenesis experiments at the single aa level using a swine-origin H3N2 virus backbone. We generated a panel of HA mutant viruses carrying substitutions at residue 145 (H3 numbering) representing all 20 amino acids. Despite limited amino acid usage in nature, most substitutions at residue 145 were well tolerated and stably maintained without major impact on virus replication in vitro. All substitutions retained receptor binding specificity, but frequently led to decreased receptor binding. Glycan microarray analysis showed that substitutions at residue 145 modulate binding to a broad range of glycans. Furthermore, antigenic characterization identified specific substitutions at residue 145 that altered antibody recognition. This work provides a better understanding of the functional effects of aa substitutions near the RBS and the interplay between receptor binding and antigenic drift.

Presentation funded by Anillo PIA ACT 1408 from CONICYT.



SMP4.2

Pandemic influenza vaccines

Kanta Subbarao^{1,2,3}. ⁽¹⁾ WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza, AU. ⁽²⁾ Department of Microbiology and Immunology, University of Melbourne, Melbourne, AU. ⁽³⁾ The Peter Doherty Institute for Infection and Immunity, AU.

The epidemiologic success of influenza viruses that cause annual epidemics and sporadic pandemics, results from the remarkable ability of the virus to change through antigenic drift and shift. An influenza pandemic occurs when an influenza virus with a novel haemagglutinin subtype appears and spreads in the human population, which has little or no immunity to the novel haemagglutinin. The diversity and antigenic change in influenza viruses create a challenge for prevention and treatment. Therefore, influenza viruses are monitored continuously by a global influenza surveillance system. Vaccination is the most effective method for prevention and control of influenza. Conventional approaches to develop pandemic influenza vaccines that provide strain-specific immunity have been actively explored for the past decade. However, a vaccine that induces broadly cross-protective immunity or a universal influenza vaccine could provide protection against seasonal influenza as well as pandemic strains. Several strategies to develop broadly cross-reactive or universal influenza vaccines are being actively explored. Combining different vaccine platforms and the inclusion of adjuvants increase the breadth of the immune response. The lead candidates for universal vaccines target the conserved stalk of the influenza haemagglutinin. Antiviral drugs that inhibit the viral neuraminidase are the mainstay of treatment. However, the need for improvement is well recognized and monoclonal antibodies directed at conserved epitopes on the haemagglutinin show promise as adjuncts to antiviral drugs. Preclinical and clinical advances will be discussed.

Presentation funded by Anillo PIA ACT 1408 from CONICYT.



SMP4.3

Towards a universal influenza virus vaccine: chimeric and mosaic hemagglutinin-based approaches

Peter Palese^{1,2}. ⁽¹⁾ Department of Medicine, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, US. ⁽²⁾ Department of Microbiology, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, US.

Despite FDA-approved vaccines and antivirals, seasonal and pandemic influenza remain serious threats associated with substantial morbidity and mortality. While annual seasonal influenza virus vaccination is frequently effective – albeit underutilized in most countries – a safe universal influenza virus vaccine providing broad and long-lasting immunity would represent a major breakthrough. We have developed vaccine constructs, which express hemagglutinins resulting in the redirection of the immune response away from the immunodominant (variable) epitopes of the hemagglutinin towards conserved domains of the hemagglutinin and the highly conserved neuraminidase. Such vaccine constructs work well in animal challenge models and are currently tested in clinical trials in humans. The mechanism by which these novel vaccines mediate protection is via antibodies, which do not rely on hemagglutination inhibitory (HI) activity but rather on ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity) effects, by activation of complement and/or inhibition of virus replication through direct binding to viral proteins. It is hoped that the universal influenza virus vaccine based on novel hemagglutinin constructs will provide long-lasting protection against all seasonal and pandemic influenza virus strains in the future.

Presentation funded by Anillo PIA ACT 1408 from CONICYT.



SMP5.1

Proteomic exploration of the interferon-induced human protein interaction network

Leonard Foster¹. ⁽¹⁾ Biochemistry & Molecular Biology, Medicine, University of British Columbia.

Over the course of evolution humans have subsisted in a molecular arms race with viruses, leading to the evolution of numerous mechanisms in which to combat or restrict infection. These mechanisms are governed by host signalling pathways and, predominantly, the interferon response – an ancient pathway conserved throughout vertebrae. Type I Interferons (IFNs), including IFN- α and IFN- β (among others), are secreted from infected cells and have three major functions: (1) induction of hundreds of interferon-stimulated genes, or ISGs, which act to establish a cell-intrinsic antiviral state, (2) modulation of innate immune responses that promote antigen presentation and natural killer cell function, while restraining cytokine and pro-inflammatory pathways, and (3) activation of the adaptive immune response. It has become clear that the Type I IFN system induces and is regulated by a complex network of proteins that are not solely dedicated to restricting viral replication. Basal levels of Type I IFN production are maintained by commensal microbiota under physiological conditions and chronic IFN signalling has been linked to numerous autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis. Thus, it is vital to parse out the IFN-regulated network to fully understand the role of these cytokines in mammalian homeostasis. To begin understanding how Type I IFN signalling network establish a cellular anti-viral state and its potential role in disease, we first utilized quantitative shotgun proteomics to examine the global protein abundance changes that occur after IFN- β stimulation. Secondly, we employed protein correlation profiling (PCP) in tandem with stable isotope labeling of amino acids in cell culture (SILAC) to map the protein-protein interaction network of IFN- β -stimulated cells. This study demonstrates that there are major alterations in the cellular proteome following IFN- β stimulation that do not coincide with previously reported rates of mRNA transcription. As well, we find that key interactions are formed between “core” ISGs evolutionarily conserved across vertebrates. Finally, we also show that ribosomal composition is altered under IFN- β stimulation which may lead to a specialized translational program.

Canadian Institutes of Health Research.

SMP5.2

Papel de la proteómica en el estudio de la virulencia de *Trypanosoma cruzi*

Jorge González¹, Juan San Francisco². ⁽¹⁾ Tecnología Médica, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL.

Trypanosoma cruzi el agente causal de la enfermedad de Chagas, depende de la expresión de diferentes factores de virulencia para invadir y proliferar en el huésped. Algunos de ellos ya han sido descritos, mientras que otros esperan a ser descubiertos. Este estudio, compara el proteoma de dos líneas celulares (LC) provenientes de un único clon, donde durante 30 años una LC denominada **C8C3hvir**, fue mantenida mediante pasajes de ratón en ratón (Balb/c), desarrollando una alta virulencia, mientras que la otra LC, denominada **C8C3lvir**, fue mantenida en cultivo axénico, durante idéntico periodo de tiempo, donde su virulencia resultó atenuada. Inicialmente, se realizó una tipificación de ambas LC para confirmar su origen común, realizándose curvas de parasitemia para demostrar que **C8C3hvir** tenía una mayor capacidad infectiva. Del mismo modo, se realizaron ensayos de invasión *in vitro* y se evaluó mediante Western blot la expresión de diferentes factores de virulencia (FV) como cruzipaína, transialidasa y peroxirredoxina. Finalmente, los extractos proteicos de **C8C3hvir** y **C8C3lvir** fueron sometidos a un análisis para comparar los perfiles de expresión de sus proteínas mediante etiqueta de dimetilación y posterior análisis LC-MS/MS utilizando un Impact II. La tipificación mostró un 100% de identidad entre ambas LC. La curva de parasitemia indicó que **C8C3hvir** infectó a ratones, que en su mayoría murieron al día 23 post infección. Por otro lado, **C8C3lvir** mostró parasitemias subpatentes. Los ensayos de invasión mostraron que **C8C3hvir** infectó entre 3 a 5 veces más que **C8C3lvir**. Los análisis de Western blots de los FV estudiados, mostraron una mayor expresión en **C8C3hvir**. El análisis mediante LC-MS/MS, mostró un total de 598 proteínas, de las cuales 139 mostraron una expresión diferencial en **C8C3hvir** respecto de **C8C3lvir**. Dentro de las proteínas que mostraron mayor expresión diferencial destacaron la Aspartato amino transferasa, que mostró una expresión diferencial de 16 veces mientras que Tc24 mostró estar 13 veces más expresadas en **C8C3hvir** respecto de **C8C3lvir**. De igual manera, la proteína Histona 4 mostró estar 11 veces más expresada. El análisis GO mostró los diferentes enriquecimientos funcionales. Se concluye que la línea celular **C8C3hvir** expresa diferencialmente proteínas respecto de la línea **C8C3lvir**.

Financiamiento: Proyecto Semillero SEM 17-2, Universidad de Antofagasta (J.G).



SMP5.3

Global proteomic profiling for comparing virulence traits of *Salmonella* Typhimurium in different surrogate host models

Macarena A. Varas¹, Javiera Ortíz-Severín¹, Miguel L. Allende², Carlos A. Santiviago³, Francisco P. Chávez¹.

⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Centro de Regulación del Genoma (CRG), Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Bacterial infections are characterized by a continual interplay with their hosts, where the pathogen exploits an array of host cell functions and the host respond with appropriate immune responses. Host–pathogen interactions are complex and usually analyzed through reductionist approaches, focusing mainly in one aspect of the interaction. Thus, a major challenge in studying human infectious diseases is to understand in a more holistic way how both pathogen and host-related factors interplay and contribute to disease development. Key features of host–pathogen interactions have been discovered using classical mammalian models *in vivo* and *in vitro*. Additionally, alternative model hosts such as the nematode *Caenorhabditis elegans*, the social amoeba *Dictyostelium discoideum*, and the zebrafish *Danio rerio* have also been successfully employed for studying these processes. Although numerous proteomic studies using *in vitro* infection assays have been performed, *in vivo* proteomic approaches are still rare. Here, we compared the global proteomic profile during the infection of *Salmonella* Typhimurium and an attenuated mutant unable to synthesize inorganic polyphosphates (polyP) in three different host models (amoeba, zebrafish and murine macrophages). Our results indicated that polyP biosynthesis is required for virulence and intracellular survival of *S. Typhimurium* in all these three host models. On the other hand, the analysis of host proteins related to endocytic pathway, immune response, cell death, cytoskeleton dynamics, and developmental process revealed contrasting mechanisms and metabolic pathways between attenuated and wild type and between different host models. In addition, we have validated the use of global proteomic analyses to gain insights into the interaction of *S. Typhimurium* with different host models, and to identify mechanisms of the infective process that are conserved among phylogenetically distant hosts. Thus, our work demonstrates that unbiased high-throughput proteomics can be used as a powerful approach to provide new perspectives on host–pathogen interactions.

Supported by CONICYT fellowship 21120431, FONDECYT grants 1120209, 1140754, and 1171844.



SMP6.1

Microbiología de los alimentos en Chile: genómica aplicada y vigilancia de resistencia antimicrobiana como herramientas para asegurar la inocuidad de los alimentos

Magaly Toro¹, Angélica Reyes-Jara¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile.

La utilización de herramientas genómicas para caracterizar patógenos transmitidos por los alimentos en Chile es de uso relativamente reciente. Varios grupos de investigación utilizan esta técnica y sus ventajas para estudiar *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* y *E. coli* productora de Shiga toxinas, entre otros. Estas técnicas permiten un nivel de discriminación máximo entre los aislados e incluso podrían ayudar a la atribución de las fuentes de brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos. Sin embargo, existen barreras para su aplicación en el país como por ejemplo disponer de una capacidad computacional para el análisis e interpretación de la gran cantidad de datos obtenidos. Por otro lado, la diseminación de resistencia antibiótica ha llevado a la investigación del origen de estas bacterias, y no es sorprendente que los alimentos sean vehículo de transmisión de bacterias resistentes debido a la utilización de antibióticos a nivel de producción primaria. La resistencia a agentes antimicrobianos es un problema global y que debe ser abordado integralmente considerando que es necesario disponer de información útil para preservar la efectividad de los antibióticos. Existen varios grupos de investigación realizando esfuerzos en esta área, sin embargo, aún no se ha logrado establecer un sistema coordinado de vigilancia aunque los esfuerzos tienden a ir en esa dirección. En esta charla se pretende responder la pregunta ¿Dónde está y hacia dónde va Chile con respecto a estas tendencias de vanguardia en microbiología aplicada de los alimentos? En esta charla se expondrán los avances nacionales en ambos temas, contextualizando con los avances a nivel internacional y latinoamericano.

FONDECYT 11150491.



SMP6.2

Monitoring antimicrobial resistance of foodborne pathogens in retail meats: NARMS at the FDA

Shaohua Zhao¹. ⁽¹⁾CVM, Research Microbiologist, US FDA, Laurel, US.

The US National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) is an inter-agency program of the United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Food and Drug Administration (FDA), Department of Agriculture (USDA), and state and local health departments. NARMS uses an integrated “One Health” approach to monitor antimicrobial resistance in enteric bacteria isolated from humans, retail meat, and food animals in the United States. The NARMS retail meat program was launched in 2002 with initial five laboratories involved in the program. Over the years, the program has been made significant improvements. Currently there are 20 laboratories participating in the retail meat program and collecting over 19,200 meat samples (chicken, ground turkey, pork chop and ground beef) each year from areas that cover all four US census regions and representing 9.4% of the US population. The prevalence and antimicrobial resistance results of *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* and *Enterococcus* from each meat type have been monitored over the years. NARMS epidemiologists and microbiologists use advanced technologies to conduct applied research to characterize antimicrobial resistance and genetic mechanisms underlying resistance; understand the dynamics of movement of antimicrobial resistance genes in different bacterial populations among humans, food, and food animals; and investigate the sources of antimicrobial resistant bacterial infections. NARMS surveillance data, research studies, and characterization of outbreak isolates are essential for implementing and evaluating the impact of science-based regulatory actions, policies, educational initiatives, and other public health efforts aimed at mitigating resistance and preventing antimicrobial resistant infections.

U.S. Food and Drug Administration, Center for Veterinary Medicine.



SMP6.3

GenomeTrakr database and network: WGS network for real-time characterization and source tracking of foodborne pathogens

Marc Allard¹, Ruth Timme¹, Maria Sanchez¹, Eric Stevens¹, Maria Hoffmann¹, Kuan Yao¹, George Kastanis¹, Daniella Miller¹, Tim Muruvanda¹, Sara Lomonaco¹, Errol Strain¹, Justin Payne¹, Arthur Pightling¹, Hugh Rand¹, James Pettengill¹, Yan Luo¹, Narjol Gonzalez-Escalona¹, David Melka¹, Phillip Curry¹, Yi Chen¹, Sandra Tallent¹, Eric Brown¹.

⁽¹⁾ Microbiology, Subtyping Branch, US FDA.

A national database of federal, state, academic and international laboratories has been using WGS data to rapidly characterize pathogens. This GenomeTrakr network is part of NCBI Pathogen Detection web site. Public health agencies (FDA, CDC and USDA-FSIS) collect and share data in real time. This high-resolution, rapidly growing database is actively being used in outbreak investigations at state, national, and international levels. GenomeTrakr database has demonstrated how a distributed network of desktop WGS sequencers can be used in concert with traditional epidemiology and investigation for source tracking of foodborne pathogens. This “open data” model allows greater transparency between federal/state agencies, industry partners, academia, and international collaborators. This database has continued to grow and diversify the foodborne pathogen database doubling in the last year to ~300,000 draft genomes with a projected growth of over 1,000,000 draft genomes by 2020. Two new international surveillance efforts were added to collect food, animal and environmental isolates including *Campylobacter* and *Listeria* in Africa. NCBI has release new data analysis tools that improve rapid interpretation. NCBI, currently is producing daily clustering results for 22 bacterial pathogens including: *Salmonella*, *Listeria*, *E. coli* and *Campylobacter*. The high-resolution WGS signal in concert with epidemiological and inspection evidence has drastically enhanced our ability to identify the food sources of current outbreaks for foodborne pathogens with ~200 regulatory clusters examined in 2018. Results demonstrate global benefits of having an open data model. Understanding root causes of foodborne contamination assists our academic, public health and industry partners to develop preventative controls to make food safer globally.

CFSAN, FDA.

SMP7.1

Genética de la respuesta de levaduras a concentraciones limitantes de nitrógeno en fermentaciones vínicas

Claudio Martínez^{1,3}, Alvaro Díaz-Barrera², Eduardo Kessi-Pérez³, Belen Ponce², Marco Gaete³, Francisco Salinas^{3,4}.

⁽¹⁾ Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile.

⁽²⁾ Escuela de Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽³⁾ Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CECTA), Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Millennium Institute for Integrative Systems and Synthetic Biology (MISSB), CL.

Saccharomyces cerevisiae es un microorganismo de amplio uso en investigación y en procesos productivos gracias a su diversidad fenotípica y genética. En la industria del vino, es la levadura responsable de la fermentación alcohólica contribuyendo no solo a la producción de alcohol, sino también a los sabores y aromas que caracterizan el producto final. Su capacidad de adaptación a diferentes ambientes le permite desarrollarse bajo las condiciones estresantes que supone el mosto de uva y su fermentación, caracterizado por bajos niveles de pH, alta presión osmótica, altos niveles de anhídrido sulfuroso y alcohol, así como limitados niveles de fuentes nitrogenadas necesarias para su desarrollo. Es esta última carencia la causante de importantes problemas para la industria, generalmente conocidas como paradas o enlentecimientos de fermentación. Se conoce que cepas de *S. cerevisiae* presentan diferencias en sus perfiles de consumo de fuentes nitrogenadas pero los mecanismos de estas diferencias son poco conocidos. Por ello, para identificar genes y alelos asociados a este proceso, particularmente aquellos vinculados a la adaptación a situaciones limitantes en nitrógeno, se establecieron las condiciones experimentales para realizar fermentaciones continuas imitando condiciones de fermentación vínica. Haciendo uso de una población de 10-100 millones de cepas altamente recombinantes (F12) obtenida a partir de cuatro cepas de distinto origen y que representan cerca del 75% de la variabilidad genética y fenotípica en esta especie. Se diseñó y aplicó un protocolo que permitiera evidenciar cambios en la población de levaduras producto de la fermentación bajo condiciones limitantes en nitrógeno. Análisis transcriptómicos comparativos de fermentaciones durante 46 hrs permitieron identificar genes diferencialmente expresados y los alelos involucrados, así como también diferencias de frecuencia alélica entre las fases de inicio y final de la fermentación. Los resultados indican que bajo condiciones limitantes de nitrógeno se sobreexpresan genes asociados a nitrógeno como DAL4, GAP1, PUT1 y VBA1. El análisis a nivel del origen de los alelos sobreexpresados indica que estos provienen mayoritariamente de levaduras no asociadas a ambientes vínicos, lo que nos permite concluir que en ambientes silvestres existe un alto potencial de variantes génicas que permitan un mejoramiento genético de levaduras para uso industrial.

Financiado por Fondecyt 1150522.



SMP7.2

A new optogenetic switch for yeasts biotechnology and functional genomics

Francisco Salinas^{1,2}, David Figueroa^{1,2}, Camila Bastías^{1,2}, Eduardo I. Kessi-Perez^{2,3}, Vicente Rojas^{1,4}, Verónica Delgado^{1,4}, Claudio Martínez^{2,3}, Luis F. Larrondo^{1,4}. ⁽¹⁾ Millennium Institute for Integrative Systems and Synthetic Biology (MISSB), Santiago, Chile, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CECTA), Universidad de Santiago De Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

Optogenetic switches permit accurate control of gene expression upon light stimulation. These synthetic switches have become a powerful tool for gene regulation, allowing the modulation of phenotypes, overcoming the obstacles of chemical inducers and replacing their use by light. Recently, we developed a new optogenetic switch in yeast named FUN-LOV, which is based on the LOV domains interaction of two blue-light photoreceptors (WC-1 and VVD) from the fungus *Neurospora crassa*. The FUN-LOV system allowed light-controlled gene expression of the luciferase reporter with a broad dynamic range of over 1300-fold. We also tested the FUN-LOV for the control of two biotechnologically relevant phenotypes in yeast: heterologous protein expression and flocculation. Beyond that, we used FUN-LOV for functional characterization of genes acquired by Horizontal Gene Transfer (HGT) from distant yeast species. In three different wild yeast strains carrying independent HGT events, we used FUN-LOV to overexpress or repress these genes under light or darkness conditions, respectively. The results showed that depending on the growth condition utilized, the light-induced overexpression of horizontally acquired genes can increase or reduce yeast adaptation (fitness), as measured through growth parameters (lag time, growth rate and efficiency). Similarly, the darkness-activated repression of horizontally acquired genes showed a decrease in yeast fitness, which was also depending on the growth condition assayed. Altogether, the results revealed the potential of the FUN-LOV optogenetic switch to control biotechnologically relevant phenotypes, and additionally, showed FUN-LOV capacity to be used as tool for functional analysis of horizontally acquired genes in yeast. Importantly, FUN-LOV's ability to accurately manipulate gene expression, with a high-temporal dynamic range, can be exploited in the analysis of diverse biological processes in different biological platforms.

FONDECYT 11170158 and MISSB.



SMP7.3

Mecanismos moleculares de adaptación de las levaduras vínicas a las condiciones de fermentación: estrategias de mejora genética

José Manuel Guillamón¹, Estéfani García-Rios¹, Amparo Querol¹. ⁽¹⁾ Biotecnología de Alimentos, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

Las levaduras vínicas, responsables de los procesos fermentativos, son organismos muy especializados que han evolucionado bajo restrictivas condiciones ambientales en distintos ambientes manipulados por el hombre. Nuestro grupo está interesado en comprender los mecanismos implicados en su adaptación, que han modelado el genoma de las levaduras vínicas, confiriéndoles propiedades de interés biotecnológico. Se utilizan distintas aproximaciones “ómicas” y el análisis evolutivo para entender los mecanismos de adaptación a cambios ambientales y nutricionales (temperatura, disponibilidad de nitrógeno, tolerancia al etanol, etc.) de levaduras de interés industrial. Un objetivo global de nuestro laboratorio es poder relacionar las características genómicas de las diferentes cepas de levaduras con las características fenotípicas de interés industrial. Así hemos descubierto genes o regiones genómicas (QTLs) implicadas directamente en características de gran interés industrial para la industria del vino como la adaptación a la baja temperatura, una mejor utilización de los nutrientes y la tolerancia al SO₂, principal antimicrobiano de uso en Enología. Este conocimiento de las bases moleculares responsables de las características fenotípicas de las cepas de levaduras nos está permitiendo llevar a cabo modificaciones genéticas dirigidas para mejorar los procesos fermentativos. Con el fin de facilitar la transferencia de estas cepas mejoradas a la industria, estamos empleando técnicas de modificación genética que no son consideradas GMOs, tales como la evolución adaptativa y la hibridación intra e interespecífica. Actualmente ya disponemos de varias cepas mejoradas frente a diferentes características, que se encuentran en fase de evaluación para su posible comercialización. En definitiva, esta investigación básica, que amplía nuestro conocimiento sobre las características genómicas de levaduras industriales, es aplicable a la selección y mejora genética de estas cepas y su uso en diferentes procesos fermentativos (vino, cerveza, sidra, etc.).

Este trabajo ha sido financiado a través del proyecto europeo ERA-IB “Tailoring thermotolerant yeasts for more sustainable, eco-efficient and competitive industrial fermentations (YeasTempTation; PCIN-2015-143)”.



SMP8.1

Environmental control of astrocyte pathogenic activities during CNS inflammation

Francisco Quintana¹. ⁽¹⁾ Brigham and Women's Hospital, Dept of Neurology, Medicine, Harvard Medical School and Broad Institute of Harvard and MIT.

Astrocytes play important roles in the central nervous system (CNS) during health and disease. Thus, the identification of factors that regulate astrocyte activity may shed light on CNS physiology and guide new therapies for human neurologic disorders. In this class we will discuss mechanisms used by astrocytes to control CNS inflammation. In addition, we will discuss molecular pathways involved in the control of astrocyte function. For example, we recently found that microbial metabolites limit astrocyte pathogenic activities in the context of CNS inflammation. Specifically, metabolites of dietary tryptophan activate aryl hydrocarbon receptor (AHR) signaling in astrocytes to limit CNS inflammation and neurodegeneration. In addition, these metabolites also activate AHR on microglia to limit their intrinsic pathogenic activities and to modulate their ability to modulate astrocytic responses via the secretion of TGF- α and VEGF-B. Microglia-derived TGF- α acts via ErbB1 in astrocytes to limit their pathogenic activities and EAE development. Conversely, microglial VEGF-B triggers FLT-1 signaling in astrocytes and worsens EAE. VEGF-B and TGF- α also participate in the microglial control of human astrocytes. In summary, we identified novel positive and negative regulators that mediate the microglial control of astrocytes. Moreover, these findings define a novel gut/brain pathway through which microbial metabolites limit pathogenic activities in microglia and astrocytes, suppressing CNS inflammation. This pathway may guide new therapies for MS and other neurologic disorders.

NIH, NMSS, ACS, IPMSA.



SMP8.2

Dual role of Interferon-gamma in experimental and human multiple sclerosis

Rodrigo Naves¹. ⁽¹⁾ Immunology, Medicine, Universidad de Chile, Santiago, CL.

The role of interferon-gamma (IFN-g) in multiple sclerosis (MS) and its animal model, experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), has remained as an enigmatic paradox for over 30 years. Several studies attribute this cytokine a pro-inflammatory function in these pathologies, whereas accumulative evidence shows that IFN-g also plays a protective role. Our results have revealed the dual role of IFN-g in EAE providing an explanation for these controversial results and a model whereby this cytokine can both promote and limit the EAE development. We found that mice lacking IFN-g receptor exhibited delayed disease onset followed by a more severe chronic phase, compared with wild-type mice. Consistently, the systemic administration of IFN-g to EAE-induced mice during the inductive period led to disease exacerbation, while this treatment was protective during the acute and chronic effector phase. Spinal cords from IFN-g-treated EAE mice exhibited lower CNS inflammatory cell infiltration and demyelination, lower frequency of activated macrophages/microglia (Mo/MG) and a higher frequency of regulatory T (Treg) cells than SC from control EAE mice. The conditional depletion of FoxP3+ Treg cells confirmed that suppressive activity of IFN-g depends on functional Treg cells. Using neutralizing monoclonal antibodies, we have also determined that *in vivo* protective effects of IFN-g were dependent on TGF- β and the inhibitory receptor Programmed Cell Death (PD)-1, which were mainly expressed on peripheral (spleen and lymph nodes) CD11b+ cells. Gene expression analysis of a microglia subset isolated from IFN-g-treated EAE mice showed that IFN-g induced a shift to an anti-inflammatory expression profile. Interestingly, peripheral CD11b+ cells and CNS Mo/MG obtained from EAE mice and *ex vivo* stimulated with IFN-g induced an enhanced conversion of CD4+ T cells into Treg cells, compared with unstimulated cells. Our study of a cohort of MS patients revealed that plasma level of IFN-g might represent a valuable marker in predicting the transition to specific MS stages and that the ratio between IFN-g and IL-17 might be useful biomarkers for predicting immunomodulatory therapy effectiveness in RRMS patients.



SMP8.3

Dopamine-driven inflammation in the gut and the brain

Rodrigo Pacheco^{1,2}, Francisco Contreras², Hugo González², Daniela Elgueta², Carolina Prado², Valentina Ugalde².

⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello. ⁽²⁾ Laboratorio de Neuroinmunología, Fundación Ciencia & Vida, Santiago, CL.

During last 15 years dopamine has emerged as a major regulator of inflammation. All five dopamine receptors (DRs, DRD1-DRD5) have been found to be expressed in immune cells where they exert a complex regulation of immunity. The outcome of the dopamine effect in the immune response depends in many factors, including differential expression of DRs in the immune cells present in the inflamed tissue, the local levels of dopamine and the signalling coupled to and the affinity of the different DRs involved. It is noteworthy that tissues containing high-levels of dopamine in steady-state, such as the nigrostriatal pathway or the gut mucosa, undergo a strong decrease of dopamine levels during inflammation. Our results have shown that DRD3, which display the highest affinity by dopamine, is strongly involved in favouring inflammation in several experimental systems. In this regard, genetic and pharmacological evidence has indicated that DRD3-signalling constitutes a potent regulator of CD4+T-cell-mediated responses, including those implicated in Parkinson's disease and inflammatory colitis, two pathologies that involve a reduction of dopamine levels in the inflamed tissue. Mechanistic analyses have revealed that DRD3-signalling in CD4+T-cells induces suppressor of cytokine signalling 5 in these cells, thus attenuating T-helper 2 (Th2) differentiation and promoting Th1 responses. Moreover, evidence has also indicated that DRD3-signalling favours Th17-immunity under chronic inflammatory conditions. According to the pivotal role of Th1 and Th17 inflammatory responses in the development of Parkinson's disease, we have recently demonstrated the therapeutic potential of DRD3-antagonism in two different animal models, including 6-hydroxydopamine-induced and 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced Parkinson's disease. In those studies, DRD3-antagonism not only reduced the neurodegenerative and neuroinflammatory process, but also attenuated significantly the motor impairment associated to the loss of dopaminergic neurons. Thus, emerging evidence indicates DRD3-inhibition attenuates inflammation in pathologies associated to reduction of dopamine levels and CD4+T-cell-mediated responses.

This work was supported by grants 15076 from Michael J. Fox Foundation for Parkinson Research, 1170093 from FONDECYT and AFB-170004 from CONICYT.



SMP8.4

The neuroimmune role of mast cell in B cell lymphoma-3 expression in the Irritable Bowel Syndrome

Caroll Jenny Beltran¹. ⁽¹⁾ Laboratory of Immunogastroenterology, Gastroenterology Service, Medicine Department, Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

The functional digestive disorders belong a group of conditions characterized by an alteration of the bidirectional communication of gut-brain axis, which affects the interaction between the nervous and intestinal immune system. Among them, is highlighting the irritable bowel syndrome as the most prevalent. In spite of its pathophysiological mechanisms are not clearly defined, it has been demonstrated that the intestinal mast-cell activity is increased in these patients, which has been linked to an augmented intestinal motility and with the degree of pain, due to a reciprocal activation with enteric sensory nerve endings. At the same time, an increased mucosal mast-cell tryptase in IBS patients is also associated to high intestinal permeability, which is mediated by Protease-Activated Receptor 2 (PAR2) pathway activation. On the other hand, an increased expression of Bcl-3 (B cell lymphoma-3), a co-transcriptional regulator of NF- κ B target genes, has been observed in intestinal epithelia of IBS patients. Moreover, Bcl3 has been implicated in LPS-tolerance as well as immunosuppression by IL-10, in macrophages. The role of Bcl-3 in IBS pathophysiology is unknown, as well as the participation of mast cell in its induction, in response to nerve stimulation. This talk is directed to show the recent findings of our lab. about the mast cell role in Bcl-3 modulation at intestinal mucosa in IBS.

FONDECYT 1181699. OAIC HCUCH n° 863/17; 843/16; 680/14.



SMP9.1

Colonization and virulence potential of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*

Yunn Hwen Gan¹. ⁽¹⁾ Department of Biochemistry, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore.

Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* is an emerging cause of community-acquired pyogenic liver abscess in parts of Asia such as South Korea, Singapore, Taiwan and Hong Kong. The bacteria are believed to translocate from the intestines to the liver. However, factors that predispose and facilitate the colonisation in the gut are not clearly understood. We examined prospectively the profiles of 70 *Klebsiella* induced liver abscess (KLA) patients together with their isolates' genotypic and phenotypic characteristics in ethnically diverse Singapore. The majority of isolates belonged to capsule type K1, which carried higher frequencies of virulence-associated genes such as iron acquisition siderophores. The Chinese, mostly non-diabetic, had higher prevalence of K1 infection than the predominantly diabetic non-Chinese. Diabetes is only a significant risk factor in the Malays who were infected mostly with nonK1/K2 and K5 capsule types. We found that plasma soluble TNF receptors and NETs biomarkers are stable indicators of KLA infection, and type 2 diabetes does not overtly impact neutrophil killing but influences cytokine production by peripheral blood mononuclear cells during KLA. We have established an oral infection mouse model to examine the requisites of gut colonization, and how antibiotics and microbiome variation affect the process. We have successfully created gene deletion mutants in capsule and fucose transporter to allow us to examine the role of capsule and nutritional capabilities of the hypervirulent K1 isolate necessary for efficient gut colonization. I will discuss our progress in examining the role of the large virulence plasmid carried by the hypervirulent K1 isolates in colonization and virulence. The presence of this virulence plasmid largely distinguishes hypervirulent strains from more classical *Klebsiella* isolates traditionally known more as opportunistic pathogens. Finally, we have also examined the kinetics of bacterial spread and the interaction of immune cells during oral infection in mice. We found that macrophages, particularly Kupffer cells in the liver play a crucial role in the control of the infection.



SMP9.2

The impact of genomic islands on *Klebsiella pneumoniae* virulence and evolution

Andrés E. Marcoleta¹, Camilo Berríos-Pastén¹, Rosalba Lagos². ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Biología, Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

The comparative analysis of an increasing number of genomes revealed that the impact of horizontal gene transfer (HGT) on bacterial evolution has been largely underestimated. Currently, it is recognized as a main force directing the arising of new strains with further metabolic capabilities. This is also true for pathogenic bacteria, where a large set of virulence-related genes are encoded in mobile elements that can be acquired through HGT. Among them, Genomic Islands (GIs) were proposed as relevant actors in the genome evolution of clinically relevant members of *Enterobacteriaceae*. GIs are mobile DNA segments (up to 200 kbp) that integrate preferentially into genes coding for transfer RNAs (tDNAs). Using the emerging pathogen *Klebsiella pneumoniae* as a model, we study different genetic and molecular aspects of the GIs found in this species, their impact over *K. pneumoniae* virulence and evolution, and the factors determining the usage of tDNAs as GIs integration sites.

FONDECYT 3140496, INACH RT_51-16, CONICYT REDI170480.



SMP9.3

Population genomic insights into the evolution of multi-drug resistant and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*

Kelly Wyres¹. ⁽¹⁾ Department of Biochemistry and Molecular Biology, Bio21 Molecular Science and Biotechnology Institute, University of Melbourne, Melbourne, AU.

Klebsiella pneumoniae (*Kp*) is an infamous cause of multi-drug resistant (MDR) healthcare-associated infections but in recent decades it has also emerged as an important cause of highly invasive community-acquired disease. Population genomic analyses have provided a framework to understand *Kp* epidemiology and evolution, and have shown that the *Kp* population is extremely diverse, comprising hundreds of distinct lineages or 'clones'. MDR has evolved within many diverse clones but the majority of hospital outbreaks are caused by a small subset that have high prevalence of acquired antimicrobial resistance (AMR) genes. Conversely, the majority of community-acquired *Kp* infections are caused by a subset of 'hypervirulent' clones that rarely harbour acquired AMR genes, are associated with the highly serum resistant polysaccharide capsule types K1 or K2 and high prevalence of key virulence loci. We have explored the population diversity and horizontal transfer dynamics of these virulence loci and developed typing schemes that can be used to track their spread. While MDR and hypervirulence are usually mutually exclusive, there are increasing reports of convergent, hypervirulent-MDR strains – a potentially disastrous combination that has been known to cause fatalities. To better understand this phenomenon we leveraged the *Kp* genomic framework and our typing tools to perform a comparative analysis of MDR and hypervirulent clones. We found that MDR clones harbor extensive gene content diversity due to the frequent acquisition of diverse plasmids. Chromosomal recombination also appears to be common in MDR clones, resulting in extensive capsule locus diversity and suggesting the capsule is subject to some sort of diversifying selective pressure. In contrast, the hypervirulent clones harbor limited plasmid diversity and rarely undergo chromosomal recombination, suggesting some sort of limitation for DNA uptake. We therefore predict that acquisition of virulence loci by MDR clones poses a greater risk for convergence than acquisition of AMR genes by hypervirulent clones. In combination with the increasing reports of convergent strains, our data support a need for comprehensive genomic surveillance reporting *Kp* clone, AMR and virulence locus information.

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Bio21 Molecular Science and Biotechnology Institute, University of Melbourne, Australia.



SMP10.1

***Salmonella*: from serotypes, contamination sources to food control**

Andrea Isabel Moreno¹. ⁽¹⁾ Escuela de Medicina Veterinaria, Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello.

Salmonella is an important foodborne pathogen that causes an estimated of 93.8 million cases and 155,000 deaths globally every year. In terms of disability adjusted life years (DALYs), *Salmonella* is the foodborne pathogen that causes in the highest burden with an estimated of 4.07 million DALYs. According to serology, *Salmonella* has more than 2,600 different serotypes, which are classified by an antigenic reaction of the O-antigen and H 1 and H2 antigens. Serotype discrimination has been crucial for epidemiological investigations and surveillance. *Salmonella* serotypes show variations in prevalence in distinct geographical locations, food types, animals, and time. While some serovars have been globally distributed for several decades (*S. Enteritidis*), other serovars have emergence recently and have caused a number of outbreaks (*S. 4,5,12;.l:-*). The global access to whole genome sequencing (WGS) is now allowing to trace outbreaks to new food sources, which have demonstrated that *Salmonella* serotypes differ in a number of characteristics that permit then i) to invade distinct animal and plant species, ii) to survive in distinct environmental conditions (e.g., low moisture food or egg albumin), iii) to cause invasive disease, and iv) to resist antibiotic treatments. This diversity at the genomic and phenotype level is challenging food manufactures to control *Salmonella* to ensure food safety. Among recent approaches to reduce and control *Salmonella*, bacteriophage have emerged as a promising one. The significant increase in the number of phage genomes available at NCBI the later years, highpoint the recent global relevance of designing phage-based control of *Salmonella*. To date, phages and their genomes are available, but a good characterization of receptors and resistance is necessary to widespread phage-based approaches to control *Salmonella* in the food supply. Overall, the diversity of *Salmonella* challenges food producers and governmental agencies to control foodborne outbreaks linked with this important foodborne pathogen.

FONDECYT 1181167.

SMP10.2

Listeria monocytogenes una bacteria persistente: nuevas estrategias de control

Angélica Reyes-Jara¹, Ana María Quesille¹, Mauricio Latorre². ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Listeria monocytogenes (*Lm*) es un patógeno transmitido por los alimentos causante de listeriosis, enfermedad de baja incidencia pero que presenta una alta tasa de mortalidad. *Lm* es una bacteria ubicua que tiene la capacidad de proliferar bajo diferentes condiciones de estrés como las usadas en la industria de alimentos para el control de patógenos. Adicionalmente, *Lm* es capaz de formar biopelículas en diversas superficies, incluso en equipos donde se procesan alimentos. En nuestra investigación hemos caracterizado fenotípicamente 110 aislados de *Lm* de diferentes orígenes respecto a su velocidad de proliferación en frío. Identificamos diferencias en la capacidad de proliferación a baja temperatura. Evaluamos y comparamos la respuesta transcripcional global a frío de cepas de *Lm* de proliferación rápida y lenta a 8°C. Los resultados mostraron que la baja temperatura produce cambios de expresión de genes relacionados al estrés y adaptación a frío y también cambian genes relacionados a la síntesis de proteínas, generación de energía y metabolismo de glucosa. En particular, las cepas de crecimiento rápido fueron menos móviles lo que se asoció con una mayor tasa de proliferación en frío. Considerando la relevancia de disponer de nuevas alternativas para el control de *Lm* presentaremos nuestros resultados donde hemos evaluado el efecto del cobre y frío en la proliferación, respuesta transcripcional y muerte de diferentes cepas de *Lm*. Identificamos que cepas de rápida proliferación en frío de presentan mayor resistencia al efecto antibacteriano de superficies de cobre en frío. Además, observamos que a 8°C el cobre reduce la proliferación respecto a 37°C y también produce un aumento significativo en el contenido del metal. A nivel de respuesta transcripcional observamos que un estrés agudo de cobre en frío (1hr) reprime 96% de los genes, sin embargo, parte de esta respuesta se revierte después de 24 hrs de exposición a cobre. Esto permite inferir que *Lm* reajusta su maquinaria transcripcional en presencia del metal en el tiempo. En conclusión, el conocer los mecanismos de respuesta que desarrolla *Lm* permite diseñar mejores estrategias de control que pueden mejorar la inocuidad de los alimentos y la salud de los consumidores.

FONDECYT 1171575.



SMP10.3

Shiga toxin-producing *E. coli*: source and significance as foodborne pathogens

Jianghong Meng¹. ⁽¹⁾ Center for Food Safety & Security Systems (CFS3), University of Maryland.

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (EHEC) are a group of pathogens capable of causing life-threatening disease. Ruminants, such as cattle, are a natural reservoir of the pathogen and large herds of cattle are located near fields used to grow crops for raw consumption across the U.S., which presents potential public health risks. To gain insight into STEC population diversity and dynamics, strains of serotypes including O157:H7 were analyzed using whole genome sequencing (WGS). O157:H7 from cattle herds in California with a high rate of isolation (>30%) had a single monophyletic lineage to which most isolates belonged. Most strains were genetically similar to clinical isolates from known O157:H7 outbreaks. Additional data on the pathogen from New Mexico suggested that the genome variations of the *E. coli* O157:H7 were mainly attributable to dynamics of certain phages, and the bacterial strains have variable virulence gene profiles, even though they came from a single cattle population, which may explain the differences in pathogenicity, host prevalence, and transmissibility by *E. coli* O157:H7. Among O103 strains analyzed, all EHEC and a majority of non-EHEC strains were O103:H2. The WGS data indicate that O103 are diverse, but key gene patterns differentiate O103 EHEC from EPEC. This information is important for both molecular epidemiology and food-safety risk assessment.



SMP11.1

Evolving strategies of microbial resource centres as repositories of genetic resources and service providers

Edward Moore¹. ⁽¹⁾ Sahlgrenska Academy, Department of Infectious Diseases, Sahlgrenska Academy, Department of Infectious Diseases, University of Gothenburg.

Microbial Biological Resource Centres and Culture Collections provide repositories for microbial diversity as important assets for clinical, academic, agriculture and biotechnological development and exploitation. The vast prokaryotic diversity has been recognized with the evolution in strategies for assessing microbial diversity, principally, by adopting genotypic and, more recently, genomic approaches. With recognition of potential benefits of microbial resources, the 'Convention on Biological Diversity (CBD)' requested signatory governments to establish and maintain facilities for conservation of biological diversity, including microorganisms, preferably in the country of origin. Thus, the traditional tasks of Collections, i.e., the archiving, maintenance and distribution of microbial reference materials, have increased with the efforts to protect genetic resources, particularly with the implementation of the 'Nagoya Protocol' and regulations for 'Access and Benefit Sharing'. With advancements in analytical technology, Collections have expanded their roles in the development of improved characterizations of microorganisms; Collections participate in more than 60% of descriptions of new prokaryotic species. This is related to the necessity for Collections to consider the systematics and taxonomies of their holdings. The type strains of new microbial species constitute the ultimate references for bacteria and must be deposited in, at least, two public collections in different countries, according to the Bacteriological Code. These valuable genetic resources provide for the formal mechanism of maintaining a reliable taxonomy and the basis for zo of the complex microbial diversity. Collections provide authentication of their resources and implement the distribution of reliable reference materials to users. However, other than type strains of new bacterial species, the vast majority of microorganisms that have been studied, characterized and described are not deposited into public collections; less than 1% of microorganisms described in published articles are available to the scientific community; this issue needs to be remedied. Furthermore, Collections must accept responsibility for recognizing that the functional 'unit' for microbial diversity is the 'strain'. The individual features of microbial strains, that may not be observed as features of a 'species', could be the genetic resource of value to researchers. Collections must evolve strategies for collaboration ensure adequate coverage of microbial resources.



SMP11.2

Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos: importancia estratégica para el desarrollo científico y tecnológico a nivel nacional e internacional

Lorena María Barra-Bucarei¹, Andrés France¹, Jean Franco Castro¹. ⁽¹⁾ Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA, Chile.

El desarrollo de la microbiología ha creado la necesidad de establecer colecciones de cultivos de microorganismos, de manera de preservar cualidades biológicas y genéticas con fines de estudio, o para la producción de bienes y servicios. En la última década se ha visto un incremento en la apreciación del valor de las colecciones de cultivos de microorganismos, tanto para la conservación de recursos genéticos y la biodiversidad como para proveer de una fuente esencial para el desarrollo biotecnológico mundial. Estos recursos genéticos se han establecido en colecciones de cultivos microbianos, los que están representados internacionalmente por la Federación Mundial de Colecciones de Cultivos (WFCC). En el año 2012 Chile adhiere al Tratado de Budapest y se convierte en el primer país en Latinoamérica con un banco microbiano con el estatus de Autoridad Internacional de Depósito (IDA), formando parte de un selecto grupo de 27 países que poseen este tipo de Bancos. El Banco de Recursos Genéticos Microbianos del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) que preserva la Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos (CChRGM) y es parte de la WFCC, se ubica en Chillán, Región de Ñuble, Chile. La CChRGM recibe depósitos públicos, privados y con fines de patentamiento de microorganismos utilizados en los ámbitos silvoagropecuario, medioambiental e industrial. La colección pública está conformada por 1.857 accesiones colectadas a lo largo de todo Chile, de las cuales más de 60% tienen potencial para el desarrollo de tecnologías aplicables en el ámbito agrícola. Actualmente el banco está habilitado para recibir depósitos de bacterias y hongos provenientes de todo el mundo que son preservados bajo las técnicas de liofilización y crio-conservación, contribuyendo al desarrollo científico-tecnológico a nivel nacional e internacional.



SMP11.3

Chilean marine actinobacterial culture collection: an important resource for bioprospection

Agustina Undabarrena¹, Fernanda Claverías¹, Andrés Cumsille¹, Valentina González¹, **Beatriz Cámara**¹. ⁽¹⁾ Química/Centro de Biotecnología, Universidad Técnica Federico Santa María.

The extensive Chilean marine coastline, covering a plurality of climates and geographic peculiarities, is especially suitable for bioprospecting the microbial culturable biodiversity. Lately, marine Actinobacteria have been in the foreground due to their versatile production of bioactive secondary metabolites, contributing to the discovery of novel natural products (NPs)-derived drugs, which are crucial in this antibiotic resistance era. Nevertheless, information regarding the biotechnological potential, genetic features, chemical profiling or phylogenomics of strains isolated in our country and belonging to this phylum had been rather scarce. In this context, the obtainment of a marine actinobacterial culture collection was proposed, by bioprospecting Chilean marine underexplored habitats such as the ocean's sediments and sponges. Several sampling locations alongside different latitudes were explored: Chañaral de Aceituno Island (III Region); Valparaíso coastal border and insular Easter Island (V Region); Comau fjord and Chiloé Island (X Region) and Penas Gulf (XI Region). Various culture conditions to enrich the growth of Actinobacteria were used. Overall, our collection comprises 32 different genera, belonging to 20 families, identified through comparative analysis of the 16S rRNA gene sequences. Exploration of their biotechnological potential was performed, and several strains showed antimicrobial activity when testing different culture conditions and model bacteria. Among our collection, several strains showed interesting antibacterial compounds with chemical formulae not yet identified in NPs databases, representing promising candidates. Moreover, marine ecosystems provide unique ecological and dynamic pressures, which may lead to the isolation of novel strains. In this context, phenotypic, phylogenetic and comparative genomic analyses through whole-genome sequencing revealed a novel species of the genus *Corynebacterium*, designated as *C. alimapuensis* VA37-3^T. This strain was isolated from a marine sediment sample collected at 19 m water depth from Valparaíso Bay, representing the first obligate marine actinomycete of this genus, due to its absence of growth in media without salts, either with NaCl or artificial sea water. These results evidence that our Chilean marine culture collection represents an important resource for the bioprospection of novel marine actinobacterial isolates along with its bioactive compounds, confirming their potential as producers of potentially novel NPs.



SMP12.1

Simposio “Una Salud y la Expansión de la Resistencia Antimicrobiana, Un Desafío Transversal”

Juan Carlos Hormazábal¹. ⁽¹⁾ Subdepartamento de Enfermedades Infecciosas, Depto. Biomédico Nacional de Referencia, Instituto de Salud Pública de Chile.

La resistencia antimicrobiana es una gran amenaza para la salud mundial ya que pone en peligro la capacidad de tratar las enfermedades infecciosas, haciendo riesgosas y costosas muchas de las intervenciones en salud que actualmente se llevan a cabo. Este fenómeno no sólo afecta la salud humana, sino también a la salud animal, la agricultura, el medio ambiente y el intercambio comercial. De esta manera estamos enfrentando un problema complejo y de raíces multifactoriales que requiere de un gran esfuerzo no solo de los profesionales de la salud humana y animal, sino también de la comunidad científica, la industria y el estado. El uso inapropiado e indiscriminado de los antimicrobianos en el ámbito clínico humano, veterinario y en la producción de alimentos es uno de los factores principales que contribuyen a la emergencia y diseminación de resistencia, pero el problema es complejo e involucra múltiples factores, muchos de ellos desconocidos. En la 68° Asamblea Mundial de la Salud, los estados miembros aprobaron un plan de acción mundial para combatir la resistencia antimicrobiana, respaldado por la Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), y que bajo el concepto de UNA SALUD fomenta prácticas que eviten la generación de resistencia. El concepto UNA SALUD representa una nueva visión estratégica, a través del establecimiento de colaboraciones multidisciplinares que involucren la interacción de profesionales en salud humana, salud animal, ciencias biológicas, producción alimentaria y el ambiente. Facilitar el intercambio entre expertos de distintas áreas bajo esta visión “ecosistémica” es fundamental para ampliar y fortalecer el conocimiento, elevar el nivel de discusión y la generación de nuevas ideas en el control de las enfermedades infecciosas y la resistencia antimicrobiana. Chile y Latinoamérica ya están dando sus primeros pasos en el desafío de esta visión integradora, la realización de este Simposio “Una Salud y la Expansión de la Resistencia Antimicrobiana, Un Desafío Transversal”, en el XXIV Congreso Latinoamericano de Microbiología representa una importante señal de apoyo y sobre todo una valiosa oportunidad de intercambio y discusión con la comunidad científica Latinoamericana para nuestro presente y futuro.



SMP12.2

Emergencia y diseminación de la resistencia plasmídica a polimixinas

Roberto Melano¹. ⁽¹⁾ Research and Development, Public Health Ontario.

La demanda de proteínas animales para el consumo humano está aumentando a nivel mundial a un ritmo sin precedentes. Las prácticas modernas de producción animal se asocian con el uso regular de concentraciones subterapéuticas de antimicrobianos como promotores del crecimiento, algunos considerados “médicamente importantes” como los β -lactámicos, polimixinas, lincosamidas, macrólidos y tetraciclinas. Estos medicamentos se usan en dosis bajas en alimentos para animales y se considera que mejoran la calidad del producto, con un menor porcentaje de grasa y un mayor contenido de proteína en la carne, además de limitar la expansión de patógenos zoonóticos tales como *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* y enterococos. Por otro lado, es sabido que el uso de cualquier antibiótico se asocia con la selección de bacterias resistentes, en este caso beneficiadas por las bajas concentraciones empleadas. Un ejemplo reciente es el caso de la resistencia plasmídica a polimixinas, identificada a fines del 2015 en aislamientos de origen animal y en casos clínicos humanos, pero presente en bacterias recuperadas de animales varias décadas atrás. La selección de este mecanismo de resistencia es un claro ejemplo de que el “One Health approach” podría prevenir la selección y movilización de tales genes desde microorganismos ambientales a bacterias de origen animal y a patógenos humanos multi-resistentes. Esta presentación se enfocará en los aspectos moleculares de la diseminación de los genes *mcr* entre diferentes especies de enterobacterias recuperadas tanto en muestras de origen animal como humanas.



SMP12.3

Resistencia antimicrobiana, desafíos para Chile en la detección y la investigación aplicada

José Manuel Munita¹. ⁽¹⁾ Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Facultad de Medicina Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile.

Para enfrentar este gran problema en salud es de primera relevancia el enfrentamiento interdisciplinario de la resistencia antimicrobiana para mejorar nuestra comprensión del problema y encontrar estrategias innovadoras para prevenir y solucionar este flagelo. A modo de ejemplo de enfoque multidisciplinario de investigación en nuestro país, nos referiremos al recientemente conformado *Núcleo Milenio para el Enfrentamiento Interdisciplinario de la Resistencia Bacteriana*, el que está conformado por investigadores que abordarán la resistencia antimicrobiana desde diversos puntos de vista, incluyendo la medicina humana y veterinaria, la cadena productiva, el ambiente, la biología molecular y la secuenciación genómica, siendo una propuesta innovadora y todo un desafío para este grupo de investigadores. Además, profundizaremos en las oportunidades actuales para fomentar la investigación colaborativa en el ámbito de la resistencia y en la plataforma que esperamos poner a disposición de la comunidad científica a través de nuestro centro Milenio.



SMP12.4

Vigilancia integrada y el uso de antimicrobianos, desafíos para América Latina

Jeannete Zurita¹. ⁽¹⁾ Microbiología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, EC.

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es la principal amenaza para la salud pública de este siglo, es de proporciones preocupantes para todas las regiones del mundo pues impacta en los objetivos de desarrollo sostenible; es una amenaza sanitaria mundial emergente y creciente de carácter urgente. La magnitud del problema es tal que la RAM junto con el calentamiento global son los grandes desafíos de la humanidad. ¿Por qué? Porque la RAM podría revertir los avances en salud pública y salud animal, dado que cada vez los antibióticos son menos efectivos para combatir las infecciones hasta tal punto que hoy vivimos la era post-antibiótica. Este gran desafío requiere una colaboración intersectorial bajo la visión de «Una Salud». Deben estar vinculados el sector de salud humana, (en el cual se han realizado avances notables en vigilancia de RAM y principalmente en la implementación de los PROA a nivel hospitalario) junto con el sector de sanidad animal (que ha manifestado su compromiso para establecer normas y regulaciones en el uso de antimicrobianos y mejorar la vigilancia de RAM) y el sector de la alimentación y agricultura, cuyos autores clave han elevado sus niveles de conciencia sobre los riesgos e impacto de la RAM. Establecer planes de acción nacionales sobre RAM, dirigidos al campo de la información, educación y formación; a la vigilancia, monitoreo y registro de la RAM; reducción de infecciones con una mayor higiene y dotación de agua potable y alcantarilla; apoyo a investigación en problemas puntuales de la Región, pero sobre todo una legislación e inversión sostenible para alternativas y reducción del uso de antimicrobianos. Lograr reducir los niveles de antimicrobianos en salud humana y animal, lograr alimentos sin antibióticos y medioambiente saludable, ríos y lagos sin antimicrobianos son desafíos a largo plazo no solo para América Latina. Es fundamental visibilizar, sensibilizar y posicionar la RAM ante tomadores de decisión y el compromiso político de los países.



Martes 13 de Noviembre 2018

POSTERS



MA001

***Piscirickettsia salmonis* induces an anti-inflammatory response that favor intracellular replication in Atlantic salmon macrophages**

Diego Ahumada¹, Diego Perez-Stuardo¹, Allison Spinoza¹, Ibaceta Valentina¹, Brianson Bernardo¹, Albornoz Romina¹, Morales Jonathan¹, Valdes Jorge¹, Reyes Sebastian¹. ⁽¹⁾ Centro de Genómica, Ciencias, Universidad Mayor.

Introduction: *Piscirickettsia salmonis* is a facultative intracellular bacterium that infects Atlantic salmon macrophages and evades immune response avoiding its lysosomal degradation. Unfortunately, there is a lack of scientific information on the characteristics of this host-pathogen interaction. Recently was suggested that *P. salmonis* induce an anti-inflammatory milieu that favor its survival, but this relationship still must be analyzed. For these reasons, in this work we have proposed evaluate the role of anti-inflammatory response on bacterial replication and cellular damage. **Methods:** Expression of pro-inflammatory cytokines transcripts, such as IL-1 beta, IL-18 and TNF-alpha and anti-inflammatory cytokines transcripts such as IL-10 and TGF-beta were determined in Atlantic salmon macrophages infected by *P. salmonis* after 3, 5 and 7 days by RT-qPCR. The cellular cytotoxicity induced by *P. salmonis* when infects Atlantic salmon macrophages was determined after 3, 5 and 7 days post-infection by a colorimetric LDH-citotoxicity assay. Extracellular and intracellular bacteria were obtained by recovery of infections supernatants and by a gentamicin protection assay respectively. Viability and bacterial load were evaluated after 3, 5 and 7 days by seriated dilutions of bacterial growth in CHAB agar and by 16S rDNA qPCR. **Results:** Cytokine transcripts expression in Atlantic salmon macrophages infected by *P. salmonis* showed an increase of IL-10 and TGF-beta between 3 to 7 days post-infection close to 25 folds and 20 folds respectively respect to non-infected macrophages. Conversely, transcript expression of IL-1 beta, TNF-alpha and IL-18 between 3 to 7 days post-infection decrease more than 20 folds in all times evaluated respect to non-infected macrophages. In macrophages infected with *P. salmonis* we observed that the cellular cytotoxicity reached values close to 60% of infected cells after 7 days post-infection. Bacterial quantification showed that *P. salmonis* reached an intracellular maximum after 3 days post-infection and extracellular maximum after 5 days post-infection. **Conclusion:** Our results suggest that *P. salmonis* induces an anti-inflammatory cytokine transcripts profile enriched in IL-10 and TGF-beta which correlates with an increase of bacterial load that produces a cytotoxic effect which does not exceed 60% of infected macrophages allowing to *P. salmonis* to generate the propitious scenario to survive and replicate.

Proyecto FONDECYT INICIACION 11150807 y proyecto START UP MAYOR 101205.



MA002

Evaluation of immunogenic cell death induced by the rich fraction of polyphenols from *C. spinosa* on human melanoma cell line

Juan Pablo Araya^{1,2}, Andres Tittarelli^{1,2}, S. Fiorentino³, Flavio Salazar^{1,2}. ⁽¹⁾ ICBM, Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana Bogotá, Bogotá, CO.

We have previously identified a gallotannin-rich fraction, obtained from *Caesalpinia spinosa* (P2Et) as an anti-tumor agent in both murine breast carcinoma and melanoma. P2Et treatment results in activation of immunogenic cell death (ICD) in murine tumor cells and P2Et-treated tumor cells are highly immunogenic in vaccinated mice and induce immune system activation. In the present work we started to evaluate the effect of the P2Et extract in the induction of ICD markers in human melanoma cell lines. First, we determined the IC50 of P2Et in three human melanoma cell lines (Mel1, Mel2, and Mel3). Our results indicated that the three human melanoma cell lines were susceptible to induction of cell death by P2Et. The evaluation of ICD markers, like translocation of calreticulin, and release of HMGB1 and ATP were also evaluated. We measured and calculated IC50 and extracellular ATP by Microplate Luminometer with CellTiter-Glo[®] assay, HMGB1 mobilisation by Sandwich ELISA and ecto calreticulin by Flow cytometry with a secondary antibody anti-CRT. We demonstrated the immunogenic cell death P2Et in human melanoma lines, but the effect it's not equal in each cell lines. The preliminary results suggest that P2Et would induce ICD in human tumor cells and may constitute an effective phyto-based agent in the treatment of melanoma.

Financed by grants FONDECYT 1171213 and 11160380; FONDEF ID16I10148 and MIII P09/016-F.



MA003

Tumor associated antigen expression in tumor biopsies of gallbladder cancer patients

Barria Omar André^{1,2}, Daniel Rojas-Sepúlveda^{1,2}, Paula Fluxá^{1,2}, Alejandra Gleisner^{1,2}, Mercedes López^{1,2}, Flavio Salazar-Onfray^{1,2}. ⁽¹⁾ Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Medicina, Universidad de Chile. ⁽²⁾ ICBM, Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Introduction: Gallbladder cancer (GBC) is a rare malignant tumor; however, Chile has the highest incidence and mortality of GBC in the world. Current treatments are surgery and chemotherapy, both of which are ineffective in advanced stages. So, it becomes necessary to deepen the knowledge about the characteristics of GBC that will allow the development of more effective therapies. An alternative reported in several publications has been the use of tumor-associated antigens (TAA) as therapeutic targets. Here, we characterized the expression of different TAA in GBC paraffin-embedded biopsies from Chilean patients in different stages. **Material and Methods:** Expression of erbB2, Survivin, MAGE1, MUC1, CEA, CA19-9 and WT1 was evaluated by immunohistochemistry in 16 GBC paraffin-embedded biopsies obtained from El Salvador hospital. **Results:** Our results showed a high percentage of patients with a positive expression of the different TAA analyzed in all of the biopsies: erbB2 (14/16), Survivin (14/16), MAGE1 (14/16), MUC1 (12/16), CEA (11/16), CA19-9 (11/16) and WT1 (14/16). Moreover, this high expression was independent of patients stages. **Conclusion:** These high antigens expressions in all patients stages seems to suggest the importance of these TAA in GBC and may be considered as new therapeutic targets against this cancer in the future.

Financed by grants FONDEF ID16I10148, IMII P09/016F and FONDECYT 1171213.

MA004

Preliminar study of the role of Bcl-3 polymorphism rs2927488 (G/A) in patients with Irritable Bowel Syndrome

Claudio Pérez³, Edith Pérez De Arce¹, Daniela Vera¹, Mauricio Venegas¹, Alexandra Sandoval¹, Verónica Torres⁴, Hugo Portillo⁴, Ana María Madrid¹, **Beltran Caroli J^{2,4}**. ⁽¹⁾ Gastroenterology Service, Medicine Department, Hospital Clínico Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Immunogastroenterology Lab, Gastroenterology Service, Medicine Department, Medicine, Universidad de Chile. ⁽³⁾ Blood Bank, Hospital Clínico Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Immunogastroenterology Lab, Gastroenterology Service, Medicine Department, Medicine, Hospital Clínico Universidad de Chile, Santiago, CL.

Irritable bowel syndrome (IBS) is one of the most prevalent functional disorders in Chile and worldwide, which is characterised by a bi-directional disequilibrium of gut-brain interactions that induce alterations in the intestinal immune response. The pathophysiology of Irritable Bowel Syndrome (IBS) has been associated to a certain genetic predisposition. The polymorphism SNP-rs2927488 (G/A) of Bcl3 (B-cell leukaemia/lymphoma-3) gen, an immunoregulatory protein, has been postulated as a risk factor for Crohn Disease. An increased expression of Bcl3 is observed at intestinal mucosa of IBS patients compared to healthy Controls (HC), however the role of SNP-rs2927488 (G/A) is unknown. We aim to assess the role of SNP-rs2927488 in IBS and its relationship with the expression of Bcl-3. **Methods:** In 79 IBS patients (IBS-D n=19; IBS-C n=13; IBS-M n=46; IBS-U n=1) and 44 HC was genotyped the SNP-rs2927488 (G/A) by PCR-RFLP method. In a subgroup of IBS (n=27) patients and HC (n=16) was evaluated the level of Bcl-3 mRNA expression at ileal and colonic mucosa by qPCR, and its association degree with rs2927488 (G/A). **Results:** There was no difference of genotype distribution of these SNPs between HC (AA: 2.27%; GA: 34.09%; GG: 63.64%) and IBS patients (AA:0%; GA: 44.87%; GG: 55.13%). No association was found between gene polymorphism and clinical characteristics in IBS patients, however a trend of increased GA frequency was observed for IBS-C subtype (GA: 69,23%; GG: 30,77%). Increased Bcl-3 mRNA levels at colonic mucosa was observed for GA haplotype in full universe (p=0.474), trending higher for IBS patients group. **Conclusion:** These results suggest that SNP-rs2927488(G/A) seems not to be associated with IBS susceptibility in a Chilean population, however contribute to its increase level of the Bcl-3 expression. Replication studies are necessary, as well as to evaluate its pathophysiological role in this disorder.

FONDECYT 1181699, OAIC#680/14 HCUCH.

MA005

An inflammatory status in the brain causes behavioral alterations after infection by the human respiratory syncytial virus

Karen Bohmwald¹, Espinoza Janyra A.¹, Jorge Soto¹, Opazo María C.², Eugenin Eliseo A.³, Reidel Claudia A.², Kalergis Alexis M.^{4,1}. ⁽¹⁾ Millenium Institute on Immunology and Immunotherapy, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile., Santiago, CL. ⁽²⁾ Millenium Institute on Immunology and Immunotherapy, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y Facultad de Medicina Universidad , Universidad Andrés Bello., Santiago, CL. ⁽³⁾ Public Health Research Institute, Department of Microbiology and Molecular Genetics, Rutgers Medical School, Rutgers University, New York, US. ⁽⁴⁾ Departamento de Endocrinología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

The human Respiratory Syncytial Virus (hRSV) is the major cause of lower respiratory tract illness in infants and young children worldwide, including severe bronchiolitis and pneumonia. Recently, neurologic alterations have been associated with hRSV infection in children, which include seizures, central apnea and encephalopathy. Further, hRSV impairs behavioral and learning processes in animals probably due to either an altered production of pro-inflammatory cytokines or by the CNS cells infection. First, we evaluated if the hRSV infection promotes the immune cell transmigration into the CNS and we observed that neutrophils, resident macrophages and inflammatory monocytes are increased at day 3 post-infection, whereas B lymphocytes and CD8 + T cells are increased at 7 days post-infection, Then, we analyzed the pattern of cytokine expression by RT-qPCR and ELISA in the brain of mice intranasally challenged with of hRSV, observing a down regulation of CD200 and an elevated IL-6, TNF α and IL-4 expression levels. hRSV-infected murine astrocytes showed an increased production of nitric oxide (NO), GFAP, IL-6 and TNF α , suggesting an activation of astrocytes and a pro-inflammatory profile in the CNS. Furthermore, similar results were found using hRSV and human astrocyte cultures for viral loads and GFAP levels. Moreover, hRSV infection caused an acute and chronic behavior impairment (up to two months post infection). In these mice we found, an altered expression of cytokines such IL-4, IL-10 and CCL2, as well as increased GFAP levels in mice with a severe behavioral impairment due to hRSV infection. This work suggests that hRSV-infection can impair the proper CNS function due to local inflammation and that astrocytes can be targeted during this process.

This work was supported by the Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy from Chile (P09/016-F for AMK), CONICYT/FONDECYT POSTDOCTORADO No. 3185070 for KB and FONDECYT grant number 1150862.



MA006

Modulation of the response of antigen-specific cytotoxic T cells by activation of iNKT cells by glycolipid-modified recombinant bacteria

Paula Bravo-Rodríguez^{1,2}, Susan Bueno^{3,4}, Alexis Kalergis^{3,4}, Leandro Carreño^{1,2}. ⁽¹⁾ Programa de Inmunología, Instituto de ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Millennium Institute of Immunology and Immunotherapy, Facultad de Medicina, Universidad de Chile ⁽³⁾ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽⁴⁾ Millennium Institute of Immunology and Immunotherapy, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

Invariant NKT cells (iNKT) are a specialized group of non-conventional T cells with the ability to secrete several cytokines after their activation. These cytokines can modulate the function of dendritic cells, NK cells, B cells and T cells. iNKT cells recognize glycolipids bound to the CD1d molecule, the major lipid-presenting protein expressed on antigen-presenting cells (APCs). One of the limitations for the *in vivo* administration of free glycolipids to induce the activation of iNKT cells is the appearance of unwanted side effects, such as liver toxicity and iNKT cell anergy. In order to avoid these side effects, our previous work glycolipids have been shown to be incorporated into bacterial membrane, using them as delivery vectors, which has the additional advantage of being able to supply specific T cell recombinant antigens. In this work we used attenuated bacterial strains recombinant for the expression of the ovalbumin protein and incorporated the glycolipids α -GC, 7DW8-5 and DB03-4 into their membrane. To study the activation of iNKT cells, co-cultures of dendritic cells infected with LMova-GL were performed at different MOI and incubated with iNKT cell hybridomas for 24 hours to then measure their activation by IL-2 by ELISA. To evaluate the influence of the iNKT cells on the activation of the specific immune response, transactivation studies of CD8 T cells specific for ovalbumin were performed using CD8 T cells derived from OT-1 mice.

Funded by FONDECYT 1160336 and Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy P09/016-F.



MA007

Characterization of SNX5 dependent BCR trafficking at the immune synapse of B lymphocytes

Fernanda Cabrera¹, Jorge Ibañez ¹, Danitza Fuentes¹, Jheimmy Díaz¹, María Isabel Yuseff ¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

The interaction of the B cell receptor (BCR) with antigens tethered at the surface of presenting cells gives rise to an immunological synapse (IS). During this process, B cells undergo extensive remodeling of their actin cytoskeleton and microtubule network, which polarizes towards the synaptic interface. Polarization of the microtubule organizing center is a key step, which allows the local recruitment and secretion of lysosomes at the immune synapse to facilitate the extraction and processing of immobilized antigens. BCR-antigen complexes are internalized through clathrin-mediated endocytosis and must converge with lysosomes where antigen processing occurs, however, the mechanisms involved in the intracellular trafficking of the BCR towards lysosomes, are largely unknown. We focused on sorting nexins, which regulate vesicle trafficking can bind directly to the plasma membrane and vesicles, through their phox homology (PX) domain. In particular, we studied sorting nexin 5 (SNX5), which was identified in a semi-quantitative screening of proteins associated to the centrosome of activated B cells. To assess the role of SNX5 in the intracellular trafficking of the BCR at the IS, we used a B cell line (IIA1.6) activated with immobilized antigens on beads, to simulate the IS and evaluated the localization of SNX5 together with endo-lysosomal and cytoskeleton markers by immunofluorescence. The results of this work show that in non-activated B cells, SNX5 is associated with the centrosome and upon activation becomes polarized to IS. Upon internalization, BCR-antigen complexes co-localize with SNX5 within early endosomal compartments. Moreover, silencing the expression of SNX5 affects the endocytic trafficking of the BCR thereby decreasing the capacity of B cells to extract immobilized antigens at the IS. We conclude that SNX5 coordinates the membrane trafficking coupled to the antigen-BCR endocytosis.

This work was supported by FONDECYT REGULAR # 1180900, research grant to Dra. María Isabel Yuseff and FONDECYT INICIACIÓN # 11171024 research grant to Dra. Jheimmy Díaz.



MA008

DNA prime-peptide boost immunizations maximize circulating and resident memory CD8⁺ T cells responses against a melanoma-associated self-antigen

Pablo Caceres-Morgado¹, Felipe Galvez-Cancino¹, Ximena Diaz¹, Evelyn Menares¹, Sofia Hidalgo¹, Ornella Chovar¹, Juan-Pablo Saavedra¹, Alvaro Lladser¹. ⁽¹⁾Laboratory of Gene Immunotherapy, Laboratory of Gene Immunotherapy, Fundación Ciencia & Vida, Santiago, CL.

Memory CD8⁺ T cell responses can mediate long-lasting protection against cancers. Emerging evidence indicates that effective anti-tumor protection requires coordinated action of both tissue-resident and circulating memory CD8⁺ T cells. However, clinically applicable vaccination strategies that efficiently establish both types of responses against tumor-associated self-antigens remain largely unexplored and are expected to strongly protect against tumors. Here we demonstrate that intradermal vaccination using a DNA prime-peptide boost strategy induces strong CD8⁺ T cell effector responses against a model of melanoma-associated self-antigen GP100 in mice, as compared to DNA and peptide prime and the other immunization regimens. These responses were characterized by a high proportion of memory precursor (KLRG1⁻ CD127⁺) cells expressing CXCR3. At the memory phase, DNA prime-peptide boost lead to enhanced circulating and skin resident memory (Trm) CD8⁺ T cells. Trm cells accumulated at both vaccinated and distant sites, and displayed elevated expression of PD-1 and low expression of Lag3 and KLRG1. Interestingly, *in vivo* stimulation with H-2 Db-restricted GP100₍₂₅₋₃₃₎ peptide leads to the production of high levels of IFN- γ by Trm cells. Current efforts of this project seek to demonstrate that prime and boost vaccination strategies designed to maximize resident and circulating memory CD8⁺ T cell responses achieve potent protection against primary and disseminated melanoma.

Acknowledgments: CONICYT AFB 170004 and FONDECYT 1171703.



MA009

Dopamine receptor D5 signaling regulates lymphopoiesis

Javier Campos-Acuña^{1,2}, Francisco Contreras¹, Francisco Osorio-Barrios¹, Rodrigo Pacheco^{1,2}. ⁽¹⁾ Neuroinmunología, Fundación Ciencia y Vida, Santiago, CL. ⁽²⁾ Neuroinmunología, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Dopamine plays important roles as neurotransmitter not only in the brain, but also exerts relevant regulation in the physiology of gut, heart and kidney. Furthermore, by affecting the behavior of several types of immune cells, dopamine has been recently found to be a potent regulator of inflammation. In this regard, dopamine signaling mediated by dopamine receptor D5 (DRD5) in T-cells has been described to potentiate effector T-cell activation directly or by attenuating suppressive activity of regulatory T cells, thereby being involved in several autoimmune disorders. Interestingly, catecholaminergic innervation of bone marrow has been associated to migration and development of hematopoietic cells. However, the role of DRD5 in generation, migration, and development of T-cells subtypes during lymphopoiesis has not been well characterized. In this work, we aimed to investigate the role of DRD5 in the development of different T-cell subsets by analyzing cell frequencies in the spleen, thymus and blood obtained from wild-type and DRD5-deficient mice or from bone-marrow chimeric mice. Results show that general DRD5-deficiency promotes a lower frequency of both CD4+ and CD8+ naïve T-cells within the spleen. Moreover, lack of DRD5 confined to the hematopoietic compartment impairs CD4+ T-cell generation. Furthermore, DRD5-deficiency confined to outside the lymphocytic compartment resulted in impaired CD8+ T-cell development. Taken together, these results suggest a relevant and complex role for dopamine signaling during lymphopoiesis.

This work was supported by grants FONDECYT 1170093 and CONICYT PFB-16.

MA010

Evaluación de la inmunogenicidad y eficacia protectora de una vacuna de ADN plasmídico que codifica una proteína flagelar FliC de *Brucella abortus* con estrategia Prime-boost en ratones BALB/c

Coloma-Rivero Roberto F.¹, Pablo Fernández¹, Leonardo Gómez¹, Raúl Molina¹, Ángel Oñate¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Inmunología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL.

El género *Brucella* son patógenos intracelulares facultativos que causan una zoonosis llamada brucelosis, provocando abortos en hembras e infertilidad en machos que la padecen, generando pérdidas económicas y un gran riesgo de contraer la enfermedad por seres humanos. *Brucella abortus*; una de las especies más distribuidas mundialmente afecta principalmente al ganado bovino; no presenta factores de virulencia clásicos y se ignora gran parte de los genes implicados en la capacidad de evadir el sistema inmune, replicarse en células fagocíticas profesionales y no profesionales. Existen vacunas contra la brucelosis, desarrollada a partir de cepas atenuadas, pero no son aplicables en humanos. La inmunización con vacunas de ADN podría ser un método alternativo para la vacunación contra enfermedades infecciosas como la brucelosis, promoviendo una respuesta inmune celular y humoral *in vivo* contra el microorganismo, basada en la proteína antigénica. Por lo tanto, conocer las proteínas o los componentes de *Brucella abortus*, para activar la respuesta inmune protectora, es clave para su éxito. Este estudio tiene como objetivo determinar la respuesta inmune inducida en un modelo murino (ratones BALB / c), por inmunización con un ADN plasmídico que transporta la inserción del gen (*fliC*) que codifica la proteína Flagelina; que es una parte constitutiva del flagelo bacteriano. Además de determinar diferentes parámetros inmunológicos inducidos por la inoculación de la proteína FliC pura. Para esto se construyó el vector recombinante pVAX/*fliC*; donde el gen *fliC* de *Brucella abortus* 2308 se ligó en el vector plasmidial pVAX. Este vector recombinante pVAX/*fliC*, la proteína purificada FliC, y el grupo de refuerzo (Bosster); que incluye el vector recombinante pVAX/*fliC* más la proteína FliC (proteína purificada) se inocularon por vía intramuscular en ratones BALB/c; así como los grupos control con el plásmido pVAX y el grupo de control inoculado con tampón de fosfato salino estéril (PBS). Los resultados sugieren que la formulación de un vector de ADN plasmídico, con un gen conservado que codifica la proteína FliC de *Brucella abortus*, confiere protección e induce una respuesta inmune en modelo murino BALB/c.

Agradecimiento al Doctor Angel Oñate; Laboratorio de Inmunología Molecular, Universidad de Concepción. PROYECTO FONDECYT 1180122.



MA011

CD49b+Foxp3- T cells present in the tumor site have a Tr1-like phenotype and are greatly expanded in a murine melanoma model

Pamina Contreras-Kallens^{1,2}, Dario Vergara², Karina Pino-Lagos². ⁽¹⁾ Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
⁽²⁾ Inmunología, Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Los Andes, Santiago, CL.

T regulatory cells (Treg) suppressive function can have a detrimental effect on immune responses against tumor cells. Thus, it is of great importance to study the factors altering their inhibition efficiency, therefore anti-tumor therapies can be improved. The great heterogeneity of peripheral Treg is one of the problems that have to be addressed to enhance and develop novel anti-tumoral therapies. Within the Treg subset, a new non-classical population has been recently reported, which express high levels of CD49b molecule and, depending on their activation status, can also express the canonical Treg transcription factor Foxp3. Their therapeutic immunosuppressive effect has already been studied in murine models of diabetes and collagen-induced-arthritis, in which they display a protective effect. Nevertheless, their role in a tumor model has not been yet researched. Thus, we sought to investigate their function in a murine melanoma model. Surprisingly, we found that their presence seems to be strongly influenced by the microenvironment they encounter. Whereas in the draining lymph nodes the subset composes only around 6% of total CD4+ T cells, in the tumor, they compose almost 20% of CD4+ tumor infiltrating leukocytes (TILs). On the other hand, Foxp3+ CD49b- (conventional Tregs) composes only around 10% of CD4+ TILs, a number similar to that present in the draining lymph nodes. Furthermore, we also observed that, around half of CD49b+ express Neuropilin-1, which has been described to be important for the stability and function of conventional Tregs and in tumor progression. Even more, we also observed that CD49b+ T cells show a differential pattern of expression of some regulatory molecules, compared to Foxp3+ Tregs: a higher median fluorescence of the exonuclease CD73 in the tumor microenvironment, which is not observed within the lymph nodes populations. Similar results were found for the gene expression of the suppressive cytokine IL-10. Thus, this Foxp3-CD49b+ CD4+ T cell subpopulation seems to have a Tr1-like phenotype and is greatly expanded in the tumor site.

FONDECYT REGULAR Grant 1160347.



MA012

DPP-4 as a novel candidate gene for the inflammatory effects of glucocorticoids in macrophages

David Diaz-Jimenez^{2,1}, Hermoso Marcela A¹, Cidlowski John A². ⁽¹⁾ Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Molecular Endocrinology Group, Signal Transduction Laboratory, National Institute of Environmental Health Sciences, National Institutes of Health, Research Triangle Park, North Carolina, US.

The glucocorticoid receptor (GR) is expressed in almost all immune cells and glucocorticoids are one of the most potent endogenous anti-inflammatory molecules. While synthetic glucocorticoids are efficacious in treating inflammatory diseases mediated in lymphocytes, their clinical efficacy is loss in treating macrophage-mediated inflammatory diseases. The molecular mechanisms promoting decreased efficacy of glucocorticoids in regulating macrophage driven inflammation are largely uncharacterized. We hypothesized that the process of differentiation of monocytes into macrophages during chronic inflammation induces epigenetic and transcriptional changes that, in turn, alter the function of glucocorticoids specifically in macrophages. To test this idea, human THP-1 cells were differentiated with PMA into THP-1-derived CD11b+/CD11c+ macrophages. Transcriptome analysis showed a substantial number of genes regulated by GR activation uniquely in macrophages. Provocatively, we observed higher GR expression as well as an increased diversity of GR translational isoform expression in the monocyte to macrophage transition. Furthermore, the GR was downregulated by dexamethasone exclusively in macrophages. Utilizing Nanostring technology we discovered that inflammatory pathway to be particularly sensitive to alterations in glucocorticoid signaling between monocytes and macrophages. In particular, glucocorticoid treatment elicited a pro-inflammatory gene expression profile with reduction in CD80 and CD86 expression, specifically in macrophages. Intriguingly, both Microarray and Nanostring uncovered GR induction of dipeptidyl peptidase-4 (DPP4), a gene encoding for an exopeptidase known to be involved in the inflammatory macrophages profile. Moreover, using RTqPCR, western blotting, flow cytometry and fluorometric assay we confirmed that dexamethasone up-regulates DPP-4 transcription, protein expression and enzymatic activity in THP-1-derived macrophages, in a Glucocorticoid receptor dependent pathway. Additionally, the enzymatic activity of DPP4 induced by dexamethasone was completely blocked by DPP4 inhibitors Sitagliptin and Linagliptin. Finally, GR-chromatin immunoprecipitation to the DPP-4 promoter revealed recruitment two putative glucocorticoid-response elements, indicating direct transcriptional control of DPP-4 by GR activation. This data suggests that in the context of chronic inflammation, the administration of glucocorticoids on inflammatory macrophages could inhibit macrophage-mediated promotion of adaptive immune responses, but enhance their innate immune functions and elicit a pro-inflammatory effect through GR autoregulation, enhanced chemotactic potential and the induction of inflammatory effects by DPP-4.

CONICYT Doctorado Nacional N° 21150264 fellowship and Supplemental Pre-doc Fellowship in the NIH Research Program (Award 37432); FONDECYT 1170648.



MA013

The inhibition of dopamine receptor D3 signalling in CD4+ T-cells exerts a therapeutic effect attenuating Parkinson's disease development in a mouse model

Daniela Elgueta^{1,2}, Francisco Contreras², Carolina Prado², Andro Montoya², Abellanas Miguel A³, Aymerich Maria S³, Rafael Franco⁴, Rodrigo Pacheco^{1,2}. ⁽¹⁾ Ciencias de la Salud, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. ⁽²⁾ Laboratorio Neuroinmunología, Fundación Ciencia y Vida, Santiago, CL. ⁽³⁾ Division of Neurosciences, Center for Applied Medical Research (CIMA) Universidad de Navarra, Pamplona, ES. ⁽⁴⁾ Biochemistry and Molecular Biomedicine, Universitat de Barcelona, Barcelona, ES.

Neuroinflammation constitutes a fundamental process involved in Parkinson's disease (PD). Microglial cells play a central role in the outcome of neuroinflammation and consequent neurodegeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra. Current evidence indicates that CD4+ T-cells infiltrate the brain in PD, where they play a critical role determining the functional phenotype of microglia, thus regulating the progression of the disease. Recently, we demonstrated that mice bearing dopamine receptor D3 (DRD3)-deficient CD4+ T-cells are completely refractory to neuroinflammation and consequent neurodegeneration associated to the intoxication with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). In this study we evaluated the therapeutic potential of targeting DRD3 in CD4+ T-cells by inducing the pharmacologic or the transcriptional inhibition of DRD3-signalling in a mouse model of PD induced by the chronic administration of MPTP and probenecid (MPTPp). We also analysed whether DRD3-signalling was altered in the immune cells of PD patients. The results show that the transference of CD4+ T-cells transduced *ex vivo* with retroviral particles codifying for an shRNA for DRD3 or treated *ex vivo* with the DRD3-selective antagonist PG01037 into MPTPp-mice resulted in a significant reduction of motor impairment and neuroinflammation. *In vitro* analyses showed that the frequency of peripheral blood Th1 cells, a phenotype that is promoted by DRD3-signalling, was significantly increased in PD patients. Nevertheless, DRD3 expression was selectively reduced in CD4+ T-cells obtained from PD patients. Our findings indicate that attenuating DRD3-signalling in CD4+ T-cells exerts a therapeutic effect in parkinsonian animals dampening motor impairments and modifying the pro-inflammatory phenotype of glial cells.

Michael J. Fox Foundation (10332), FONDECYT (1170093) and CONICYT (PFB-16).



MA014

Unsupervised high-dimensional analysis of IRE1 α /XBP1s axis activation in tumor-infiltrating immune cells

Dominique Fernandez¹, Felipe Flores¹, Antonia Geisse¹, Fabiola Osorio¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Inmunología y Estrés Celular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

In cancer, the unfolded protein response (UPR) has been subject of extensive research. It is reported that tumors activate the UPR to adapt to adverse conditions, including low nutrient supply and/or hypoxia. However, the contribution of the UPR pathways to the initiation of anti or pro-tumor immunity has not been fully elucidated. In this work, we studied the activation of the IRE1 α arm of the UPR in tumor-infiltrating immune cells. We used a transgenic reporter mice (ERAI, ER-stress Activated Indicator), that contains the sequence of XBP1 that is spliced by IRE1 α fused to Venus fluorescent protein (VenusFP). ERAI mice and controls were injected s.c. with 0,5x10⁶ B16.OVA. On day 15, VenusFP expression was analyzed in tumor-infiltrating immune cells using 15-color multiparametric flow cytometry. Data was subjected to dimensional reduction using the unsupervised algorithm t-SNE. This analysis allowed us to visualize and characterize the whole tumor-immune compartment. We found that the melanoma tumor niche is composed by myeloid (DC, TAM, monocytes) and lymphoid cells (T, B, NK and NKT cells). Additionally, with the tSNE analysis we identified a new population of monocyte-derived dendritic cells (moDC1) that expressed markers associated with cDC1 cells, like XCR1. The cells that activated the IRE1 α /XBP1s axis (VenusFP+) in the tumor niche were mainly myeloid cells, where the cDC1 subtype of DCs demonstrated higher levels of IRE1 α activation. This work suggests that the tumor microenvironment elicits activation of the IRE1 α /XBP1s axis on infiltrating myeloid-associated immune cells. Thus, it is important to study the contribution of the IRE1 α /XBP1s axis to anti or pro-tumoral immunity. Although cDC1 cells display constitutive IRE α /XBP1s activation, it remains unclear how IRE1 α activation can modulate the mechanism of processing and presentation of tumoral antigens.

FONDECYT 1161212, HHMI 55008744.



MA015

Elucidating the role of FcγRIIB, Siglec-2 and Siglec-10 in IL-10 secretion by human B cells

Ashley Ferrier¹, Octavio Aravena¹, Andrea Ramirez¹, Jorge Berendsen¹, Lilian Soto^{2,1}, Juan Carlos Aguillón¹, Diego Catalán¹. ⁽¹⁾ Immune Regulation and Tolerance Research Group, Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad De Chile. ⁽²⁾ Hospital Clinico, Universidad De Chile, Santiago, CL.

Background: Over the last two decades, the capacity of B cells to exert regulatory functions has started to be regarded as critical for the control of immune responses. Regulatory B cells (Bregs) are able to inhibit T cell effector responses, mainly via IL-10 secretion, however, the receptors and pathways involved in the fine-tuning of IL-10 expression have been poorly described. B cells inhibitory receptors, such as the sialic acid receptors Siglec-2 (CD22) and Siglec-10, and the receptor for IgG-containing immune-complexes FcγRIIB, recruit phosphatases to the B cell receptor (BCR) signaling complex, therefore increasing the B cell activation threshold. The aim of this study was to determine whether Siglec-2, Siglec-10 and/or FcγRIIB can modulate IL-10 secretion by human Bregs. **Methods:** B cells were negatively isolated from peripheral blood of healthy donors. IL-10 secretion was induced with an anti-IgG/IgM antibody, plus PMA and ionomycin, and measured by ELISA and flow cytometry. Heat-aggregated IgG Fc fractions were used to mimic sialic acid-containing immune-complexes. Periodate-desialylated Fc fractions, receptor-specific blocking agents, or specific phosphatase inhibitors were used to elucidate the receptors and pathways involved in IL-10-secretion modulation by Fc fragments. Akt phosphorylation was measured by flow cytometry to determine B cell activation. The regulatory function of B cells was assessed by their ability to suppress cytokine production by autologous CD4+ T cells. **Results:** B cells incubated with aggregated Fc fractions showed reduced Akt phosphorylation, IL-10-secretion, and T-cell suppression capacity. All blocking agents tested were able to revert the Fc-induced reduction in Akt phosphorylation. The blockade of Siglec-2 or Siglec-10, or their associated phosphatases, SHP-1 and -2, as well as Fc fragments desialylation, partially reverted the inhibitory effect of aggregated Fc fractions on IL-10 secretion by B cells; this reversion was not observed when we blocked FcγRIIB. **Conclusions:** Siglec-2 and Siglec-10 contribute to the modulation of IL-10 secretion and suppressive functions of Bregs. These findings will help to understand how the secretion of IL-10 is regulated in Bregs that have recognized immune-complexes, especially in conditions such as systemic lupus erythematosus, where immune-complexes accumulate, while Bregs-mediated suppression is severely affected.

FONDECYT grants N° 11121497 and 11170800.



MA016

Regulation of the antitumor immunity by the IRE1a/XBP1 axis in dendritic cells

Felipe Flores^{1,2}, Dominique Fernández¹, María Rosa Bono², Fabiola Osorio¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de inmunología y estrés celular, Facultad de medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de inmunología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

It is well described that dendritic cells (DCs) are a highly heterogeneous population of leukocytes. Within this family, DCs of the type 1 lineage (cDC1s) have been recognized as key players of antitumoral immunity, due to their enhanced ability to cross-present tumor-associated antigens to CD8⁺ T cells, the capacity to secrete IL-12, and by the fact that these cells are able to remain refractory to the immunosuppressive effects of tumor microenvironment. Recently, the IRE1a/XBP1 branch of the unfolded protein response (UPR) has emerged as a hallmark of cDC1s across different tissues, where it has shown to regulate key cellular processes including their cross-presentation abilities in steady state and survival in peripheral tissue. Nevertheless, the contribution of the UPR to DC function within the tumor microenvironment remains poorly understood. In this project, we aim to determine whether the IRE1a/XBP1 axis is relevant for the antitumoral function of different lineages of DCs in a murine model of melanoma. For this purpose, we will use conditional knockout mouse models for XBP1 and IRE1a specifically in DCs using the Cre-LoxP technology. Through unsupervised multicolor flow cytometry, we have identified the distinct DC subtypes within tumors, such as cDC1, cDC2 and monocyte derived DCs, and additional myeloid cells as Tumor-associated macrophages and conventional monocytes. Ongoing work will address the contribution of the IRE1a/XBP1 axis in the function of the tumoral DC subsets, which include kinetics of tumor growth, a quantitative assessment of antigen presentation abilities and the capacity to prime tumor-specific cytotoxic T cells. These experiments will help elucidating the role of the IRE1a/XBP1 arm of the UPR in the regulation of antitumor immunity.

HowardHughesMedicalInstitute#55008744, FONDECYT1161212, CONICYT-PFCHA/DoctoradoNacional/2017-21170366.

MA017

Ovarian Carcinoma cell line lysates are a potent maturation stimulus and tumoral antigen source for obtention of therapeutic dendritic cells (DCs) against cancer

Iván Esteban Flores¹, Fabian Tempio^{1,2}, Cristian Pereda^{1,3}, Flavio Salazar¹, Mercedes Lopez¹. ⁽¹⁾ Inmunología, Medicina, Universidad De Chile. ⁽²⁾ Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Santiago, CL. ⁽³⁾ Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Santiago, CL.

Introduction: Ovarian Carcinoma (OC) is the most prevalent ovarian malignancy with a high mortality on advanced stages where conventional treatments are not effective. Previous results from our laboratory have shown that DCs treated with a heatshocked conditioned melanoma cell lysate, Trimel[®], can mature and induce a strong antitumor response. Thus, we propose to use the same strategy to induce mature DC with the potential capacity to induce a strong antitumoral response against OC, expanding the application of our technology to a wide kind of tumors. **Methods:** Classical OC antigens like: CEA, Erb2, Survivin and CA125 expression and calreticulin translocation was measured by flow cytometry, and HMGB1 secretion using ELISA on four ovarian cancer cell lines: Hey, Skov3, A2780 and CAOV3. Human monocyte derived DCs were stimulated with OC cell lysates, and then, maturation and coestimulatory molecules were analyzed by flow cytometry. The activation of T cells produced by the co-culture with the DCs, loaded with the lysates of OC cell lines, was measured by flow cytometry, elispot and cytotoxic assays. **Results:** The four ovarian cancer cell lines studied showed expression of the mentioned tumors antigens. Additionally, different levels of secreted-HMGB1 and translocated-calreticulin after heat shock condition were detected. Finally, OC cell lysates induced DCs maturation by overexpression of CD86, CD80, CD40, MHC I and MHC II. In addition, these DCs generated loaded with OC tumor lysates were able to generate the activation of CD4+ and CD8+ T cells, producing an increase in the secretion of IFN-g as well as Perforin and Granzyme B, in case of LT CD8+. Finally, in *in vitro* autologous model, the T cells co-cultivated with the DCs, loaded with the OC lysates, were capable of generating CD8+ lymphocyte-mediated cytotoxicity on the OC cell lines as well as the release of IFN-g from CD4+ T cells when they recognize tumor cells. **Discussion:** Based on these results, we propose OC cell lysates could be a very promising tool for DCs based immunotherapy against a tumor different from malignant melanoma. So our technology could be applicable to other kind of tumors.

Funded by grant FONDEF D1111036; FONDECYT 1130324; IMII P09/016F and CONICYT Scholarship 21161736.



MA018

An allogeneic melanoma conditioned lysate induces directly on T cells the mobilization inside solid tumors

Camila Fuentes^{1,2}, Fabian Tempio^{1,2}, Daniel Hevia^{1,2}, Ivan Flores^{1,2}, Flavio Salazar-Onfray^{1,2}, Lopez Mercedes N.^{1,2}.

⁽¹⁾ Programa de Inmunología, Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Universidad de Chile.

Conventional therapies against cancer are ineffective in late stages and generate strong negative side effects. Thereby, the generation of new alternative or complementary therapies to currently used ones are imperative. As such, previous results have shown the effectiveness of using TAPcells[®] (Tumor Antigen Presenting cells) vaccination in patients with advanced melanoma. This treatment consists of treating patients with DCs loaded with an allogeneic melanoma cell lysate called TRIMEL[®]. Responder patients recorded cellular responses with a positive correlation between the delayed hypersensitivity reaction (DTH) against tumor antigens and increased their survival. However, the effector mechanisms by which TRIMEL[®] induces an antitumor response is not fully determined. Thereby, using different approaches, this work attempts to elucidate how does TRIMEL[®] modulates other immune populations, besides dendritic cells, to induce a potent antitumoral response. Using B16 melanoma murine model, our results showed that vaccination using a mixture of murine and human melanoma cell lysate induces a strong reduction in tumor growth accompanied by a potent induction of T cell infiltration into the tumor. Interestingly, our clinical results showed an increase in the CD4+ CXCR3+ T cell population only in the DTH of responder patients, after TAPcell[®] treatment. On the other hand, our in vitro preliminary results showed that TRIMEL[®] increases the expression of the chemokine receptor CXCR3 on human CD4+ T cells. This receptor induces the homing of T cells towards tumoral site and has been associated as a positive prognostic marker in diverse types of cancer. Thereby, we propose TRIMEL[®] treatment itself generates the mobilization and infiltration of antitumoral lymphocytes towards the tumor as a possible effector mechanism favoring the reduction on tumor size.

Funded by grant FONDEFD1111036; FONDECYT1130324; IMIII P09/016F and CONICYT Scholarship 21180616.



MA019

Role of the KDEL receptor in actin remodeling and function of the immune synapse in B lymphocytes

Danitza Fuentes¹, Jorge Ibañez¹, Jorge Cancino², María Isabel Yuseff¹. ⁽¹⁾ Biología Celular y Molecular, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Centro de Biología Celular y Biomedicina, Universidad San Sebastián, Santiago, CL.

The interaction of B lymphocytes with immobilized antigens triggers the formation of an immune synapse (IS), characterized by a polarized phenotype that involves dynamic actin cytoskeletal remodeling as well as recruitment of the centrosome and lysosomes to the site of antigen encounter. Antigen engagement and processing in B cells increases the biosynthesis and transport of MHC-II molecules from endoplasmic reticulum (ER) to Golgi apparatus. Interestingly, we observed that the Golgi apparatus is localized closely to the IS upon activation, suggesting that proteins from this pathway are delivered directly to this domain. A higher demand of the secretory pathway generates a misbalance between the ER and Golgi and is resolved by the KDEL receptor (KDELR), which allows the retrieval of proteins from the Golgi to ER. KDELR trafficking is associated to signaling downstream Src-family kinases, which further activates Arp2/3 to promote actin polymerization. Mutations in KDELR generate lymphopenia and alter the development of B cells and T cell activation, suggesting that KDELR could regulate formation and function of the IS in B cells to promote their efficient activation. For this, we propose to study the role of KDELR in actin cytoskeleton remodeling, antigen capture, processing and presentation. Interestingly, our results show that B cells silenced for the KDELR or expressing a dominant negative form of this receptor display defects in lysosome polarization to the IS which leads to impaired extraction and presentation of immobilized antigens. Additionally, these cells display altered actin cytoskeletal remodeling at the IS, as highlighted by defects in their spreading capacity in response to immobilized antigen. In conclusion, KDELR controls actin cytoskeletal remodeling at the synaptic membrane to promote spreading and lysosomes recruitment thereby allowing extraction of antigens at the IS. These results support a novel mechanism that connects the secretory pathway to cytoskeleton remodeling at the IS during B cell activation.

This work was supported by FONDECYT REGULAR # 1180900 research grant to MIY.

MA020

Determination of the activation of the IRE1 α sensor of the unfolded protein response (UPR) in intratumoral dendritic cells

Sandra Gaete^{1,2}, María Rosa Bono³, Fabiola Osorio¹. ⁽¹⁾Laboratorio de inmunología y estrés celular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾Programa Magíster en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. ⁽³⁾Laboratorio de inmunología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Dendritic cells (DCs) had emerged as attractive candidates in cancer immunotherapy due to their high plasticity and contribution to the induction of adaptive immunity. As a major organelle responsible of protein synthesis, the endoplasmic reticulum (ER) has emerged as a central hub of the immune response onset, where it contributes to key immunological processes such as antigen presentation and cytokine production. The intracellular signaling cascade known as Unfolding Protein Response (UPR) is the main signal transduction pathway monitoring protein homeostasis in the ER and has shown to control crucial processes in the biology of DCs including ER architecture, expression of integrins and antigen presentation. Therefore, manipulation of UPR could be a rising strategy to modulate DCs function during the activation of the antitumoral immune response. In this thesis work, we studied how the tumor niche activates the UPR branch controlled by the sensor IRE1 α and its transcription factor XBP-1s, in DCs isolated from tumors and tumor draining lymph nodes (TdLNs), in a murine model of melanoma induced by inoculation of B16-OVA cells. For this purpose we have used two approaches: 1) We have identified the diversity of immune cell types expressing XBP-1s in the tumor and lymph nodes of mice by multiparametric 14-colors flow cytometry through the use of a transgenic mice line, ERAI (ER stress Activated Indicator), which carry the XBP-1 sequence fused to Venus FP, allowing the ex vivo monitoring of XBP-1s signal. To obtain high number of DCs for analysis, we have expanded them by using a B16 melanoma cell line transduced with the gene coding for the cytokine Flt3L, which is required for the induction of differentiation of cDCs. The ongoing work is to sort intratumoral DCs subtypes cDC1 and cDC2 aiming to study the expression of XBP-1s target genes by qPCR in these cell types, which will allow us to quantify the activation of the UPR IRE1 α /XBP-1s axis and its target genes and correlate it with the immunogenicity of these cells by expression of costimulatory molecules and quantification of IL-12 production.

This work is supported by Fondecyt N°1161212, Howard Hughes Medical Institute International Research Scholar Grant (HHMI 55008744), and CONICYT-PFCHA/Magíster Nacional/2017 - 22171230.

MA021

Therapeutic interferon (IFN)-gamma in experimental autoimmune encephalomyelitis is dependent on regulatory T cells induction by CD11b+ cells

Gabriel Arellano¹, Eric Acuña¹, Juan Tichauer¹, SD Miller², Rodrigo Naves¹. ⁽¹⁾ Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Microbiology-Immunology, Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago, US.

Introduction: Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune disease affecting the central nervous system (CNS), mainly mediated by T cells, and characterized by loss of immune tolerance, that includes a functional inactivation of regulatory T lymphocytes (Tregs). Previous results of our laboratory have shown that *in vivo* treatment with IFN- γ during the chronic phase of the animal model of MS, Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE), induced a significant amelioration of symptoms, associated with a significant increase of Tregs in the SNC of these mice. In this study, we determined the mechanisms by which IFN- γ induced Tregs-mediated EAE suppression. **Results:** Our results have shown that protective effects of IFN- γ -treatment in EAE mice developing chronic phase is dependent on FOXP3+ Tregs. *Ex vivo* Treg induction analysis using CD4+CD25- T lymphocytes obtained from EAE mice revealed that IFN- γ did not exert a direct effect on the induction of Tregs and that, on the contrary, this cytokine inhibited FOXP3 expression in conditions of iTregs differentiation (TGF- β + IL-2). The *in vivo* combined administration of IFN- γ and neutralizing antibodies against IL-10, TGF- β or PD-1, showed that the protective effect of IFN- γ in the chronic phase of EAE depends on TGF- β and programmed cell death (PD)-1 and its ligands (PD-Ls) signaling pathway, but not on IL-10. The analysis of regulatory molecules expression in different cell subpopulations obtained from EAE mice determined that IFN- γ treatment induced an increased expression of TGF- β (LAP) and PD-L1 on different subgroups of CD11b+ cells (antigen presenting cells). In addition, it was found that both *in vivo* and *in vitro*, IFN- γ -stimulated CD11b+ cells were able to induce in a TGF- β - and PD-L1-dependent manner an increase of Tregs frequency starting from naïve T CD4+ cells obtained from healthy (without EAE) wild type or 2D2 (expressing a specific TCR for myelin peptide) mice. **Conclusion:** These results revealed that the beneficial effects of IFN- γ during the chronic phase of EAE are related with an increase of Tregs in the SNC mediated by the expression of FOXP3, TGF- β and PD-1/PD-Ls pathway, and associated with an enhance in the expression of TGF- β and PD-L1 on CD11b+.

Supported by FONDECYT 1140049 (RN), CONICYT Doctoral fellowship 21130452 (GA) and MECESUP UCH 1304 (GA).



MA022

Expression of Toll-like receptors 2 and 4 in peripheral blood mononuclear cell and apical lesions of patients with chronic apical periodontitis

Cárdenas Gutiérrez Angélica María ^{1,2}, Mauricio Garrido ³, Alejandra Fernandez^{4,5}, Jessica Astorga⁵, Marcela Hernández^{5,6}. ⁽¹⁾ Dentistry Unit, Dentistry, Universidad de Santo Tomás. ⁽²⁾ Laboratory of Periodontal Biology, Dentistry, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Conservative Dentistry, Dentistry, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Oral Pathology, Dentistry, Universidad Andres Bello, Santiago, CL. ⁽⁵⁾ Laboratory of Periodontal Biology, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁶⁾ Dentistry Unit, Universidad Autónoma de Chile.

Background: Chronic Apical periodontitis (CAP) is the inflammation of the apical periodontium in response to the bacterial biofilm localized inside the root canal system. Its hallmark is the formation of an osteolytic apical lesion. The activation of the host's response against endodontic bacterial is mediated by Toll-like receptors (TLR) 2 and 4 but their role in the formation and/or progression of an apical lesion is unknown and hyperactive mononuclear cells have been reported in CAP as part of a systemic response. **Objective:** to compare the relative mRNA expression levels of TLR2 and TLR4 in apical lesions tissue samples and mononuclear cells of peripheral blood and from CAP patients and healthy controls. **Method:** Tissue samples consisting of apical lesions (n=15) and healthy periodontal ligament controls (n=11) were collected and homogenized. Fasting Blood samples from CAP (n=15) and healthy (n=11) patients were obtained and peripheral blood mononuclear cell (PBMC) fraction was isolated by Ficoll gradient. Inclusion criteria were systemically healthy individuals. Exclusion criteria were the presence of severe marginal periodontal diseases, obesity, anti-inflammatory and/or antibiotics treatment in the previous 3 months and pregnancy. Healthy controls accomplished for the same criteria and the absence of any tooth with CAP. Oral examination, medical history and classical cardiovascular risk factors were recorded. mRNA expression was determined by quantitative real-time PCR. Data analysis was performed using STATA v11 software. All p values **Results:** TLR2 mRNA relative expression levels were higher in CAP versus control tissues ($p < 0.05$), whereas TLR4 tended to be higher but not significant. TLR 2 and 4 did not show significant variations in PBMC. **Conclusion:** TLR2 expression levels increase in apical lesions, but the current results show no evidence of a systemic response.

FONDECYT 1160741.



MA023

Novel role of the thymus during inflammatory immune responses

Sarah Nuñez¹, Yessia Hidalgo², Justine Castañeda³, Daniela Sauma², Maria Rosa Bono², Mario Rosemblatt¹.

⁽¹⁾ Laboratorio de Inmunología Celular y Molecular, Fundación Ciencia y Vida, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Departamento Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL.

Introduction: The thymus is a generative lymphoid organ dedicated to the production of T cells. It is well known that this organ suffers gradual decline in size and T cell output with age; however, it is also sensitive to various stressors such as infection, which can drive a process of severe thymic atrophy. Several reports suggest that during infection there is recirculation of effector T cells to the thymus, however little is known regarding the trafficking of B cells to the thymus. Interestingly, we found that in human thymus there is an age-associated accumulation of memory B cells and plasma cells, and that a mouse model of lupus exhibits an abnormal accumulation of B cells. In our current work we focused on elucidating if inflammatory signals of infection can induce the migration of B cells to the thymus. **Materials and methods:** C57/BL6 and BALB/c mice were treated with LPS, Poly (I:C) or immunized with OVA+CFA/IFA. The frequency and phenotype of thymic B cells was analyzed by flow cytometry. Thymus morphology and distribution of B cells was examined by immunohistochemistry on frozen sections. **Results:** Our results show that treatments that mimic infection trigger acute thymic involution, evidenced by the reduction of thymic cell numbers and loss of thymic cortex. This is accompanied by an increase in the frequency of B cells. Histological analysis shows that in healthy untreated mice, small numbers of B cells are located in the medulla, whereas in treated mice, B cells accumulate at the cortico-medullary border in a clustered distribution. **Discussion:** Inflammatory signals can promote de accumulation of B cells in the thymus, suggesting that this occurs physiologically during to infection and may be a maladaptive response in autoimmune inflammation.

Funded by FONDECYT 3170424, FONDECYT 1140431, FONDECYT-Basal AFB170004 and FONDECYT 1180385.

MA024

TLR4, but not Dectin-1 or Dectin-2, participates in the proinflammatory effects induced by mollusk hemocyanins in antigen presenting cells of mammals

Jose M. Jimenez¹, Michelle Salazar¹, Sergio Arancibia¹, Javiera Villar¹, Fabian Salazar^{1,2}, Edward C. Lavelle³, Luisa Martinez-Pomares⁴, Gordon Brown², Augusto Manubens⁵, Maria Ines Becker^{1,5}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Inmunología, Fundación Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (FUCITED), Santiago, CL. ⁽²⁾ MRC Centre for Medical Mycology, University of Aberdeen, Aberdeen, GB. ⁽³⁾ School of Biochemistry and Immunology, Trinity College Dublin, Dublin, IR. ⁽⁴⁾ Faculty of Medicine & Health Sciences, University of Nottingham, Nottingham, GB. ⁽⁵⁾ Investigación y Desarrollo, Biosonda S.A., Santiago, CL.

Mollusk hemocyanins have biomedical uses as carrier/adjuvants and non-specific immunostimulants with beneficial clinical outcomes, because these glycoproteins trigger the production of proinflammatory cytokines by antigen presenting cells (APCs), driving immune responses towards a Th1 polarization. We have demonstrated that hemocyanins are internalized by APCs through receptor-mediated endocytosis with the participation of proteins that contain C-type lectin domains, such as Mannose Receptor (MR) and DC-SIGN, which recognize mannose-rich branched structures. However, the contribution of other innate immune receptors in the proinflammatory signaling pathway triggered by hemocyanins has not been described. Thus, we studied the role of Dectin-1, Dectin-2 and TLR4 in hemocyanin activation of APCs, for their recognition and response to carbohydrate-rich antigens, using hemocyanins from *Megathura crenulata* (KLH), *Concholepas concholepas* (CCH) and *Fissurella latimarginata* (FLH). The results demonstrated that Dectin-1 and Dectin-2 bound *in vitro* to these hemocyanins, which decreased when these glycoproteins were chemically or enzymatically deglycosylated. Nevertheless, NIH3T3 cell lines that overexpress Dectin-1 or Dectin-2, did not show greater uptake of hemocyanins labeled with fluorescent dyes. Moreover, when wild-type (WT) APCs were cultured with hemocyanins, phosphorylation of Syk kinase was not detected, although the inhibition of Syk kinase activity with piceatannol or BAY 61-3606, decreased the secretion of IL-6 and IL-12. Indeed, proinflammatory cytokine secretion and maturation of APCs induced by hemocyanins were independent on Dectin-1 and Dectin-2, because each one of related knock-out (KO) APCs did not exhibit significant differences, compared to WT APCs. On the other hand, APCs derived from the adaptor molecules Mal and MyD88 KO were partially activated by FLH, in comparison to WT APCs, suggesting a role of TLRs in hemocyanin recognition to activate innate immune cells. Furthermore, IL-6 secretion induced by FLH was entirely abolished in APCs derived from TLR4 KO. Collectively, these data support that TLR4 would be required for the hemocyanin proinflammatory response in APCs, and could collaborate with CLRs like MR, which does not have a signaling motif and therefore, require the cooperation with other receptors to trigger the signaling cascade, leading to the generation of a beneficial proinflammatory milieu by these mannosylated glycoproteins.

FONDECYT 1151337 (MIB); CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2013-21130683 (JJ).

MA025

Expresión de los ARNm para los receptores de dopamina en células mononucleares de sangre periférica de pacientes con tuberculosis pulmonar durante el tratamiento específico

D'Attilio Luciano D¹, Ariana Díaz¹, Matilde Imhoff¹, Fernandez Rocío DV¹, Bettina Bongiovanni¹, Natalia Santucci¹, Sabrina Bonzini², Evelyn Ortiz², Bottasso Oscar A¹, **María Luisa Bay**¹. ⁽¹⁾ IDICER, Facultad de Cs Médicas, CONICET-UNR, Rosario, AR. ⁽²⁾ Servicio de Neumonología, Hospital Carrasco, Rosario, AR.

La respuesta inmune (RI) celular hacia la micobacteria está implicada tanto en el control de la tuberculosis (TB) como en la generación del daño tisular. Durante su armado, se generan interacciones bidireccionales entre el Sistema Inmune y el Nervioso (SN), con participación central del eje hipotalámico-pituitario-adrenal y del SN simpático (SNS). Centrándonos en el SNS, las catecolaminas: Adrenalina-A; Noradrenalina-NA y Dopamina-DA modulan diversas funciones de las células inmunes. Estudios previos en pacientes con TB pulmonar (PTB) revelaron una desregulación neuro-endocrino-inmunológica (NEI) al momento del diagnóstico (T0), con elevados niveles plasmáticos de cortisol, DA, así como mediadores pro y antiinflamatorios. Esta desregulación NEI revierte durante el tratamiento específico acompañando la mejoría clínica del paciente, sin embargo, DA permanece aumentada. En base a estos resultados y dado que la actividad biológica de la DA depende de los receptores expresados sobre sus células blanco, investigamos la expresión de los transcritos (RT-qPCR) de los receptores de DA (DR) tipo 1 (DR-1 y DR-5, preferentemente inhibidores) y tipo 2 (DR-2, DR-3 y DR4, mayormente estimuladores) en células mononucleares periféricas (PBMC) de pacientes con PTB (n=18) al T0, durante el tratamiento anti-TB (2 meses:T2 y 6 meses:T6) y 3 meses después de finalizado (T9) así como en sujetos Sanos (HCo;n=17). A T0, los PTB expresaron menores niveles de DR3 (p<0.04) y DR4 (p<0.05) respecto a HCo y DR1 se halló sólo ligeramente aumentado. Considerando que el efecto de DA tiene que ver con la expresión celular de estos distintos tipos de DRs analizamos las relaciones entre los niveles de ARNm- DR1/ARNm-DR3 y ARNm-DR1/ARNm-DR4 (inhibición/estimulación), ambos aumentados en pacientes al momento del diagnóstico (DR1/DR3:p<0.04; DR1/DR4:p<0.04). Durante el tratamiento específico DR-4 y DR1 no presentaron diferencias significativas, aunque DR-3 aumento a T2 y T9 (Ej: T0vsT2, p<0.05). Ambas relaciones DR1/DR3 y DR1/DR4 disminuyeron sólo en T2 (T0vsT2; DR1/DR3: p<0.05 y DR1/DR4:p<0.05). Dado que la expresión en membrana de los DRs difiere de acuerdo al tipo celular, los resultados hallados, sumados al incremento en los niveles plasmáticos de DA, sea al diagnóstico y hasta el alta clínica del paciente, sugieren un rol modulador negativo de la DA a nivel periférico.



MA026

Proinflammatory innate immune profile elicited by a virulent *Mycobacterium bovis* isolate is restricted to the pathogen viability and depends on antigen presenting cells

Blanco Federico Carlos², Gravisaco María José², Bigi M.M.¹, García Elizabeth Andrea², **Fabiana Bigi**². ⁽¹⁾ FAUBA, CABA, AR. ⁽²⁾ Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA.

Bovine tuberculosis is an important animal and zoonotic disease caused by *Mycobacterium bovis*. The innate immune response is the first line of defense against pathogens and is also crucial for the development of an efficient adaptive immune response. In this study we used an in vitro co-culture model of antigen presenting cells (APC) and autologous lymphocytes to identify the cell populations and the immune mediators that participate in the development of an efficient innate response capable of controlling the intracellular replication of *M. bovis*. iNOS, IL-22 and IFN- γ were upregulated in bovine immune cell cultures after *M. bovis* infection. We found that the induction of the innate immune response was dependent on the presence of APC. Only a virulent and live *M. bovis* strain was able to induce an efficient innate immune response and this response was increased when we used *M. bovis* secreted compounds to stimulate the cell co-cultures. These results highlight the relevance of the compounds secreted by live *M. bovis* as well as the remarkable variability among *M. bovis* strains to induce an efficient innate immune response. The findings of this study will certainly contribute to the rational design of new vaccines against human and bovine tuberculosis.

PNBIO 11 31034 INTA.

MA027

Avaliação da PCR em tempo real em amostras de sangue e urina para o diagnóstico da tuberculose extrapulmonar

Danyele Mello¹, Silva Kessia², Costa Rayssa², Coutinho Ilyana², Sousa Luanna², Nascimento Andreza², Laet João Paulo², Santos Fabiana², Araújo Romário², Cruz Heidi³, Aquino Leonardo², Marcela Salazar², Peixoto Aline², Montenegro Lilian², Schindler Haiana². ⁽¹⁾ Biomedicina, Faculdade Integrada de Pernambuco, Recife, BR. ⁽²⁾ Departamento de Imunologia, FIOCRUZ, Instituto Aggeu Magalhães, Recife, BR. ⁽³⁾ Departamento de Genética, UFPE, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR.

A tuberculose (TB) é uma enfermidade infectocontagiosa, causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) e permanece como uma das doenças infecciosas com maior taxa de mortalidade no Brasil e no mundo. Comumente localiza-se nos pulmões, porém pode acometer qualquer órgão, caracterizando a tuberculose extrapulmonar (TBEP). O diagnóstico da TBEP possui limitações, uma vez que é paucibacilar. Entretanto, novas tecnologias vêm sendo otimizadas visando eficiência, rapidez e baixo custo na identificação do bacilo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho da PCR em tempo real em amostras de sangue e urina de pacientes com TBEP. Foram analisadas amostras de 164 pacientes, provenientes dos serviços públicos de saúde do Estado de Pernambuco, de janeiro de 2016 à abril de 2018. As amostras de urina foram coletadas em três dias consecutivos e o sangue foi coletado através de punção venosa em tubo de EDTA. As urinas foram descontaminadas pelo método de Petroff modificado e o sangue foi separado pela técnica de ficoll. O DNA foi extraído e submetido à PCR em tempo real. O alvo da PCR foi a sequência de inserção IS6110. Os produtos de PCR foram confirmados através de sequenciamento de DNA. Foram utilizados controles positivos (DNA da cepa H37Rv do *Mtb*) e controles negativos (água). As amostras foram analisadas em conjunto, e a PCR foi positiva quando houve detecção do DNA em pelo menos uma das amostras (sangue ou urina). Os resultados mostraram sensibilidade de 48,72%, especificidade de 91,86%. Embora o valor da especificidade tenha sido alto, a técnica mostrou uma sensibilidade razoável, o que demonstra que quando a PCR é positiva, leva a uma investigação com mais detalhes da presença de tuberculose nesses pacientes. Ainda assim, a técnica pode ser considerada uma ferramenta auxiliar no diagnóstico da TBEP, uma vez que a doença apresenta difícil diagnóstico, por ser paucibacilar e apresentar sintomas inespecíficos. Sendo assim, sangue e urina podem ser utilizados como alternativa para evitar a coleta de amostras invasivas, já que a TBEP normalmente situa-se em sítios de difícil acesso.

Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE; Fundação Oswaldo Cruz - IAM/FIOCRUZ.

MA028

Genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from a high-endemic city in state of Pernambuco Northeast, Brazil

De Oliveira Thaynan Sama Alves¹, Araujo Ana Albertina², Do Nascimento Andreza Souza³, Schindler Haiana Charifker⁴, **Da Silva Rabello Michelle Christiane Michelle C⁵**. ⁽¹⁾ Lab. de Imunoparasitologia, Imunologia, Instituto Aggeu Magalhães-Fiocruz, Recife, BR. ⁽²⁾ Bacteriologia, Laboratório Municipal de Saúde Pública de Recife, Recife, BR. ⁽³⁾ Lab. de Imunoepidemiologia, Imunologia, Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz, Recife, BR. ⁽⁴⁾ Lab. de Imunoepidemiologia, Imunologia, Instituto Aggeu Magalhães, Recife, BR. ⁽⁵⁾ Lab de Imunoparasitologia, Imunologia, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz, Recife, BR.

Tuberculosis (TB) remains a major public health challenge in Brazil. Even though the incidence and mortality rates have been decreased they are still alarming. Pernambuco is one of the Brazilian states that presented high rates of incidence and mortality. Its capital, Recife, is considered the third most incident capital of the country for TB. The aim of this study was to perform a preliminary epidemiological investigation of TB cases in Recife. A total of 179 *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) isolates collected of cultures from sputum samples of new or previously treated patients with a diagnosis of pulmonary TB. The isolates were analyzed by 24 variable-number tandem repeats (VNTR) mycobacterial interspersed repetitive-unit (MIRU) loci. MIRU-VNTR plus web applications were used to identify the strain genotypes and to generate phylogenetic trees. Based on the position on the phylogenetic tree, 87.15% of the strains were associated with lineage 4. MIRU-VNTR type of isolates resulted in 165 patterns, among then we observed 158 unique strains and 7 clusters containing 2 to 7 clusters per cluster and belonged to the following genotypic lineages: Latin American and Mediterranean (LAM) (48,6%), Haarlem (36,9%), Beijing (3,9%), S (1,1%), X (0,5%), East Indian African (1,1%), and unknown patterns (3,3%). Analyzing the clusters and the residence address of each patient, we observed that the majority of isolates from clusters were related to the population from 3 male prisons of Recife. Strains clusters of prisons are also circulating in the population of the city of Recife, regardless of gender. We conclude that the prison can be one of the main sources of tuberculosis transmission in Recife. However, future temporal studies of molecular epidemiology in Pernambuco are needed to identify the probable source of tuberculosis transmission.

Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) APQ 0054-2.12/14.

MA029

Ocorrência de multidroga resistência primária na hanseníase em região de pós-eliminação no Brasil

Finardi Amanda Juliane¹, Oliveira Nathan Guilherme¹, Moraes Eloise Brasil¹, Luiza Pinheiro², Diorio Suzana Madeira¹, Suffys Philip Noel³, Rosa Patricia Sammarco⁴, Dias-Baptista Ida Maria Foschiani¹. ⁽¹⁾ Microbiologia, ILSL, Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, BR. ⁽²⁾ Patologia, ILSL, Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Biologia Molecular Aplicada a Micobactérias, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, BR. ⁽⁴⁾ Biologia, ILSL, Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, BR.

Introdução: A introdução de multidrogaterapia (MTD), em 1982, possibilitou uma redução significativa nas taxas de prevalência e nas taxas de detecção da hanseníase. Isso não alterou o número de novos casos e na última década foram diagnosticados por ano cerca de 35.000 pacientes com hanseníase no Brasil, e resistência as drogas do tratamento vem sendo observada. Especificamente no Estado de São Paulo, esta foi eliminada como problema de saúde pública desde 2005, algumas regiões do estado ainda apresentam bolsões de incidência, reforçando a necessidade da vigilância à resistência a drogas em isolados de *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) para o efetivo controle da doença e manutenção da eliminação. **Metodologia:** Um total de 113 biópsias de pele dos casos novos e recorrentes de pacientes com suspeita de hanseníase, atendidos no ambulatório de hanseníase do Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, São Paulo, Brasil, no período 2004 a 2013 foram submetidas a extração de DNA para análise de fragmentos de 16 loci VNTR (Variable-Number Tandem-Repeat) e detecção de resistência por sequenciamento direto de sítios polimórficos do *rhoB* e *folP1*. **Resultados:** Dos 113 isolados de *M. leprae*, 108 foram sensíveis para rifampicina e dapsona. Em 4 isolados foram detectadas mono resistência a dapsona com mutações no códon 55 CCC-CTC (Pro-Leu) e CCC-CGC (Pro-Arg) e 1 isolado apresentou multirresistência a dapsona e rifampicina com mutações nos códons 55 CCC-CGC (Pro-Arg) e TCG-TTG (Ser-Leu) respectivamente. Os dados apresentados mostraram que 4 casos com resistência a dapsona já haviam sido diagnosticados anteriormente com hanseníase e o caso multirresistente teve seu diagnostico no ano de 2012, e portanto trata-se de um caso resistência primária a drogas. Os isolados foram submetidos aos 16 loci VNTRs, no entanto não foram identificados links genéticos ou epidemiológicos. **Conclusão:** Os primeiros casos de resistência foram detectados no início da década de 1960, desde então, casos de resistência vêm sendo registrados. Nesse estudo relatamos a ocorrência de resistência primária em área de pós- eliminação, sendo provável a existência de isolados circulando ativamente. Assim reforçamos a necessidade de identificar a real distribuição de casos com resistência MDR e primária.

MA030

Fluoromycobacteriophages for rapid TB diagnosis in sputum samples and phenotypic drug susceptibility testing

Liliana Rondón¹, Estefanía Urdániz¹, Cecilia Latini², Florencia Payaslian¹, Mario Matteo², Ezequiel J Sosa³, Darío Fernández Do Porto³, Adrián G Turjanski¹, Sergio Nemirovsky¹, Graham F Hatfull⁴, Susana Poggi², Mariana Piuri¹. ⁽¹⁾ Depto. de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, AR. ⁽²⁾ Hospital de Infecciosas Dr. F.J. Muñiz, Instituto Prof. Dr. Raúl Vaccarezza, Buenos Aires, AR. ⁽³⁾ Plataforma Bioinformática Argentina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, AR.

⁽⁴⁾ Department of Biological Sciences and Pittsburgh Bacteriophage Institute, University of Pittsburgh, Pittsburgh, US.

Despite substantial advances in diagnosis and treatment of tuberculosis (TB), this disease remains a significant global health threat. The WHO estimates that 40% of tuberculosis cases go undiagnosed and consequently not treated. Ziehl Neelsen staining of *Mycobacterium spp.* in sputum, with subsequent culture is often the method of choice. Culture methodology is laborious and takes 3-6 weeks to report the presence of viable mycobacteria in the sample and a few additional weeks for DST. Fluoromycobacteriophages -reporter phages containing a fluorescent reporter gene – have potential for rapid diagnosis and DST of tuberculosis clinical isolates. Recently, we described the construction of a new fluoromycobacteriophage, *mCherry_{bomb} Φ*, which express *mCherry_{bomb}* gene in mycobacteria. This phage is thermosensitive and at 37°C does not lyse cells allowing rapid detection of fluorescent mycobacteria by fluorescence microscopy, fluorimetry or flow cytometry. Also, it can rapidly and easily reveal the metabolic state of *M. tuberculosis* and consequently report its response to antibiotics. Furthermore, fluorescence microscopy is available in many clinical laboratories, and fixation of cells with paraformaldehyde after infection reduces biohazard concerns. Here, we report evaluation of the new *mCherry_{bomb} Φ* for detection of *M. tuberculosis* and rifampicin resistance in 283 sputum samples from presumptive TB patients in Buenos Aires city using fluorescence microscopy. We also evaluated the use of p-nitrobenzoic acid for selective inhibition of members of the *M. tuberculosis* complex to distinguish from atypical or non-tuberculous mycobacteria. When we evaluated the performance of *mCherry_{bomb} Φ* compared to the reference method the sensitivity and specificity reached values of 91.98 and 98.96%, respectively. Additionally, we established conditions for determination of susceptibility to other antibiotics that discriminate between multi-drug resistant TB (MDR-TB); extremely-drug resistant TB (XDR- TB), or pre-XDR. We did whole genome sequencing of XDR-TB strains from this study to identify the genetic determinants of antibiotic resistance. We found some discrepancies between genotypic and phenotypic results and for some antibiotic resistant clinical isolates we were not able to identify any known gene mutations that could explain the observed phenotype. These results underscore the importance of rapid methods that evaluate phenotypic resistance in clinical *M. tuberculosis* isolates.

Our research has been funded by several international and local agencies including: NIH, CONICET, and ANPCyT.

MA031

Patients with isoniazid-mono-resistant tuberculosis in the state of São Paulo, Brazil: mutations, phenotypic resistance levels and treatment outcomes

Pinhata Juliana M W¹, Mendes Flavia F¹, Galesi Vera M N², Oliveira Rosângela S¹. ⁽¹⁾ Bacteriologia, Coordenadoria de Controle de Doenças, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, BR. ⁽²⁾ Divisão de Controle da Tuberculose, Coordenadoria de Controle de Doenças, Centro de Vigilância Epidemiológica, São Paulo, BR.

Mutations at codon 315 of the *katG* gene and at the promoter region of the *inhA* gene are respectively associated with high- and low-level phenotypic resistance to isoniazid (INH). A total of 203 *Mycobacterium tuberculosis* isolates from patients diagnosed with INH-resistant TB (isolates resistant to 0.1 µg/mL of INH by MGIT 960) in the state of São Paulo, Brazil, in 2016, were analyzed. One isolate per patient was included. Mutations in *katG* and *inhA* genes were screened with the MTBDR_{plus} 2.0 kit. INH at concentrations of 1, 3 and 10 µg/mL was tested by MGIT 960. Patients' data were obtained from the TBWEB, a web-based system in which tuberculosis patients from São Paulo are notified. Among the 203 isolates, 111 (54.7%) were mono-resistant to INH. Of these, 79 (71.2%) had low-level resistance, while 25 (22.5%) and 7 (6.3%) had respectively intermediate and high-level resistance. Of the 111 mono-resistant isolates, 24 (21.6%) showed the *katG* S315T1 (Ser315Thr) mutation, 54 (48.7%) had the *inhA* C-15T substitution and 33 (29.7%) showed no mutation in any of the genes. The mutation frequency in *katG* was higher in isolates with intermediate resistance in comparison to isolates with low-level resistance (59.4% vs 6.3%, $p < 0.0001$). Similarly, the *inhA* mutation was more frequent in low-level resistant isolates when compared to intermediate isolates (67.1% vs 3.1%, $p < 0.0001$). All the 7 high-level resistant isolates did not show any mutation in the target genes. Of the 111 mono-resistant patients, 71 (64%) were new TB cases and 40 (36%) were retreatment cases. The *inhA* mutation frequency in new cases was higher than in retreatment cases (54.9% vs 37.5%), while retreatment patients presented a higher frequency of isolates with no mutation in comparison to new cases (40% vs 23.9%); however, these differences were not significant. The cure rates for patients with low-, intermediate and high-level INH resistance were 78.1%, 65.2% and 80%, respectively. The molecular diagnosis of INH resistance should be improved because phenotypically INH-resistant isolates from São Paulo, Brazil, including isolates with higher levels of resistance, do not have mutations in the target genes.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

MA032

Tuberculosis pulmonar grave: búsqueda de marcadores de valor pronóstico en patogenicidad y virulencia

Gonzalo Greif¹, Joaquin Hurtado¹, Cecilia Coitinho², Nicolas Nin³, Maria Buroni⁴, Alvaro Giordano⁴, Javier Hurtado⁴, Carlos Robello^{1,5}. ⁽¹⁾ Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur Montevideo. ⁽²⁾ Comisión Honoraria de Lucha Antituberculosa, Ministerio de Salud Pública, Montevideo, UY. ⁽³⁾ Unidad de Medicina Intensiva (UMI), Hospital Español-ASSE, Montevideo, UY. ⁽⁴⁾ Unidad de Medicina Intensiva (UMI), Hospital Español (ASSE), Montevideo, UY. ⁽⁵⁾ Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la Republica, Montevideo, UY.

Background: La Tuberculosis es la primera causa de muerte por un agente infeccioso en el mundo, provocando 1,7 millones de fallecidos anualmente. En Uruguay se observa un incremento de los casos desde 2006, con una incidencia en la población general de 30 casos cada 100.000 habitantes. Esta incidencia puede aumentar más de 50 veces en determinadas poblaciones (personas privadas de libertad, personas HIV positivas, etc.). **Metodología:** El objetivo de este trabajo es el estudio de pacientes con tuberculosis pulmonar grave, para lo cual se conformó un equipo multidisciplinario de investigación traslacional. A nivel internacional, las series de TB grave en pacientes críticos son muy escasas y en nuestro país no existen reportes previos. Se trabajó con pacientes con tuberculosis pulmonar grave, internados en la Unidad de Medicina Intensiva del Hospital Español (Montevideo, Uruguay), con un enfoque integral que van desde los aspectos clínicos (identificación de factores de morbi-mortalidad) hasta la caracterización molecular del patógeno y la respuesta del hospedero. Desde el punto de vista del patógeno se realiza la caracterización de los genotipos mediante Spoligotyping y MIRU-VNTR de las cepas causantes de la enfermedad (comparando con aislados de la población general). Desde el punto de vista del hospedero, se están estudiando las poblaciones de pequeños ARNs de fluidos biológicos con el objetivo de generar marcadores moleculares de valor pronóstico. **Resultados:** Los genotipos observados hasta el momento muestran un predominio de cepas del linaje Haarlem (56.3%) en las muestras de pacientes en terapia intensiva (vs 39% de presencia del linaje Haarlem en la población general). En cuanto al hospedero, los resultados preliminares de perfiles de ARNs pequeños provenientes pacientes, muestran un patrón diferencial en individuos infectados. El análisis de los datos está siendo profundizado, de forma de aumentar el número de muestras y la profundidad de secuenciado. **Conclusiones:** A través del presente proyecto se obtendrá información respecto a cuales cepas circulan en el país y cuales son causantes de casos graves de la enfermedad. Asimismo, la búsqueda de marcadores en fluidos biológicos pueda dar pistas sobre la evolución de la enfermedad así como información valiosa desde el punto de vista clínico.

Fondo Sectorial de Salud (FSS_X_2016_1_127692). ANII, Uruguay.

MA033

Effect of *Curcuma longa* L. extract on *in vitro* infection by *Staphylococcus aureus* in murin macrophage (RAW 264.7)

Figueira Leandro Wagner¹, Oliveira Jonatas Rafael¹, Camargo Samira Esteves Afonso¹, Oliveira Luciane Dias¹.

⁽¹⁾ Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal, Universidade estadual Julio de Mesquita Filho, ICT/UNESP - Instituto de Ciências e Tecnologia de São José dos Campos, São José dos Campos, BR.

Humans live in constant contact with microorganisms, commensals and pathogens, which can threaten host homeostasis. Pathogenic species present mechanisms able to circumvent the host defense barriers, facilitating their dissemination and proliferation in the invaded tissues. Antimicrobial resistant strains appear daily, so it is important to find alternative methods to control them. Medicinal plant products have been investigated for this purpose. In the present study, the ability of the *C. longa* L. extract to control *S. aureus in vitro* infection in murine macrophages (RAW 264.7) was evaluated. For this, the minimum inhibitory concentration (MIC) of the vegetal extract against *S. aureus* was determined. Macrophages were added in a 24-well plate and incubated for 24h at 37 °C and 5% CO₂. Subsequently, *S. aureus* infection was induced. Microbial suspensions at 10⁷ UFC/mL were prepared in sterile saline solution (NaCl 0.9%) from 24h cultures formed on agar. Then, the solutions containing the products to be evaluated were prepared in DMEM, so that the final concentration matched their MICs. The infection and treatments with the vegetal and antimicrobial product were made simultaneously. After induction infection and treatment with plant extract and antimicrobial, macrophages were lysed with sterile distilled water to determine colony forming units. The viability of the macrophages was analyzed by colorimetric test with neutral red dye. The results were analyzed by ANOVA and Tukey's Test ($P \leq 0.05$). It was verified that the extract of *C. Longa* L. effectively assisted the macrophages in the phagocytosis of the evaluated microorganism, presenting significant reductions of colony forming units per milliliter (CFU / mL). Macrophages were viable during infection. In this way, it was verified that the *C. longa* L. extract was able to assist the macrophages during the elimination of *S. aureus in vitro* infection.

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.



MA034

Estudio de la actividad formadora de poros de mutantes en una posible región transmembrana del péptido antibacteriano microcina E492

Altamirano Álvaro S.¹, Marcoleta Andrés Esteban², Rosalba Lagos². ⁽¹⁾ Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago de Chile, CL. ⁽²⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago de Chile, CL.

Background: La Microcina E492 (MccE492) es una bacteriocina de ~8 kDa producida por *Klebsiella pneumoniae*, la cual posee actividad antibacteriana sobre distintas enterobacterias. Resultados previos indican que dicha actividad tóxica radicaría en su capacidad de formar canales iónicos o poros específicos de cationes en bicapas fosfolipídicas, para lo cual requeriría un segmento de carácter hidrofóbico en su estructura primaria. Algoritmos bioinformáticos sugieren que los residuos aminoacídicos 21 al 44 de la MccE492 conformarían regiones transmembrana de dicho péptido. Para investigar la importancia de la mencionada región sobre la formación de poros y la actividad antimicrobiana de la MccE492, se estudiará la actividad permeabilizadora de liposomas *in vitro* de las versiones mutantes Δ 33-36 y A37P de la MccE492, las cuales no poseen actividad antimicrobiana. **Methods:** Se prepararon liposomas a partir de extractos lipídicos de *E. coli*, cargados con el fluoróforo Sulforodamina B (SRB) a una concentración en la que ocurre el fenómeno de auto-apagamiento (50 mM). Dichos liposomas fueron incubados con las distintas versiones de la MccE492, registrando el aumento de fluorescencia en el tiempo, producida por la permeabilización de la membrana liposomal y la consecuente liberación de la sonda fluorescente. Se calculó el porcentaje de permeabilización usando como referencia la fluorescencia obtenida al permeabilizar los liposomas con Tritón X-100. **Results:** Al cabo de 11 h, se alcanzó una permeabilización de un 20-60% para las suspensiones con todas las variantes de la MccE492, sin que se observe una mayor o menor actividad formadora de poros en las mutantes Δ 33-36 y A37P respecto a la proteína silvestre. **Conclusion:** Los aminoácidos 33-37 de la MccE492, ubicados en una posible región transmembrana, no son determinantes para la actividad formadora de poros de dicho péptido. La ausencia de actividad antibacteriana de las mutantes Δ 33-36 y A37P se debería a factores no relacionados directamente con su capacidad para permeabilizar membranas lipídicas.

Proyecto FONDECYT 1140430 (RL), REDI170480 (A. Marcoleta).



MA035

Novel antiviral effect of cetylpyridinium chloride against Herpes simplex viruses evaluated in human fibroblasts

Diana Alvarez¹, Luisa Duarte¹, Patricio Smith², Pablo González¹. ⁽¹⁾ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Odontología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago de Chile, CL.

Herpes simplex viruses are double-stranded DNA viruses known to cause numerous diseases, such as skin lesions in the oro-facial area, herpetic gingivostomatitis, herpetic keratitis, and encephalitis, among others. The antiviral acyclovir is commonly used for systemic and topical treatment of HSV but is poorly effective in treating skin lesions, and several clinical studies have reported resistance in the immunosuppressed. Cetylpyridinium chloride (CPC) is a quaternary ammonium compound that is a cationic surfactant and has been previously described to have antimicrobial (fungicidal and bactericidal) properties. More recently, it was shown to hamper influenza virus infection. Here, we evaluated the potential antiviral properties for CPC against herpes simplex viruses type 1 and type 2 (HSV-1 and HSV-2) in primary human gingival fibroblasts. We used an HSV-1 virus that expresses a green fluorescent protein (GFP) in the form of a fusion protein with the viral capsid protein VP26 and an HSV-2 virus that encodes a non-structural form of GFP. To evaluate the cytotoxic activity of CPC and its effect on cell viability, we used the fluorescent redox indicator resazurin. We found that CPC displays antiviral activity against HSV-1 and HSV-2, notably when applied after infection. Importantly, CPC reduced virus plaque formation, virus-encoded viral protein expression (glycoprotein B and glycoprotein D), decreased the expression of a reporter gene encoded within the genome (GFP) and reduced the presence of viral genomes in infected cells (qPCR). The antiviral effects of CPC was accompanied by low cytotoxic effects in primary human gingival fibroblast. Taken together, CPC has antiviral effects over HSV, different from a virucidal activity. Our data suggest that CPC likely affects early events in the replication cycle of HSV. However, additional experiments are needed to determine the exact mechanism of action of CPC against HSV.

MA036

Perfil de sensibilidade de bactérias patogênicas, isoladas de leite cru, a antimicrobianos veterinários

Alves Bruno K.¹, Santos Alisson C. A.¹, Araújo Lorena G¹, Cesar Kellyane K. F. A¹, Nascimento Maria P. S.¹, Santos João V. C. O.¹, Silva Tatiane A¹, Lopes Joyce B. A.¹, Calvet Rodrigo M.¹, Oliveira Kleydejany L. L.². ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia do IFMA - Campus Caxias, IFMA, Caxias, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Microbiologia do IFMA - Campus Maracanã, IFMA, São Luís, BR.

Bactérias resistentes a antimicrobianos quando presentes em abundância na cadeia alimentar podem prejudicar futuras opções de tratamento para diversas infecções; pois podem transferir seus genes de resistência entre as bactérias presentes no organismo humano. Diante desse contexto o presente trabalho teve o objetivo de avaliar o perfil de sensibilidade de bactérias patogênicas, isoladas de leite cru de regiões do estado do Maranhão, Brasil, a antibióticos veterinários; verificando o potencial de resistência apresentado por elas. Foram feitas duas visitas em cada farmácia agropecuária do município de Caxias, Maranhão, para pesquisa da variedade dos medicamentos utilizados na prevenção e tratamento de mastite. A partir deste levantamento foram adquiridos nove medicamentos, sendo eles: um a base de cefalotina sódica, dois de gentamicina, dois de oxitetraciclina dihidratada; um de oxitetraciclina base; um combinado de penicilina G, dihidroestreptomicina e neomicina; e dois combinados de penicilina G e dihidroestreptomicina. Os testes foram realizados através da técnica de difusão em discos de papel filtro impregnados com 10 µL do medicamento na concentração original em placas contendo ágar Müller Hilton, as quais foram incubadas em estufa a 35 ± 2°C por 24 horas. A interpretação dos halos de inibição foi realizada de acordo com os critérios estabelecidos pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Foram avaliadas quatro cepas identificadas como: *Acinetobacter baumannii*; *Acinetobacter septicus*; *Klebsiella* sp. e *Staphylococcus epidermidis*. A cepa *Acinetobacter baumannii*; foi sensível a cefalotina sódica, gentamicina, e combinados de penicilina G e dihidroestreptomicina e apresentou resistência às tetraciclinas. *Acinetobacter septicus* apresentou perfil intermediário a cefalotina sódica e sensível a todos os outros medicamentos. As cepas *S. epidermidis*; e *Klebsiella* sp. mostraram-se sensíveis a todos os antibióticos utilizados nos testes. A execução de testes de sensibilidade antimicrobiana é importante na escolha do tratamento adequado contra infecções bacterianas, mas é fundamental o cuidado a fim de se evitar a dispersão de bactérias resistentes e genes de resistência a antimicrobianos na cadeia alimentar.

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão.

MA037

Antimicrobials resistance of enteroaggregative *Escherichia coli* strains isolated from nourished and malnourished children from Fortaleza, Ceará, Brazil

Amaral Marília Maia¹, Santos Ana Karolina Silva¹, Veras Herlice Nascimento¹, Bona Mariana Duarte¹, Sampaio Geovana Mesquita¹, Freitas Thiago Miranda¹, Prata Mara Gondim¹, Medeiros Pedro Henrique Quintela¹, Alexandre Havt¹, Lima Aldo Ângelo Moreira¹. ⁽¹⁾ Department of Pathology and Legal Medicine, Faculty of medicine, Federal University of Ceara, Fortaleza, BR.

Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) is an enteric pathogen which is associated with different clinical outcomes, from subclinical to clinical infections. EAEC shows high prevalence, especially in children under five years of age and there is a lack of data of antimicrobials resistance at the primary care and community-based study. This case-control study aimed to determine the antimicrobials resistance of EAEC strains among cases (malnourished children) and controls (nourished children) at Fortaleza-CE, Brazil. The study included 313 children aged 6-24 months, with 152 cases and 161 controls. Cases were defined as children with weight-for-age z score (WAZ) < -2, while controls were defined as WAZ > -1. Fecal samples were collected and evaluated for EAEC diagnosis genes (*aiiC* and *aatA*) by polymerase chain reaction (PCR). The positive samples were tested by antimicrobial susceptibility test (TSA) by diffusion disc for 12 antimicrobials: ceftriaxone, ertapenem, aztreonam, ceftazidime, ceftazidime/clavulanic acid, cefoxitin, ciprofloxacin, sulfamethoxazole/trimethoprim, ampicillin, ampicillin/sulbactam, gentamicin and azithromycin (Etest). Multidrug resistance was defined as resistance against three or more antibiotics from different groups. EAEC was diagnosed in 30% (94/313) of the population, 54 cases and 40 controls, and EAEC infections were significantly associated with cases of malnutrition, (P=0.0483, OD=1.667, IC 95% 1.023-2.716). The phenotypes of resistance against at least one drug and multidrug resistance were 63.83% (60/94) and 22.3% (21/94), respectively. The highest resistance rate was for ampicillin - 58.5% (55/94), followed by the sulfamethoxazole-trimethoprim combination - 55.3% (52/94). In contrast, moderate and low resistance rates were against azithromycin with 24.4%, (23/94) and ampicillin-sulbactam with 7.4% (7/94), respectively. One sample was positive for extended spectrum beta-lactamase (ESBL). There was no statistical association between antimicrobial resistance and malnutrition (P=0.287, OD=1.609, IC 95% 0.6873-3.765). In conclusion, these results showed that EAEC infections are associated with infant malnutrition and present high rates of antimicrobials resistance at Fortaleza-CE, Brazil.

Funding by: Bill and Melinda Gates Foundation, CNPq, Funcap.

MA038

Actividad antifúngica *in vitro* del colutorio bucal con extracto orgánico de *Lepechinia meyenii* "Salvia" frente a cepas de *Candida spp.* aisladas de pacientes con prótesis dental

Angela Ampuero León¹, Ruth Cristobal Delgado¹, Alejandro Barrenechea De La Fuente¹, Omhar Chavez Usca¹.

⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Celulares y Moleculares, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, PE.

El uso de plantas medicinales contra infecciones por microorganismos es bien conocido en la medicina tradicional peruana. El total de metabolitos biológicamente activos contra microorganismos presentes en estas plantas se desconoce. Entre los diferentes grupos de microorganismos causantes de infecciones, las levaduras del género *Candida* ocasionan afecciones a la zona orofaríngea y gingival en adultos y adultos mayores que tienen prótesis dentales completas o parciales siendo esto muchas veces debido a la mala higiene, problemas con la prótesis entre otros factores. Por esta situación, es necesario un diagnóstico, así como un tratamiento oportuno, presentándose a los colutorios bucales como una de las formas farmacéuticas para controlar dichas afecciones. Es por ello que el objetivo de este trabajo es determinar la actividad antifúngica del colutorio bucal con extracto bruto orgánico de la planta *Lepechinia meyenii* "Salvia" obtenida de la provincia de Abancay, Perú. Para esto se realizó una extracción por maceración con etanol a la planta deshidratada y pulverizada. El extracto, en concentraciones de 20 y 50 mg/mL, se enfrentó a 24 aislados clínicos de *Candida spp* de personas con prótesis dentales por medio del método de pozo difusión. En los resultados que se han obtenido, el extracto bruto orgánico de Salvia presentó halos de inhibición que van de 9 hasta 15mm de diámetro. Se observó actividad frente a todas las cepas clínicas pertenecientes a *Candida albicans* (n=22) con un valor promedio de 10.31 ± 1.03 para las concentraciones de 20mg/mL y de 12.01 ± 1.27 para 50mg/mL, mientras que en *Candida glabrata* (n=2), los valores promedios fueron de 11 ± 0.63 y 12.50 ± 1.04 para las mismas concentraciones, respectivamente. En cuanto al colutorio, este fue probado con la concentración de 20 mg/mL, y se obtuvieron valores que van desde 10 a 15 mm para ambas especies. De esta manera, la salvia se presenta como una especie con actividad antifúngica frente a cepas clínicas de *Candida spp.* lo que promueve futuros estudios usando extractos puros y su adición a formulaciones farmacéuticas de las plantas del género *Lepechinia*.

MA039

Vigilancia de aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de carbapenemasas en un hospital pediátrico de tercer nivel de la Ciudad de México

Alejandra Aquino Andrade¹, Jocelin Merida Vieyra ¹, Alejandro Tapia Reyes², Paricia Arzate Barbosa², Esperanza Lucas Resendiz³, Eduardo Arias De La Garza³, Agustín De Colso Ranero¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Molecular, INP, INP, Mexico, MX. ⁽²⁾ Laboratorio de Bacteriología Clínica, INP, INP, Mexico, MX. ⁽³⁾ CIAAS, INP, INP, Mexico, MX.

Introducción: El tratamiento de las infecciones por *P. aeruginosa* se complica debido a las altas tasas de resistencia a los carbapenémicos y a la diseminación de aislamientos productores de carbapenemasas. **Objetivo:** Describir la frecuencia de aislamientos de *P. aeruginosa* productores de carbapenemasas en un hospital pediátrico. **Material y métodos:** Se colectaron 88 aislamientos no repetidos de *P. aeruginosa* de diversas muestras clínicas y servicios hospitalarios del Instituto Nacional de Pediatría durante el periodo de enero 2017 a marzo 2018. La identificación y perfil de susceptibilidad se obtuvo con un equipo semiautomatizado de microbiología. Se realizó la prueba de CarbaNP y el método modificado de inhibición del carbapenémico (mMIC). Los genes *blaVIM*, *blaIMP*, *blaNDM*, *blaKPC* y *blaOXA-48* se detectaron por PCR. Los aislamientos productores de carbapenemasas fueron tipificados por electroforesis en gel de campos pulsados (PFGE). **Resultados:** Todos los aislamientos fueron resistentes a imipenem, 80,7% a meropenem, 36,4% a cefatzidima y cefepime, 23,9% a piperacilina/tazobactam, 26,4% a ciprofloxacina, 27,6% a levofloxacina, 22,7% a amikacina y 34,5% a gentamicina. En 14 aislamientos, las pruebas de CarbaNP y mMIC fueron positivas. En 12 aislamientos se encontró el gen *blaIMP*; estos se detectaron en septiembre 2017 y enero 2018 y fueron obtenidos de muestras de orina, sangre y vías respiratorias bajas, principalmente. El servicio de oncología fue en el que se registró el mayor número de casos, seguido por infectología y cirugía. En un aislamiento se detectó el gen *blaVIM* y en uno se detectaron los genes *blaVIM* y *blaIMP*. La PFGE demostró que los aislamientos de *P. aeruginosa* con *blaIMP* estuvieron estrechamente relacionados. **Conclusiones:** La vigilancia de *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos nos permitió observar la participación de carbapenemasas de los tipos IMP y VIM en el 14,8% y 2,3%, respectivamente, en los aislamientos analizados; por otro lado todos los aislamientos con IMP pertenecían a una sola clona. La vigilancia de estos mecanismos de resistencia nos ha permitido optimizar la aplicación de medidas de control de infecciones en nuestro hospital.

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) FOSSIS-2017-1-289537.

MA040

Beta lactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* obtenidos de hisopados faríngeos y rectales al alta de pacientes internados en una UCI de Uruguay.

Lucía Araújo¹, Leticia Caiata^{1,2}, Inés Bado¹, Verónica Seija², Gloria Rieppi³, Medina Presentado Julio C⁴, Rafael Vignoli¹.

⁽¹⁾ Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Instituto de Higiene, Universidad de la República, Montevideo, UY.

⁽²⁾ Departamento de Patología Clínica, sección microbiología, Facultad de Medicina, Hospital de Clínicas, Universidad de la República, Montevideo, UY. ⁽³⁾ Centro de Tratamiento Intensivo, Facultad de Medicina, Hospital de Clínicas, Universidad de la República, Montevideo, UY. ⁽⁴⁾ Enfermedades Infecciosas, Facultad de Medicina, Hospital de Clínicas, Universidad de la República, Montevideo, UY.

⁽⁴⁾ Enfermedades Infecciosas, Facultad de Medicina, Hospital de Clínicas, Universidad de la República, Montevideo, UY.

Introducción. Oxiiminocefalosporinas y carbapenemes son los antibióticos más utilizados en Unidades de Cuidado Intensivo (UCI). Los microorganismos productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas limitan su uso. Se reconoce la internación en UCI como factor de riesgo para infecciones por estos microorganismos, aceptándose al tracto respiratorio y digestivo como principal reservorio. Nuestro objetivo fue determinar la presencia de BLEE y carbapenemasas en aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en muestras de hisopados rectales y faríngeos de pacientes al alta de la UCI. Metodología. Se realizaron hisopados rectales y faríngeos a pacientes internados en la UCI del Hospital de Clínicas de Montevideo y que consintieron, entre octubre de 2016 y noviembre de 2017. Los hisopos se sembraron en agar MacConkey Lactosa (MCL) con 1 µg/ml de ceftriaxona. La identificación se realizó por Maldi-Tof y la sensibilidad por disco difusión. La detección de BLEE y carbapenemasas fue mediante test de sinergia con discos y test de Rosco respectivamente y la búsqueda de genes de resistencia mediante PCR utilizando cebadores para CTX-M 15, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M grupo 4, PER-2 y SHV y para NDM, KPC, VIM, OXA-48 y GES. En los aislamientos de *K. pneumoniae* se buscó el gen *pilV* para determinar su pertenencia al secuenciotipo 258 (ST258). Resultados Se estudiaron 50 pacientes. En 22 se encontraron *E. coli* o *K. pneumoniae* productoras de BLEE o carbapenemasas: 14 con *K. pneumoniae*, 4 con *E. coli* y 4 con ambos. En total fueron 18 aislamientos de *K. pneumoniae* y 8 *E. coli*. En *K. pneumoniae*: 13 productoras de CTX-M-15, 1 CTX-M grupo 4 y 2 de NDM-1. En *E. coli*: 1 productora de CTX-M-2 y CTX-M-8 y 2 productoras de CTX-M del grupo 4, 1 cepa fue productora de NDM-1. 9 aislamientos no amplificaron con ningún cebador. 4 *K. pneumoniae* pertenecieron al ST258, ninguno producía carbapenemasas. Concluimos que en nuestro Hospital CTX-M-15 sigue siendo la BLEE más frecuente en *K. pneumoniae* y destacamos la circulación de cepas ST258 sin carbapenemasas y de enterobacterias productoras de carbapenemasas. 9 BLEE no han podido ser amplificadas por los cebadores utilizados, se requieren estudios adicionales.

CSIC (Comisión Sectorial de Investigación Científica), Facultad de Medicina, Universidad de la República.

MA041

Evaluación de genes de resistencia a metales pesados en la microbiota de invertebrados provenientes de tres ríos de Chile: Choapa, Maipo y Maule

Anibal Araya Figueroa¹, Diego Ruiz Aravena¹, Ignacio Campillay Hrzic¹, Iván García Collao¹, Mauricio Carter Montecinos², Jorge Olivares Pacheco¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Centro Nacional del Medio Ambiente, Universidad de Chile, Santiago, CL.

La contaminación por metales pesados en los ecosistemas naturales sigue siendo un problema grave a nivel mundial, afectando la flora, la fauna, y los microorganismos presentes. La presencia de altas concentraciones de estos metales en el ambiente ejerce una fuerte presión selectiva sobre los organismos que allí habitan, afectando la microbiota de diferentes eucariontes y provocando la selección de mecanismos genéticos de resistencia a dichos elementos. Los ríos Choapa, Maipo y Maule, de la zona norte y centro de Chile, se caracterizan por ser un recurso indispensable para la vida cercana, brindando el albergue a diferentes tipos de organismos. Sin embargo, también son considerados sitios en peligro ambiental, debido principalmente a la contaminación humana y de empresas mineras que yacen cerca de estos sistemas fluviales, donde terminan siendo utilizados como canales de desechos mineros dañinos. Por lo tanto, estudiar la presencia de genes de resistencia a metales pesados en la microbiota de los invertebrados residentes de estos tres ríos de Chile es de vital importancia. En este estudio, se recolectaron muestras de invertebrados provenientes de los ríos Choapa, Maipo y Maule, con el fin de investigar su microbiota para determinar la presencia de genes de resistencia a diferentes tipos de metales pesados, tales como los genes *mer*, *czc*, *chr*, *ncc* y *ars*, responsables de la resistencia a mercurio (Hg), zinc (Zn), Cromo (Cr), níquel (Ni) y arsénico (As) respectivamente. Utilizando la técnica de PCR y en combinación con los análisis de secuencias de ADN de 189 muestras obtenidas, resultó positiva la presencia del gen *merA* en un 43% de las muestras totales, un 40% para el gen *arsD*, un 8% para el gen *ncc*, un 7% para el gen *chrB* y sólo un 2% para el gen *czcD*. Los resultados obtenidos muestran una mayor prevalencia de los genes *merA* y *arsD* para los tres ríos en estudio. Esto sugiere una posible contaminación tanto por mercurio como arsénico, que ejerce una presión selectiva aumentando la aparición de genes de resistencia en las tres zonas de estudio.

FONDECYT 11150858.

MA042

Descripción de enterobacterias portadoras de betalactamasas tipo BLEEs y AmpC, en una planta de tratamiento de aguas residuales del Departamento de Antioquia, Colombia

Aristizábal Ana M¹, Rodríguez Erika A¹, Arias Lida Y², Jiménez J. Natalia. ⁽¹⁾ Línea de Epidemiología molecular Bacteriana. Grupo MICROBA, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, CO. ⁽²⁾ Grupo de Bioprocesos Microbianos. BIOMICRO, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, CO.

Introducción: El aumento de la resistencia a betalactámicos ha llevado a explorar espacios diferentes al hospitalario como las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), consideradas recientemente como reservorios y fuentes de diseminación de la resistencia bacteriana. En este trabajo se propuso describir la presencia de enterobacterias resistentes a betalactámicos (ERB) portando β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y betalactamasas tipo AmpC en una PTAR de Antioquia. **Metodología:** Se realizaron 6 muestreos en el 2017, en afluente (AF), efluente (EF), lodos de recirculación (LAR) y tanques de aireación (TA) de la PTAR. Se detectaron las ERB empleando ChromID-ESBLTM, se seleccionaron aislados sospechosos de portar β -lactamasas. Las enterobacterias se identificaron por 16S-rRNA y mediante PCR se detectaron algunos genes que codifican para BLEE y AmpC plasmídicas. Al microorganismo más frecuentemente detectado se le realizó genotipificación molecular por Electroforesis de Campo Pulsado (PFGE). **Resultados:** De 353 aislados obtenidos, 28.3% correspondieron a enterobacterias provenientes de AF (29%), TA (24%), LA (17%) y EF (30%). Los microorganismos más frecuentes fueron: *Escherichia coli* (83%), *Citrobacter freundii* (11%) y *Enterobacter cloacae* complex (4%). Se detectaron 155 β -lactamasas: 85.2% codificaron para BLEEs siendo más frecuentes las variantes TEM (40.9%, n=54) y CTX-M-grupo-1 (37.1%, n=49); y el 14.8% restante codificaron para AmpC siendo más frecuentes LAT/BIL/CMY (78.3%, n=18). De los perfiles de betalactamasas obtenidos, *E. coli* presentó 16 de los 23 encontrados, siendo además el único portador del más frecuente: TEM+CTX-M-grupo-1 (20%). La tipificación de los aislados de *E. coli* por PFGE mostró gran diversidad genotípica. **Conclusiones:** Este trabajo evidencia la diseminación de la resistencia bacteriana en ambientes diferentes al hospitalario. El hallazgo de las BLEEs variantes TEM y CTX-M-grupo-1 en un alto porcentaje, demuestra la capacidad que tienen estos genes de estar simultáneamente en diferentes enterobacterias. Asimismo, este trabajo señala la gran diversidad de *E. coli* portando estos mecanismos de resistencia, lo que evidencia la presión de selección que se presenta al interior de las PTAR y resalta la importancia de este microorganismo como diseminador de β -lactamasas tipo BLEE y AmpC plasmídicas en ambientes acuáticos.

Colciencias: 111571149740, CODI: 2017-17568.

MA043

Entendimiento de la propiedad/actividad antibacterial del homopéptido de lisina de 11 residuos por medio de scanning de alanina y prolina

Mónica Aróstica¹, Patricio Carvajal², Roberto Rojas³, Sergio Marshall⁴, Luis Aguilar³, Fanny Guzman¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Diseño y Síntesis de péptidos, Núcleo de Biotecnología Curauma, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Escuela de alimentos, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽³⁾ Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽⁴⁾ Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL.

Los péptidos antibacterianos son potenciales alternativas a los antibióticos convencionales debido a la baja citotoxicidad y propensión a generar resistencia, que presentan. Estudios previos determinaron que el homopéptido de Arginina de 11 residuos (Homo-Arg) presenta una actividad antibacteriana de espectro amplio y una estructura secundaria característica de hélice tipo Poliprolina II. El Homo-Arg al ser una secuencia repetitiva permite determinar de forma más precisa las posiciones claves en la actividad para potenciar su funcionalidad, esto se estudia mediante Scanning de Alanina y Prolina que permiten identificar la posición donde la carga electrostática y el giro de la hélice, respectivamente, interaccionan con la célula blanco. En este trabajo se determinaron estas posiciones y el efecto que tienen en la actividad antibacteriana y en la estructura secundaria comparada con el homopéptido. Todos los péptidos de la serie de scanning y el Homo-Arg de 11 residuos fueron obtenidos por síntesis en fase sólida Fmoc, usando resina Rink amida. La caracterización y purificación de los péptidos fue realizada por HPLC y Espectrometría de Masas (ESI-MS). Los péptidos fueron ensayados a 10, 20 y 30 μM contra *Escherichia Coli* y *Staphylococcus aureus* por el método de dilución en microplaca en medio TSB a 37°C. La preparación de las vesículas unilaminares se realizó obteniendo el extracto de membrana de las cepas antes descritas y posteriormente pasándolas por un extrusor. La estructura secundaria se determinó por espectroscopía de dicroísmo circular (Jasco J815 CD Spectrometer) a una concentración de péptido de 1mg/mL en TFE30% y en extractos de membranas de *E. coli* y *S. aureus*. Este trabajo muestra el efecto de la sustitución de Arg por Ala en la funcionalidad del homopéptido, mostrando que las posiciones centrales tienen mayor relevancia en la internalización de este en la membrana bacteriana y la flexibilidad que adquiere al modificar la estructura secundaria. Toda esta información puede ser luego utilizada para potenciar la actividad antibacteriana de los homopéptidos, optimizando residuos que no sean críticos, y así hacer sustituciones para obtener potenciales heteropéptidos con actividad determinadas.

Proyecto Fondecyt 1140926, Beca Doctorado PUCV 2018.

MA044

Antifungal activity of silver nanoparticles and biogenic magnetite in cutaneous candidiasis

Artunduaga Bonilla Jhon J¹, Leandro Honorato¹, Pedro Lopes Leão², Allan Guimarães³, Leonardo Nimrichter¹.

⁽¹⁾ Laboratório de Glicobiologia de Eucariotos (LaGE), Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Biologia celular e Magnetotaxia (LABMAX), Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, BR. ⁽³⁾ Instituto Biomédico, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Microbiologia, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, BR.

The current scenario of inadequate use of antifungals, increased incidence of fungal infections and resistance to conventional antifungal drugs, generates the need to develop new (antifungal) agents, minimal cytotoxic effects and low cost. An alternative that has had promising results is the use of nanomaterials such as metallic nanoparticles. The nanometric size of the particles increases the contact surface and thus allows a more effective interaction with the microorganism. In this study, in vivo cytotoxic and antifungal activity of silver nanoparticles (AgNPs) obtained by chemical reduction with cysteine and its functionalization with magnetite (magnetosomes) obtained from magnetotactic bacteria was evaluated. The AgNPs were characterized by UV-Vis spectroscopy, transmission electron microscopy (TEM) and dynamic light scattering (DLS). Spherical AgNPs with average size of 10 nm were obtained. Comparatively, the magnetosomes displayed a rectangular morphology and an average size of 57 nm in length. The toxicity in larvae of *Galleria mellonella* as an invertebrate model was evaluated (100% survival until the day 27th using 10 ug/mL of AgNPs was evidenced). In vivo anti-candida activity was evaluated in a murine model (mice BALB/c from 10-12 weeks of age) by intradermal inoculation. Lesions were treated topically with either 1 µg/mL of AgNPs or the Magnetosomes@chitosan@AgNPs functionalized compound. The concentrations used were considered based on previous in vitro results. The treatment consisted of an application (50 µL) per day for a period of 4 days. On the fifth day, the mice were anesthetized and sacrificed, the skin biopsy performed and the fungal load evaluated after plating onto Sabouraud agar plates. Treatment with nanocomposites inhibited up to ten times the fungal load compared with infection control. Additionally, the bioaccumulation of silver (in spleen, brain, kidneys, liver and lungs) after 30 days of exposure to AgNPs was below the lower limit of detection (1 ng/mL, equipment). Conclusion, the synthesized nanocomposites are a potential alternative of treatment for cutaneous candidiasis. As a final observation, mice treated with functionalized nanocomposite showed better healing.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

MA045

Diversidad de metiltransferasas del ARNr 16S en cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas en hospitales chilenos

Francisco Astorga¹, Felipe Maurelia², Celia Lima¹, Mariana Domínguez¹, Gerardo González¹, Helia Bello¹.

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

⁽²⁾ Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL.

Introducción: En los últimos años las bacterias han desarrollado diferentes mecanismos de resistencia a los antibióticos aminoglicósidos. Entre los más recientes, destaca la síntesis de metiltransferasas del ARNr 16S, impidiendo la unión del aminoglicósido al sitio blanco confiriendo alto nivel de resistencia. El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia y los tipos de estas enzimas en cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas en hospitales de Chile. **Metodología:** Se analizaron 183 aislados de *K. pneumoniae* (1997-2014), provenientes de siete regiones de Chile. La susceptibilidad a amikacina (AMK) y gentamicina (GEN), fue determinada mediante difusión en agar, y se pesquisó, mediante PCR convencional, genes codificantes para metiltransferasas del ARNr 16S: *rmtG*, *rmtD*, *rmtB*, *rmtE* y *armA*. **Resultados:** La mayoría de los aislados (113/183; 62%) fue resistente a GEN y AMK, 15 % (28/183) fue resistente sólo a GEN y 3 % (6/183) fue resistente sólo a AMK. El 20 % (36/183) fue susceptible a ambos antibióticos. De los aislados resistentes a GEN y AMK, 70 % (79/113) no presentaba halo de inhibición del crecimiento bacteriano (6 mm diámetro). En 42 % de los aislados (76/183) se encontró alguno de los genes codificantes de metiltransferasas del ARNr 16S, con *rmtG* en 88 % (67/76) de ellos, seguido por *armA* y *rmtD*, con 8 % (6/76) y 4 % (3/76), respectivamente. La presencia de estos genes fue detectada en cepas aisladas a partir del año 2003. Ningún aislado presentó más de un gen codificante de ARNr metiltransferasas. Adicionalmente, los genes codificantes de estas enzimas fueron encontrados en aislados provenientes de distintas regiones del país, desde la I hasta la X Región. Se destaca que, en la Región Metropolitana, se encontraron hasta tres tipos de ARNr metiltransferasas. **Conclusiones:** Las cepas de *K. pneumoniae* aisladas desde el 2003 en adelante, en hospitales chilenos de diferentes regiones (norte, centro y sur del país), son portadoras de diversos genes codificantes de metiltransferasas del ARNr 16S, siendo *rmtG* el prevalente. Se describe por primera vez en Chile la presencia del gen *armA* en cuatro aislados de *K. pneumoniae* no relacionados genéticamente.

MA046

Insights into antibiotic resistance (Antibiotics: revolution or death)

Ayala Juan A.¹. ⁽¹⁾ Microbiología y Virología, División Bacteriana y Resistencia Antibiótica, Centro de Biología Molecular “Severo Ochoa”, Madrid, ES.

Absoluta Inconsciencia: La gente está completamente inconsciente del peligro en el que estamos. El alcance de la amenaza planteada por las superbacterias sigue siendo poco conocido por la población en general, a pesar del hecho de que la Organización Mundial de la Salud llama a las superbacterias una amenaza inminente para la salud humana. Múltiples Avisos: El problema de la resistencia a los antibióticos ha sido reconocida como una pandemia global (EASAC, 2007), una de las principales amenazas para la Salud Pública y uno de los mayores desafíos sanitarios del siglo XXI (WHO, 2017), una potencial catástrofe mundial (Parlamento Europeo, 2006), y uno de los principales problemas de los Sistemas de Salud en Europa (ECDC/EMA, 2009). Se discutirá basándose en publicaciones muy recientes los motivos principales de la resistencia, “Microbial Evolution”; la baja incidencia de nuevos fármacos aprobados para uso clínico: “Discovery Void”, y posibles fuentes de escape, basadas en dos conceptos importantes: “Fitness” y Collateral Evolution”. Algunos ejemplos de evolución son: Tratamiento antibiótico afecta la frecuencia de transferencia por conjugación. Adquisición de resistencia durante el tratamiento hospitalario. La transmisión interespecies de un gen de resistencia ocurre directamente en la microbiota del intestino. Algunos ejemplos para llenar el vacío de fármacos son: Búsqueda en modificación de antibióticos con nueva estereoquímica. Búsqueda de antibióticos en los inhibidores de la conjugación bacteriana. La reasignación y el renacimiento de las drogas como nuevo enfoque para combatir enfermedades resistentes. Ensayo de tratamiento terapéutico mediante no-antibióticos dirigidos por el hospedador. Utilizar recursos “on line” para identificar genes esenciales potenciales blancos de acción. Son muy numerosos los líderes globales a nivel mundial necesarios para resolver el problema de la escasez de antibacterianos. Y con tantos actores hacen muy difícil el guion de película. El problema tiene una epidemiología compleja, en el que debe imperar el concepto “Un Mundo global, Una Salud global”. En todo caso hay esperanza, porque las fuentes, la distribución y el movimiento de los mecanismos de resistencia en diferentes microbios y poblaciones bacterianas presentan unas características de mosaico que actúan como barreras para frenar este movimiento, moderando así la aparición de pan-resistencia bacteriana.

MINISTERIO DE ECONOMÍA Y COMPETITIVIDAD, ESPAÑA, Contrato: BIO2014-55238-R, EUROPEAN COMMISSION, DIRECTORATE GENERAL FOR RESEARCH & INNOVATION, Grant Agreement 223431 Project DIVINOCELL.

MA047

Estudio de la actividad antibacteriana de extractos de *Microsorum scolopendria* (Matua' Pua) un helecho de Isla de Pascua, sobre patógenos gástricos y orales

Cristóbal Balada¹, Leda Guzmán¹, Mónica Castro², Claudia Fassio². ⁽¹⁾ Química biológica, Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Escuela de Agronomía, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso, Valparaíso, CL.

En la Isla de Pascua se ha utilizado la especie *Microsorum scolopendria* (MS) para tratar una serie de enfermedades humanas (asma, procesos antiinflamatorios, y procesos infecciones provocados por patógenos). Muchos de estos efectos biológicos han sido atribuidos en otras especies vegetales al contenido de polifenoles. Dado el uso medicinal que le han dado la población pascuense a MS, nuestro objetivo de investigación fue caracterizar los componentes bioquímicos en hoja y rizoma de MS, y evaluar su capacidad antioxidante y propiedades antimicrobianas en patógenos gástricos (*Helicobacter pylori*) y patógenos orales (*Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*). El contenido de polifenoles y taninos totales se realizó mediante Folin-Ciocalteu; flavonoides y cumarina mediante curva de calibrado. La caracterización de los principales compuestos fenólicos en los extractos evaluados, se realizó por HPLC en fase reversa. La actividad antioxidante fue analizada mediante DPPH, ORAC y FRAP. Se observó que rizoma contiene 5,84 mg de polifenoles por gramo de muestra seca, equivalente al doble de la hoja. Se determinó la capacidad antioxidante mediante ensayos de DPPH, ORAC y FRAP, presentando una mayor capacidad antioxidante por el extracto de hoja que de rizoma, siendo 1,52 en valor ORAC sobre control de hoja y 1,60 [TEAC mM] en FRAP para hoja; para ambas muestras no se presentó mayor actividad por DPPH. Unos de los mayores componentes de este helecho es la cumarina. Un screening sobre *H. pylori* y *S. mutans* resultó en una inhibición del crecimiento de 60% de estos patógenos. Para *E. faecalis* no se presentó mayor inhibición. Estos interesantes y promisorios resultados dan cuenta de una potencial actividad antimicrobiana y un eventual uso terapéutico.

FONDEF ID15I10031 y DIE 037.728-28 PUC.V.

MA048

***Camellia sinensis*: atividade inibitória e perfil de resistência frente a *Staphylococcus* spp. isolados de lesões acneicas**

Oliveira Vanessa RC¹, Barbosa Lidiane N¹, Gonçalves Daniela D¹, Caetano Isabel CS¹, Santos Isabela C¹, Gazim Zilda C¹, Golçalves José E², Martins Lisiane A¹. ⁽¹⁾ Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos, Universidade Paranaense - Unipar, Umuarama-PR, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Engenharia Ambiental, UniCesumar, Maringá-PR, BR.

A acne é uma afecção presente na pele humana e que abriga várias bactérias, dentre elas as espécies de *Staphylococcus*. Para o tratamento desta afecção são administrados antibióticos, mas, com o uso indiscriminado destes medicamentos, o surgimento de cepas resistentes tornou-se um problema de Saúde Pública. Dessa forma, são crescentes as pesquisas visando novos compostos que apresentem atividade inibitória. A *Camellia sinensis*, mais conhecida como chá verde vem despertando interesse podendo ser um agente promissor frente a resistência bacteriana. O objetivo do estudo foi avaliar a atividade inibitória do extrato de *C. sinensis* e sua associação com antibióticos frente a estirpes de *Staphylococcus* spp. isolados de lesões acneicas. Folhas secas de *C. sinensis* foram obtidas comercialmente e o extrato foi preparado com solução hidroalcoólica a 60%, rotaevaporado a 45°C e analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Foram isoladas e caracterizadas 50 amostras de *Staphylococcus* spp. de lesões acneicas grau I-A. A atividade inibitória do extrato foi testada frente aos isolados e cepas padrão de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) pela metodologia da microdiluição em caldo para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Realizou-se também o antibiograma com os antibióticos usados na rotina clínica e a associação destes com o extrato de *Camellia sinensis*. A cromatografia detectou como compostos majoritários a cafeína; ácido hexadecanóico, éster 1- (hidroximetil) -1,2-etanodiol e 1-monolinoleoilglicerol éter trimetilsilílico. A concentração que apresentou a melhor atividade inibitória foi 18,75 mg/mL, sendo possível determinar o CIM50 = 12,5 mg/mL e CIM90 = 17,49 mg/mL. Houve resistência aos antibióticos sulfazotrim (95,5%), penicilina (90,9%), eritromicina (77,3%), ampicilina (77,3%) e azitromicina (59,1%). Observou-se 07 sinergismos e 11 antagonismos na associação antibióticos e extrato. Por se tratar bactérias isoladas de pele acneica de indivíduos aparentemente saudáveis, os dados despertam uma grande preocupação por se tratar de bactérias de alto risco a Saúde Pública. O extrato de *C. sinensis* apresentou atividade inibitória e é um agente promissor para amenizar as lesões acneicas da pele humana.

Os autores agradecem a CAPES e UNIPAR pelo financiamento da pesquisa.

MA049

Analysis of mutations in the quinolone resistance determining region (QRDR) in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates from the human-animal-environment interface

B. Barbosa¹, F. Esposito², L. Cerdeira², Fernandes M. R.², Q. Moura¹, L. Sartori¹, L. Melo¹, Sellera F. P.⁴, D. Monte³, R. Lopes¹, N. Lincopan¹. ⁽¹⁾ Department of Microbiology, São Paulo University, São Paulo, BR. ⁽²⁾ Department of Fisiopathology and Toxicology, São Paulo University, São Paulo, BR. ⁽³⁾ Department of Food and Experimental Nutrition, São Paulo University, São Paulo, BR. ⁽⁴⁾ Department of Internal Medicine, São Paulo University, São Paulo, BR.

Enterobacteria resistant to quinolones have been reported worldwide. In this context, one of the major mechanisms of resistance to quinolones in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* are amino acids change in the quinolone resistance determining region (QRDR) from DNA gyrase and Topoisomerase IV enzymes. DNA gyrase is composed of GyrA and GyrB subunits; whereas, Topoisomerase IV consists of ParC and ParE subunits, and both enzymes play a role in regulating the topological state of bacterial DNA. The objective of this study was to investigate whether change occurred in the QRDR region leading to fluoroquinolone (FQ) resistant strains. During the period covered from May to June/2018, a total of 16 strains (seven *Escherichia coli* strains; nine *Klebsiella pneumoniae* strains) from the human-animal-environment interface were analyzed. To determine the minimal inhibitory concentration (MIC) to ciprofloxacin, levofloxacin and enrofloxacin antibiotics, microdilution method was used according to CLSI guidelines. All isolates had their whole genome sequenced (WGS) by the Illumina Nextseq and/or Miseq platforms, then all genomes were assembled using SPAdes version 3.11 software, a *de novo* approach. *In silico* analysis to identify MLST genes and QRDR mutations were performed by MLST 1.8 server and (ResFinder and Kleborate), respectively. Our results show that for *Escherichia coli* isolates the major QRDR mutations sites were found in GyrA (S83L and D87N) and ParC (S80I). Exceptionally, one strain of *Escherichia coli* ST90 from animal, presenting mutation in GyrA and ParC had reduced MICs to FQs. On the other hand, *Klebsiella pneumoniae* isolates presented QRDR mutations in GyrA (S83I) and ParC (S80I). The results validate the fact that *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates displayed high MICs associated with QRDR mutations identified in GyrA and ParC. Finally, these results suggest that in enterobacterial lineages, QRDR accumulative point mutations increase proportionally MIC levels to FQs, leading to strains even more resistant with subsequent treatment failures.

This study was funding by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

MA050

Caracterización fenotípica de *Pseudomonas aeruginosa* causada por la sobreexpresión de las bombas de expulsión de múltiples drogas MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN en condiciones anaeróbicas

Beatriz Barrientos Espinoza¹, Manuel Alcade Rico², Jorge Olivares Pacheco¹, Jose Luis Martínez Menéndez².

⁽¹⁾ Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Biotecnología Microbiana, Centro Nacional de Biotecnología CNB-CSIC, Madrid, ES.

Pseudomonas aeruginosa es uno de los patógenos oportunistas más estudiados en las últimas décadas, debido a que causa una amplia gama de infecciones nosocomiales, especialmente en pacientes que padecen fibrosis quística o que presentan inmunodeficiencia. Además, este patógeno es intrínsecamente resistente a diferentes clases de antibióticos, lo que otorga una complejidad mayor durante el tratamiento clínico. Es debido a estos escenarios que las infecciones por *P. aeruginosa* son de especial preocupación y precisan cada vez de mayores estudios sobre sus mecanismos y fisiología. De los diferentes mecanismos que le otorgan resistencia a *P. aeruginosa* el principal es la expresión de bombas de expulsión de múltiples drogas capaces de disminuir la actividad y evitar la acción del antibiótico. Este trabajo se centró en los siguientes sistemas de expulsión de múltiples drogas MexAB-OprM, MexCD-OprJ y MexEF-OprN, tres de las doce bombas RND descritas para *P. aeruginosa* que favorecen la resistencia intrínseca y resistencia fenotípica en condiciones específicas de estrés o en presencia de moléculas inductoras modulando así cambios en la fisiología bacteriana que contribuyen a la resistencia a los antibióticos. Se determinó la CMI para 22 antibióticos en condiciones aeróbicas y anaeróbicas en cepas bacterianas que sobreexpresan los sistemas de expulsión como de aquellas que poseen el gen no funcional de las bombas anteriormente nombradas. Comprobando así que tanto las cepas sobreexpresadas como delecionadas son más susceptibles a un gran porcentaje de los antibióticos utilizados en condiciones anaeróbicas; como a su vez que para imipenem, tobamicina, estreptomycin y gentamicina son más resistentes en estas condiciones. Finalmente se evidenció la expresión de diferentes bombas RND en condiciones anaeróbicas mediante qRT-PCR como *mexB*, *mexF*, *mexG*, *mexK*, *mexY*, que disminuyen su expresión; y genes de la biosíntesis de nitrato como *narG*, *nirJ*, *nirM*, *nirS*, *norB* que presentan una expresión aumentada, debido a que *P. aeruginosa* es una bacteria anaerobia facultativa que utiliza NO_3^- como aceptor final de electrones en condiciones de anaerobiosis. Por lo tanto, estos resultados ilustran la posible utilización de un fármaco que inhiba la cadena transportadora de nitrato con el fin de atacar a estas bacterias en condiciones anaerobias optimizando el uso de los antimicrobianos.

MA051

Antibacterial potential of (E)-2-(2-benzylidenehydrazinyl)pyridine derivatives against *Pseudomonas aeruginosa*

Halicki Priscila Cristina Bartolomeu¹, Correia Nathasha Rayssa De Lima², Nogueira Thais Cristina Mendonça², De Souza Marcus Vinícius Nora², Da Silva Pedro Eduardo Almeida¹, Ramos Daniela Fernandes¹. ⁽¹⁾ Núcleo de Pesquisa em Microbiologia Médica (NUPEMM), Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Rio Grande, BR. ⁽²⁾ Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, BR.

Pseudomonas aeruginosa is a gram-negative bacteria naturally resistant to several drugs due to some intrinsic characteristics. Considering the emergence of multidrug-resistant strains, the consequent reduction in effective therapy, factors such as morbidity and mortality and burden of health systems, in 2016, the World Health Organization has listed *P. aeruginosa* as one of the priority pathogens for research and development of new antimicrobials. Therefore, the aim of this study was to evaluate the in vitro antimicrobial activity of seven compounds derived from (E)-2-(2-benzylidenehydrazinyl) pyridine against *P. aeruginosa* and their structure-activity relationships (SAR). Seven pyridinic compounds were evaluated by two-fold broth microdilution method (200 to 1.56 µg/mL), according to the Clinical & Laboratory Standards Institute, against *P. aeruginosa* (ATCC 15442), using resazurin as indicator of cell viability. The minimum inhibitory concentration (MIC) was defined as the lowest concentration of the compound capable of inhibiting bacterial growth and was used as a parameter for the SAR analyzes. In addition, SwissADME tools and the OSIRIS software were used for predicting physicochemical parameters of compounds, related to the Lipinski's Rule of Five. Regarding the parameters of absorption, distribution, metabolization and excretion, all the compounds showed the characteristics required for oral bioavailability, since they did not violate the Lipinski's Rule of Five: molecular weight ≤ 500, miLogP ≤ 5, hydrogen donors ≤ 5 and hydrogen acceptors ≤ 10. From the SAR analyzes, it was observed that both the position and the substituent are decisive for antimicrobial activity, since the only active compound has a radical NO₂ in the meta position and another OH in the ortho position (MIC = 25 µg/mL). The results suggest that the compound (E)-4-nitro-2-((2-(pyridin-2-yl)hydrazono)methyl)phenol can be considered a potential pharmacophore for the development of new antimicrobials against *P. aeruginosa*.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

MA052

Tipificación de cepas clínicas de *Acinetobacter* spp. y estudio de genes de resistencia a antibióticos

María Elena Bello-López¹, Rosa Del Carmen Rocha-Gracia¹, Miguel Ángel Cevallos², Michelle Vargas-Cruz³, Yolanda Sáenz⁴, Carmen Torres⁵, Zita Gutiérrez-Cázares⁶, Miguel Castañeda-Lucio¹, Ygnacio Martínez-Laguna¹, Patricia Lozano-Zarain¹. ⁽¹⁾ Posgrado en Microbiología. Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Puebla, MX. ⁽²⁾ Programa de Genómica Evolutiva, Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, MX. ⁽³⁾ Licenciatura en Químico Farmacobiólogo, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Puebla, MX. ⁽⁴⁾ Área de Microbiología Molecular, Centro de Investigación Biomédica de la Rioja (CIBIR), Logroño, ES. ⁽⁵⁾ Área Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de la Rioja, Logroño, ES. ⁽⁶⁾ Área de Microbiología, Laboratorio de Análisis Clínicos, Hospital para el Niño Poblano, Puebla, Puebla, MX.

Introducción: El género *Acinetobacter* son un grupo complejo y heterogéneo de bacterias de origen ambiental que se han asociado a infecciones hospitalarias y de la comunidad, de las cuales *A. baumannii* es la especie más estudiada, pero otras especies han cobrado importancia. Estos microorganismos presentan resistencia a antibióticos debido a beta-lactamasas tipo OXA cromosómica, pero la presencia de elementos genéticos movilizables les permite adquirir otros genes de resistencia. **Objetivo:** Tipificar molecularmente aislados de *Acinetobacter* spp., detectar genes de resistencia a antibióticos y sus contextos genéticos. **Material y Métodos:** Se recolectaron 67 cepas (2009-2017) del Hospital para el Niño Poblano, se identificaron por Vitek2 y *rpoB*, se realizó perfil de susceptibilidad por Kirby-Bauer y CMI, se identificaron genes por PCR y secuenciación, se determinó la relación clonal por PFGE y se secuenciaron 16 cepas con Illumina NexSeq 2x75 lecturas pareadas. **Resultados:** Los sitios de aislamiento fueron: líquido de diálisis peritoneal 66%, secreciones 16% y heridas 9%, de los servicios: Medicina Interna 51%, Urgencias 25% y Unidad de quemados 10%. Las especies tipificadas fueron: 30 *A. haemolyticus*, 23 del complejo *A. baumannii-calcoaceticus* y una cepa de cada una de las siguientes especies: *A. oleivorans*, *A. venetianus*, *A. grimontii*, *A. indicus*, *A. lwoffii*, *A. radioresistens*, *A. ursingii*. Las cepas de *A. haemolyticus* no presentaron relación clonal y el 50% portó el gen *aac(6')-I_g*, 47% *bla*_{OXA-214'}, 3% *bla*_{OXA-215'}, 16% *bla*_{OXA-265'}, 7% *bla*_{OXA-264'}, 10% *bla*_{OXA-575} y el 53% *bla*_{TEM-229} estos dos últimos son nuevas variantes (GenBank: MG821355.1 y MG821356.1). El contexto genético de *bla*_{OXA-214-like} fue el mismo en todas las cepas de *A. haemolyticus*. Se detectaron tres *A. haemolyticus* resistentes a carbapenémicos, dos portaron *bla*_{NDM-1} y una *bla*_{OXA-51}/*bla*_{OXA-214'}. Cinco cepas de *A. baumannii* fueron resistentes a carbapenémicos y acarrearon *bla*_{OXA-51} y *bla*_{OXA-23}. Estos genes están relacionados con el perfil de resistencia de los aislados. **Ética:** Se cumplieron las normas establecidas por el hospital. **Conclusiones:** En este hospital predomina *A. haemolyticus* y otras especies ambientales causando infecciones, a diferencia de otros nosocomios donde predomina *A. baumannii*. Se evidenciaron diversos genes de resistencia, las nuevas variantes *bla*_{OXA-575}, *bla*_{TEM-229} y la presencia de *bla*_{NDM-1} en *A. haemolyticus*.

BUAP, VIEP: LOZP-NAT17-I y VIEP-2497-16. Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT: IN200318). Bello-López recibe una beca Doctoral de CONACyT México número 273320.

MA053

Nova variante do Tn4401 albergando o gene *bla*_{KPC-2} em isolados clínicos de *Enterobacter aerogenes* provenientes de Recife-PE, Brasil

Beltrão Elizabeth M. B.¹, Oliveira Érica M.¹, Vasconcelos Crhisllane R. S.², Cabral Adriane B.³, Firmo Elza F.¹, Rezende Antônio M.⁴, Lopes Ana Catarina S.¹. ⁽¹⁾ Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, RECIFE, BR. ⁽²⁾ Departamento de Genética - PPGG, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, RECIFE, BR. ⁽³⁾ Núcleo de Ciências Biológicas - NUCIB, Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas, UNCISAL, Maceió, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Microbiologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhaes- CPQAM-FIOCRUZ, Recife, BR.

Enterobacter aerogenes é uma enterobactéria frequentemente envolvida em Infecções Relacionadas a Assistência à Saúde, que pode apresentar resistência às diferentes classes de antimicrobianos, inclusive aos carbapenêmicos devido ao gene *bla*_{KPC-2}. Há evidências de que a aquisição de resistência aos beta-lactâmicos nessa espécie, se deve à disseminação plasmidial, juntamente com transposons, entre bactérias gram-negativas. Portanto, este trabalho teve por objetivo determinar o ambiente genético plasmidial de *bla*_{KPC-2} em isolados clínicos de *E. aerogenes* provenientes de um hospital público de Recife-PE, Brasil, através do sequenciamento do DNA plasmidial. Foram selecionados dois isolados clínicos de *E. aerogenes*, por serem multidroga resistente, incluindo resistência aos carbapenêmicos, provenientes de septicemia em pacientes de Unidade de Terapia Intensiva e portadores do gene *bla*_{KPC-2}. O DNA plasmidial foi extraído utilizando o kit Qiagen Mini plasmid, e quantificado pela plataforma fluorimétrica Qubit. As bibliotecas foram montadas utilizando o Kit TruSeq DNA PCR Free e o sequenciamento utilizando o equipamento MiSeq. Os dados foram processados utilizando as ferramentas Trimmomatic, velvet e cap3 para a montagem dos contigs. Para a análise do sequenciamento foram utilizadas as ferramentas Artemis Sanger, Resfinder 2.1 e BLASTn. As sequências foram depositadas no *Gene Bank*, sob nº de acesso: MG786907 e MH000708. Os Incs A/C e L/M foram detectados nos dois isolados, sendo estes incs já relatados em outras espécies e regiões do Brasil, porém no nordeste são poucos os relatos em *E. aerogenes*. Com relação ao gene *bla*_{KPC-2}, este foi encontrado inserido no transposon Tn4401. Contudo, foram encontradas diferentes características estruturais neste transposon, notadamente a perda da sequência de inserção ISKpn7, incluindo os genes *istA* e *istB* e transposase (TnpA), possuindo apenas a presença da uma *tnpR* e parte da sequência de inserção ISKpn6, mostrando o primeiro relato de uma nova variante Tn4401 albergando o gene *bla*_{KPC-2} em *E. aerogenes*, diferente dos outros já relatados na literatura. Essas características podem fazer com que o transposon Tn4401 perca sua capacidade de transposição, pois as sequências de inserção são essenciais para a sua mobilidade. Estes achados enfatizam ainda a continuada recombinação do elemento Tn4401 que contém o gene *bla*_{KPC-2}.

Edital Multiusuários, Propesq, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.

MA054

Efecto inhibitorio de la biopelícula de *Lactobacillus kunkeei* contra *Pseudomonas aeruginosa* virulenta tanto *in vitro* como *in vivo* en el modelo de *Galleria mellonella* (polilla de la cera)

Pablo Berrios¹, Juan Fuentes², Daniela Salas³, Alexander Carreño⁴, Patricia Aldea⁵, Fabiola Fernández³, Annette Trombert³. ⁽¹⁾ Escuela Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, CL.

⁽²⁾ Laboratorio de Genética y Patogénesis Bacteriana, Facultad de Ciencias, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽³⁾ Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, CL.

⁽⁴⁾ Center of Applied Nanosciences (CANS), Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽⁵⁾ CEAPI, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, CL.

Las biopelículas biológicas son asociaciones microbianas embebidas en una matriz extracelular que suele contener, entre otras cosas, polisacáridos, proteínas, DNA, etc. *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) es un patógeno Gram negativo oportunista, que suele formar biopelículas y es responsable de una gran variedad de infecciones en humanos, plantas y animales. En este contexto, la degradación de las biopelículas conformadas por este patógeno se considera una estrategia clave para el control de las infecciones producidas por éste. Por otro lado, en el género *Lactobacillus* se han descrito mecanismos anti-biopelículas que lo han hecho eficientes competidores contra un amplio rango de patógenos. De hecho, se ha descrito que los lactobacilos que conforman una biopelícula son capaces de antagonizar patógenos mucho más eficientemente que sus contrapartes planctónicas. En este trabajo, por primera vez, demostramos que *Lactobacillus kunkeei* (*L. kunkeei*), una nueva especie de lactobacilo encontrada en microbiota intestinal de abejas chilenas (*Apis mellifera*), puede formar biopelículas *in vitro* e inhibir la formación de biopelículas por *P. aeruginosa*. Sumado a esto, encontramos que distintas cepas de *L. kunkeei* atenúan la infección de *P. aeruginosa* en el modelo *in vivo* de *Galleria mellonella*, probablemente afectando la formación y estabilidad de biopelículas del patógeno a nivel intestinal. Ya que *L. kunkeei* presenta características de probiótico, este trabajo da a conocer que el uso de *L. kunkeei*, tanto en animales como humanos, podría contribuir al tratamiento de *P. aeruginosa*.

Consortio de Desarrollo Tecnológico Apícola, Chile. Núcleo UNAB DI-1419-16/N Proyecto RC120001 de la Iniciativa Científica Milenio (ICM) del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo del Gobierno de Chile.

MA055

Antibacterial and synergistic activity analysis of 8-hidroxyquinoline analogues

Boff Roberta Tafer¹, Ferreira Laísa Borges¹, Adam Franciele Caroline², Joaquim Angélica Rocha³, De Andrade Saulo Fernandes³, Martins Andreza Francisco¹. ⁽¹⁾ Programa de Pós Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽²⁾ Biomedicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽³⁾ Programa de Pós Graduação em Ciências Farmaceuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR.

Introduction: In face of the rising incidence of serious infections caused by multidrug-resistant microorganisms, the development of new antimicrobials becomes increasingly necessary. It's believed that antibiotics would be more effective as part of a combined therapy, due to the major concern of the development of resistance. The aim of our group was to develop a series of 8-hydroxyquinoline analogues, since this chemical grouping is present in several antimicrobials, such as 5-chloro-7-iodo-8-hydroxyquinoline (Clioquinol) and 8-hydroxy- 5-nitroquinoline (Nitroxoline). Thus, some modifications in this molecule may enhance antibacterial activity with the purpose of developing new antimicrobial drugs. We performed a screening of analogues activity with ATCC strains and bactericidal and synergistic activities were evaluated with clinical isolates for the most active compound. **Materials and methods:** The compounds were synthesized in the Pharmaceutical Synthesis Group Laboratory, FACFAR, UFRGS. Broth microdilution technique was performed to determine minimum inhibitory concentration (MIC) against ATCC strains (*E. faecalis* 29212, *S. aureus* 29213, *P. aeruginosa* 27853, *K. pneumoniae* 700605 and *E. coli* 35218). We tested PH176 analogue, which showed larger activity against *S. aureus* ATCC, with 40 *S. aureus* strains from our clinical samples collection to determine MIC50 and MIC90. Time-kill assay (TK) was performed to analyze the bactericidal and synergistic activity of PH176 against *S. aureus* ATCC 29213 and 5 methicillin-resistant *S. aureus* clinical isolates. Sub-inhibitory, MIC and two times the MIC concentration of PH176 and Nitroxoline (and their combination with oxacillin MIC and break point) were tested. **Results and discussion:** PH176 showed larger activity against *S. aureus* ATCC (MIC 16 µg/mL). There was no activity against gram-negative. Both MIC50 and MIC90 were 32 µg/ml for clinical isolates. In TK assay, sub-inhibitory PH176 plus oxacillin MIC concentration was synergic in three isolates. Synergism was also observed in PH176 MIC plus oxacillin MIC concentration (two isolates), and in two times PH176 MIC plus oxacillin MIC and break point concentrations (one isolate). The results of our study demonstrated that PH176 analogue showed synergistic activity in combination with oxacillin in MRSA strains, thus becoming promising for further modifications to the development of new antimicrobial drugs.

Edital 04/2016 Pronupeq/Fapergs, CAPES.

MA056

Búsqueda de nuevos péptidos antimicrobianos (PAMs): actividad antibacteriana de fracciones enriquecidas de la microalga *Isochrysis galbana*

Pilar Bohle¹, Tanya Román², Fanny Guzmán², Verónica Rojas¹. ⁽¹⁾ Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. ⁽²⁾ Laboratorio de Síntesis de Péptidos, Núcleo Biotecnología Curauma (NBC), Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Curauma, Valparaíso, CL.

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos unicelulares capaces de producir una gran variedad de compuestos bioactivos, con potencial como herramientas biotecnológicas. Dentro de los compuestos microalgales de interés, se encuentran las moléculas antimicrobianas, de gran importancia debido al incremento en la resistencia de bacterias infecciosas a antibióticos. Los Péptidos Antimicrobianos (PAMs), son una prometedora opción para la búsqueda de nuevos fármacos, tanto por su selectividad por membranas bacterianas como por su capacidad de modelar la respuesta inmune. Se ha descrito diversas biomoléculas microalgales con capacidad bactericida; no obstante, no se ha estudiado la presencia de PAMs en estos microorganismos. Un *screening* realizado con distintas especies microalgales, determinó que extractos enriquecidos en péptidos de la microalga marina *Isochrysis galbana*, fueron capaces de inhibir el crecimiento de bacterias Gram negativas y Gram positivas como *Escherichia coli* y *Micrococcus luteus*, respectivamente. En este contexto, los objetivos de este trabajo fueron: 1) Demostrar la presencia de péptidos en fracciones enriquecidas de *I. galbana*. 2) Evaluar la actividad bactericida de estas fracciones contra otras bacterias patógenas Gram negativas: *Salmonella typhimurium* y *Pseudomonas aeruginosa* y Gram positivas: *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus*. Las fracciones enriquecidas de *I. galbana* se obtuvieron mediante una extracción ácida seguida de una purificación parcial por cromatografía de interacción hidrofóbica, donde se recuperó la fracción 40% de acetonitrilo. Se determinó la presencia de péptidos de bajo peso molecular en esta fracción, a través de electroforesis tris-tricina SDS-*page*. Además, se identificó la presencia de especies de carácter catiónico mediante electroforesis ácido-urea (AU-*page*). Se cuantificaron las proteínas presentes por BCA, y se evaluó la actividad antibacteriana mediante ensayos de concentración mínima bactericida (CMB) en microplaca. En este ensayo, se enfrentaron diferentes concentraciones de proteína (0,2 – 0,5 µg/µL) contra una cantidad conocida de bacterias (10⁷ CFU/mL), y luego se evaluó la sobrevivencia de éstas mediante diluciones seriadas. Se observó actividad bactericida contra todas las bacterias mencionadas, siendo las más sensibles *P. aeruginosa* y *B. cereus*, con CMBs menores a 0,2 µg/µL de proteínas. Estos resultados abren la posibilidad de encontrar, por primera vez, péptidos con actividad antibacteriana provenientes de microalgas.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1170379.

MA057

Comparação do efeito de porfirina metalada e fenotiazínico na Inativação fotodinâmica da *Leptospira interrogans*

Brazil, D. S.¹, Teles, A. V.¹, Oliveira, T. M. A.¹, Gonçalves, P. J.², Bezerra, F. C.², Jayme, V. S.¹, Souza, G. R. L.³. ⁽¹⁾ Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, BR. ⁽²⁾ Instituto de Física, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, BR. ⁽³⁾ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, BR.

Porfirinas e fenotiazínicos são fotossensibilizadores amplamente testados pela técnica de inativação fotodinâmica (PDI). Conhecido por não causar resistência microbiana natural, o método combina um fotossensibilizador (PS), luz e oxigênio molecular e resulta na formação de espécies reativas de oxigênio, que em altos níveis induzem a morte celular. A *Leptospira interrogans* (*L. interrogans*) é uma espiroqueta aeróbia Gram-negativa que pode ser disseminada pela urina, água, via venérea e transplacentária. O agente é causador da zoonose chamada leptospirose, responsável por consideráveis prejuízos à saúde humana e animal. Neste trabalho, com o objetivo de inativar a *L. interrogans*, testou-se a porfirina meso-tetrametilpiridil metalada com zinco (ZnTMPyP) e o fenotiazínico Azul de Metileno (MB) na concentração de 10 µM. A cultura foi incubada com cada PSe posteriormente quantificada em espectrofotômetro (DO de 600nm). As amostras foram irradiadas em duplicata durante 60min utilizando uma lâmpada halógena. Os controles foram: cultura sem PS irradiada; cultura sem PS não irradiada; cultura com PS não irradiada. Uma alíquota de cada amostra foi adicionada ao meio EMJH (1:4) e colocada em estufa a 29,3°C durante sete dias. Posteriormente, as amostras foram avaliadas por microscopia de campo escuro e submetidas novamente à leitura em espectrofotômetro. Nos controles sem PS nenhum efeito fotodinâmico foi observado. No controle com MB obteve-se um efeito bactericida mesmo sem a presença de luz. Ambos os tratamentos foram efetivos, contudo foi observada na microscopia uma maior destruição celular no tratamento com ZnTMPyP. A complexação de porfirinas com zinco aumenta sua lipofilicidade e o número de fótons absorvidos potencializando a inativação da bactéria. Os resultados demonstraram a alta efetividade da inativação fotodinâmica do microrganismo, na qual a porfirina metalada foi a mais eficiente. Portanto, a porfirina ZnTMPyP pode ser utilizada como uma potente ferramenta para o controle da bactéria *Leptospira interrogans*.

MA058

Antibiofilm activity of insect eggs against *Staphylococcus epidermidis*

Fraga Fernando Bueno Ferr¹, Macedo Alexandre José², Carlos Termignoni³, Zimmer Karine Rigon⁴, Adriana Seixas⁵.

⁽¹⁾ Departamento de Ensino, Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Santa Catarina, Criciúma, BR.

⁽²⁾ Produção e matéria prima, Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽³⁾ Ciências Básicas da Saúde, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽⁴⁾ Ciências Básicas da Saúde, , Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre , Porto Alegre, BR. ⁽⁵⁾ Farmacociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, BR.

Background. Biofilm is currently accepted as the most common lifestyle of microorganisms in nature. Microorganisms growing in these sessile communities become embedded within a extracellular matrix that is composed of polymeric substances including polysaccharides, proteins, and DNA. The important hallmark of biofilm is the increased resistance to conventional antimicrobial treatments representing a concern to public health and industry. In the last years novel strategies to face antimicrobial resistance have been developed. One novel approach to overcome this problem is to target virulence factors and disarm the pathogen instead to directly affect the bacterial cell growth. In this scenario biofilm formation is an important target to control pathogenic bacteria. Considering that the arthropods are the largest animal group in the planet and are in constant interaction with bacteria, we hypothesize that insects may represent a suitable source of active molecules such as new antibiofilm compounds. In this sense, the aim of this work was the search for compounds with antibiofilm activity in insect eggs. **Methods.** To investigate antibiofilm activity, eggs of Mediterranean flour moth (*Anagasta kuehniella*) were used to prepare organic and aqueous extracts. The resulting homogenates were centrifuged (10,000 g/15 min/4 °C) and supernatants were tested against *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 biofilm by crystal violet method. To determine the chemical properties of aqueous extract, enzymatic and heat treatments were performed. The purification was carried out by size exclusion chromatography and fractions were analyzed by SDS-PAGE. The antibiofilm effect of the extract and the fractions was also analyzed by scanning electron microscopy (SEM). **Results.** The initial investigation showed that the aqueous extract of *A. kuehniella* eggs inhibited in 40% *S. epidermidis* biofilm formation without inhibiting cell growth. Further investigation indicated that bioactive compounds are of protein origin. A partially purified fraction was obtained and exhibited 85% of antibiofilm activity which was also demonstrated by SEM. **Conclusion.** This work shows evidence that proteins present in *A. kuehniella* eggs are capable to modulate *S. epidermidis* biofilm formation. Besides, our results also reinforce the potential of arthropods as a source of antibiofilm compounds. Currently, tests for complete characterization of the proteins are in progress.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasil.

MA059

Clones endêmicos de *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos provenientes de feridas cirúrgicas em parturientes, Belém, Pará, Brazil

Cabral Blenda Gonçalves¹, Brasiliense Danielle Murici², Lima Karla Batistal². ⁽¹⁾ Programa de Pós Graduação de Biologia Parasitária na Amazônia, Centro de Ciências Biológicas da Saúde, Universidade do Estado do Pará, Ananindeua, BR.

⁽²⁾ Seção de Bacteriologia e Micologia, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, BR.

Introdução: As infecções de sítio cirúrgico ocupam o terceiro lugar dentre as infecções hospitalares, ocasionando prolongamento do pós-operatório, procedimentos cirúrgicos adicionais, tratamento em Unidades de Terapia Intensiva e maior mortalidade dos pacientes. A cirurgia de parto cesáreo é uma das principais causas de morbimortalidade, com risco de infecção de 3% a 5%. Este fato é preocupante, principalmente nos países em desenvolvimento, como o Brasil, que possuem alto índice de cirurgias cesarianas com risco de 5 a 20 vezes maior para infecção, em comparação aos partos normais. No período de janeiro de 2012 a maio de 2015, em Belém- PA, Brasil, foram isolados 73 *Acinetobacter* spp. provenientes de amostras clínicas de secreção de ferida operatória em mulheres submetidas a cirurgias toginecológicas, agente incomum neste tipo de cirurgia. O objetivo deste estudo foi realizar análise preliminar da clonalidade dos *A. baumannii*. **Métodos:** Trata-se de um estudo epidemiológico descritivo, retrospectivo transversal, com inclusão de 32 isolados de *A. baumannii* recuperados a partir de feridas operatórias de parturientes hospitalizadas nas enfermarias obstétricas da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará (FSCMP), no período de 2012 a 2015. Foi realizada a tipagem molecular por rep-PCR, e os perfis foram analisados usando UPGMA em sistema Bionumerics 6.1. Applied Maths. **Resultados:** No teste de sensibilidade por sistema semi-automatizado VITEK-2; 21 (65,6%) foram resistentes ao imipenem e meropenem. Na genotipagem realizada por rep-PCR; obteve-se o agrupamento de 13 isolados distribuídos em 5 grupos com 2 a 4 clones. Vinte e um isolados foram positivos para *blaOXA-23* e *blaOXA-51* (13 destes eram os isolados distribuídos nos 5 grupos), provenientes de diferentes enfermarias obstétricas, e de vários períodos do estudo. **Conclusão:** Evidenciou-se por meio da técnica rep-PCR a presença de 5 clones de *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos. As cepas devem ser avaliadas por técnica secundária de genotipagem para confirmação dos clones e transmissão hospitalar.

MA060

Determinación de actividad anti-oomycete de fosfitos comerciales

Alejandra Vergara¹, Agustina Undabarrena¹, Miryam Valenzuela¹, Michael Seeger¹, Simón Navarrete², Osvaldo Farías², Humberto Mendoza², Beatriz Patricia Cámara¹, Marcela Carvajal¹. ⁽¹⁾ Química/Centro de Biotecnología, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Fitopatología, Anasac Chile, Santiago, CL.

Phytophthora spp. es un oomycete que se encuentra en los suelos y que causa grandes pérdidas económicas en cultivos de paltas, unos de los principales productos de exportación de Chile. El objetivo de este trabajo fue aislar *Phytophthora* spp. de suelo y raíz de árboles de *Persea americana* variedad Hass? que presentan la sintomatología de pudrición radicular en las zonas de producción de la región de Valparaíso. El aislamiento de cepas se llevó a cabo utilizando dos métodos: directo e indirecto. Como método directo se sembró directamente en medio V8 un inóculo de la tierra disuelta en agua estéril. Como método indirecto se utilizaron trampas con cebos biológicos: pétalos de camelia, hojas tiernas de palto y trozos de manzana, los que se cultivaron en medio V8 en presencia de antibióticos y antifúngicos selectivos. Crecimientos miceliales con fenotipo de roseta se analizaron por microscopía y se re-cultivaron hasta obtener cepas puras. Se determinó el rango de concentraciones inhibitorias para el cálculo de IC50 con escala extendida para 4 formulados comerciales (FOSFIGHT 40-20, FOSFIMAX, ATLANTE y PHOSTROL) en sistema de difusión en agar sobre tres cepas de *Phytophthora* spp. bajo condiciones *in vitro* en un periodo de incubación del oomycete de 3 y 5 días. Los resultados demuestran que cada cepa testada posee distinto grado de sensibilidad a los productos comerciales probados, observando valores de % de inhibición de crecimiento distintos en cada caso. Se observa que Fosfight ejerce mayor efecto anti-oomycete a diferencia de Fosfimax, Phostrol y Atlante. Phostrol resulta ser menos efectivo que los otros tres formulados.

Anasac Chile.



MA061

Prevalencia de genes de resistencia a los antibióticos en la microbiota de invertebrados asociados a tres ríos altamente contaminados de la zona central de Chile: Choapa, Maipo y Maule

Ignacio Campillay Hrzic¹, Diego Ruiz Aravena¹, Anibal Araya Figueroa¹, Mauricio Carter Montecinos², Jorge Olivares Pacheco¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Centro Nacional del Medio Ambiente, Universidad de Chile, Santiago, CL.

La aparición y dispersión de bacterias resistentes a los antibióticos es un problema mundial que afecta tanto a la salud humana como animal, y los ambientes acuáticos son reconocidos por ser reservorios de este tipo de elementos. El constante uso de productos farmacéuticos en la agricultura y en la crianza de animales, y la consecuente eliminación de estos residuos en el medio ambiente, pueden tener un efecto directo en las poblaciones bacterianas, especialmente en los ríos cercanos a sectores urbanos densamente poblados, aumentando la selección y emergencia de bacterias resistentes. Dentro de los genes mayormente encontrados están las betalactamasas y los determinantes de resistencia a las tetraciclinas, las cuales han presentado una alta incidencia en los últimos años dentro del ámbito clínico como en medioambientes naturales. En este trabajo se evaluó la prevalencia de la betalactamasa CTX-M15 y de los genes de resistencia a las tetraciclinas *tetL* y *tetM* presentes en la microbiota de insectos de 3 ríos de la zona central de Chile. Para esto se recolectaron 189 muestras de invertebrados provenientes de los ríos Choapa, Maipo y Maule, y mediante la técnica de PCR y análisis de secuencias se identificó la presencia de los genes CTX-M15, *tetL* y *tetM*. Los resultados demostraron que del total de muestras analizadas el río Maule presentó una mayor prevalencia de la betalactamasa CTX-M15 y de los genes *tetM* y *tetL*, obteniendo como positivas un 34%, 20% y 23% respectivamente, el río Maipo presentó un 29% de positivas para el gen CTX-M15, 18% para el gen *tetM* y 20% para el gen *tetL*, mientras que el río Choapa presentó un 22% de positivas para CTX-M15, 15% para *tetM* y 20% *tetL*. Estos resultados indican que existe una contaminación dentro de estos ríos que actúa como una presión selectiva para la emergencia de bacterias resistentes a estos tipos de antibióticos, especialmente en el río Maule donde se encontró una mayor proporción de determinantes de resistencia con respecto a los otros ríos estudiados.

FONDECYT 11150858.

MA062

Interaction between the plant *ApDef₁* defensin and *Saccharomyces cerevisiae* results in yeast death through a cell cycle- and caspase-dependent process occurring via oxidative stress

Júlia Soares⁵, Melo Edésio José Tenór¹, Maura Da Cunha¹, Fernandes Kátia Valevski S², Taveira Gabriel Bonan⁵, Pereira Lídia Silva³, Samy Pimenta³, Trindade Fernanda Gomes¹, Mariana Regente⁴, Marcela Pinedo⁴, Laura De La Canal⁴, Gomes Gomes Moreira⁵, **Carvalho André De Oliveir**⁵. ⁽¹⁾ Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Química e Função de Proteínas e Peptídeos, Centro de Biociência e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, BR. ⁽⁴⁾ Instituto de Investigaciones Biológicas, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, AR. ⁽⁵⁾ Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Micro-organismos, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, BR.

Introduction: Plant defensins were discovered at beginning of the 90s and present multiple biological activities, highlighting their antimicrobial activity. However, their precise mechanism of action is still unknown. *ApDef₁* is a defensin from seeds of *Adenanthera pavonina* which has fungicide activity on cells of *S. cerevisiae*, presenting a MIC of 7.8 μ M and require a maximum of 18 h to cause the death of all cells used in the assay, under the conditions tested. **Objectives:** Herein, we studied *ApDef₁-Saccharomyces cerevisiae* interaction and part of the mechanism involved. **Material and Methods:** *ApDef₁-S. cerevisiae* interaction was studied through viability assays performed with hydroxyurea synchronized-yeast and pretreated with CCCP (Carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazone). Yeast cells after treatment with *ApDef₁* were analyzed to verify the occurrence of plasma membrane permeabilization, ROS induction, chromatin condensation, and caspase activation which analyses were assessed through Sytox green, DAB, DAPI and FITC-VAD-FMK probes, respectively. The involvement of oxidative stress and caspases in cell death induced by *ApDef₁* was verified through viability assay performed in presence of ascorbic acid and Z-VAD-FMK caspase inhibitor. The additional ultrastructural analysis was done by electron microscopy. **Results and Discussion:** After 3 h of treatment with *ApDef₁*, 98.76% of synchronized cell population died. Pretreatment with CCCP protected yeast from *ApDef₁* induced death. *ApDef₁-S. cerevisiae* interaction resulted in membrane permeabilization, H₂O₂ increased production, chromatin condensation and caspase activation. Ascorbic acid prevented yeast cell death and membrane permeabilization as well as the Z-VAD-FMK caspase inhibitor prevented yeast cell death. **Conclusions:** *ApDef₁-S. cerevisiae* interaction caused cell death through cell cycle dependente process which requires preserved membrane potential. After interaction, yeast went through uncontrolled ROS production and accumulation, which led to plasma membrane permeabilization, chromatin condensation and, ultimately, cell death by activation of caspase-dependent apoptosis via.

We acknowledge the financial support of the Brazilian agencies CNPq, FAPERJ and CAPES.

MA063

Transferencia horizontal del gen de resistencia a cefalosporinas de tercera generación *bla*CTX-M, portado por cepas de *Escherichia coli* aisladas desde agua de mar en Antártica

Natalie Castillo-Prado², Celia Lima², Ingrid Lazo-Silva², Virginia Rabbia², Gerardo Gonzalez-Rocha², Mariana Dominguez², Luis Vergara¹, Helia Bello-Toledo². ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Biológicas y Químicas, Facultad de Ciencias, Universidad San Sebastián, Concepción, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos LIAA, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL.

Introducción: Las b-lactamasas de espectro extendido (BLEE) corresponden al mecanismo de resistencia más importante que presentan enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación (C3G). En los últimos años se ha comprobado la diseminación global de BLEE, particularmente del tipo CTX-M. La adquisición de genes que codifican estas enzimas puede ocurrir mediante transferencia horizontal de genes (THG), incluso en ambientes naturales como Antártica. El creciente impacto antrópico que se ha observado en el territorio antártico, podría facilitar el ingreso de bacterias resistentes que por THG podrían alterar el resistoma antártico. El objetivo de este estudio fue determinar la capacidad de transferencia, por conjugación de genes *bla*CTX-M portados por cepas de *E. coli*, con perfiles de multiresistencia, aisladas desde agua de mar en Bahía Fildes, Antártica. **Materiales y métodos.** Se seleccionaron 4 cepas dadoras de *E. coli* resistentes a C3G, aisladas de muestras de agua de mar frente a bases científicas y militares en Bahía Fildes en 2013 y 2014, conservadas a -80°C en cepario del LIAA. Como receptora se utilizó *E. coli* K12, susceptible a todos los antibióticos, y resistente a azida de sodio (AZS). La conjugación bacteriana se realizó a 37°C en medio sólido y líquido. Las transconjugantes (Tc) fueron seleccionadas en placas de agar tripticasa de soya suplementadas con AZS (300 ug/mL) y cefotaxima (2, 4 y 8 ug/mL). El perfil de susceptibilidad de las Tc se estudió por difusión en agar, confirmando su identificación por batería bioquímica. La tipificación molecular de las cepas se realizó por ERIC-PCR y la transferencia de los genes de resistencia se determinó por PCR convencional. **Resultados:** Con las 4 cepas de *E. coli* estudiadas se obtuvieron Tc a las 48 y 60 h de incubación, principalmente en las placas con 4 ug/mL de cefotaxima. Mediante antibiograma, ERIC-PCR y PCR se comprobó la transferencia de la resistencia a C3G mediada por el gen *bla*CTX-M. **Conclusión:** El gen *bla*CTX-M portado por cepas de *E. coli* aisladas desde agua de mar en la Bahía Fildes, Antártica, es transferido por mecanismo de conjugación bacteriana, facilitando su diseminación a otras bacterias susceptible que cohabitan en ese ambiente.

Financiamiento: Proyecto INACH-RT_06-12.

MA064

Caracterização de bactérias Gram-negativas resistentes à antibióticos β -lactâmicos no lago de Bolonha, manancial de Belém, Pará – Brasil

Jorianne Alves¹, Giulia Brabo¹, Larissa Dias¹, Carlos Leonardo Araújo¹, Rafael Baraúna¹, Isabel Henriques², Artur Silva¹, Folador Adriana R. C.¹. ⁽¹⁾ Center Genomic and Biology Systems, Institute of Biological Sciences, Federal University of Pará, Belém, BR. ⁽²⁾ Biology Department, University of Aveiro, Aveiro, PT.

Atualmente, a resistência a antibióticos é considerada uma das maiores ameaças mundiais à saúde. Os antibióticos liberados no meio ambiente através de efluentes de águas residuais podem influenciar a comunidade bacteriana local pela transferência horizontal de genes, ocasionando a disseminação de genes de resistência. Assim, este estudo visa avaliar a comunidade de bactérias Gram-negativas resistentes aos antibióticos cefotaxima e imipenem por método dependente do cultivo presentes no Lago Bolonha (Belém, Pará), uma das principais fontes de água para abastecimento público na região metropolitana de Belém. Dessa forma, amostras de água foram coletadas em três pontos distintos do Lago Bolonha para o isolamento das bactérias. As amostras de água foram filtradas em membranas de 0,22 μ M, sendo estas depositadas em placas contendo meio de cultura MacConkey Agar suplementado com antibiótico cefotaxima e imipenem. Após o isolamento, o DNA das bactérias foi extraído através do método fenol: clorofórmio: álcool isoamílico. A identificação de genes que codificam β -lactamases e integrons foi realizada por PCR. O perfil de susceptibilidade antibiótica dos isolados foi realizado pelo método de difusão de disco (método Kirby & Bauer), da qual a classificação foi definida pelos parâmetros determinados pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*. E a identificação dos isolados foi realizada por meio do sequenciamento do gene 16S rRNA. Como resultado, foram obtidos 64 isolados resistentes à cefotaxima e 60 isolados resistentes ao imipenem. Os genes *bla*CTX, *bla*TEM e *bla*TEM foram mais representativos nos isolados de cefotaxima, enquanto os isolados de imipenem apresentaram maior abundância dos genes *bla*IMP e *bla*VIM, e o gene *int*1 foi mais representativo entre ambos isolados. O antibiograma demonstrou que a resistência ao aztreonam (96%), ácido nalidixico (89%) e à ampicilina (84%) foram mais frequente dentre os isolados de cefotaxima. E, dentre os isolados de imipenem, a resistência à amoxicilina (87%), aztreonam (78%) e ampicilina (75%) foram mais abundantes. Os isolados foram identificados, no qual as amostras foram classificadas como pertencentes à família Enterobacteriaceae. Além disso, a presença de bactérias resistentes aos antibióticos de última instância revelou que o Lago Bolonha pode ser considerado um reservatório e um local de transmissão de bactérias resistentes.

CNPq, Capes e FCT.

MA065

Detection of biofilm-forming *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis and association with antimicrobial resistance in Brazil

Castro Pérez Verónica K.¹, Magossi Eduarda M.¹, Rodrigues E Oliveira Pedro F.¹, Costa Custodio Dircéia A.¹, Helbert Freire Da Cruz¹, Juliana Porto De Abreu², Heinemann Marcos B.², Guimarães Alessandro S.³, Dorneles Elaine M.¹.

⁽¹⁾ Laboratório de Epidemiologia Molecular e Biologia Celular, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, BR. ⁽²⁾ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Universidade de São Paulo, São Paulo, BR. ⁽³⁾ Embrapa gado de leite, BR.

Staphylococcus aureus is one of the most common pathogens responsible for bovine mastitis. Some strains have the ability of producing a viscous extracellular polysaccharide layer (*slime*), which is nowadays considered to be a virulence factor, as it promotes bacterial adhesion onto the mammary epithelial cells or various surfaces, protects bacteria from opsonization, phagocytosis and increased resistance to antimicrobials. The aim of this study was to examine *in vitro* slime-producing or biofilm-forming in *Staphylococcus aureus* and its association with the antimicrobial susceptibility profile. A total of 404 strains of *S. aureus* isolated from bovine mastitis, from 1994 to 2016, belonging to the Embrapa's collection, were investigated for biofilm-forming. The antimicrobial profile to 15 drugs and combinations of all strains were previously determined. For the identification of slime-producing was used the Congo red Tryptic Soy Broth assay, considering as positive and negative those who changed the medium black and red or black-red color, respectively. As a result, 338/404 (83.66%) strains of *S. aureus* were biofilm-forming. It was also observed that there was an association between resistance to penicillin and biofilm production (X² - p: 0.001), having resistant strains 2.44 (CI: 95%, 1.37-4.33) times more chance to produce biofilm compared to susceptible strains. There was also an association between resistance to groups of antimicrobials and biofilm production (X² - p: 0.009), strains resistant to one group of antimicrobial have 2.23 (95% CI, 1.20-4.11) times more chance to produce biofilm compared to susceptible strains. In addition, there was an association between the year of isolation and biofilm production (X² - p< 0.05), strains isolated between 2001-2005 and 2006-2016 have 3.87 (CI: 95%, 1.93-7.77) and 2.86 (CI: 95%, 1.31-6.25) times more chance, respectively, to produce biofilm than those isolated between 1994-2000. In conclusion, this study showed that there was a high percentage of *S. aureus* biofilm-forming isolated from mastitis. Besides, strains resistance to penicillin or to one group of antimicrobial have more chance to produce slime compared with susceptible strains. Also, it was observed that strains isolated from more current years have more chance to be biofilm producers. Key-words: antimicrobial resistance, slime-producing, mastitis.

CAPES, CNPq, FAPEMIG.

MA066

Perfil de sensibilidade de *Staphylococcus aureus* isoladas do leite cru a antimicrobianos em discos

Cesar Kellyane Karen Fer¹, Lopes Joyce Bitencourt¹, Silva Reginara Teixeira ², Alves Bruno Kaik¹, Araújo Lorena Gonçalves¹, Santos João Vyctor Ca¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia , IFMA, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão - IFMA - Campus Caxias , Caxias, BR. ⁽²⁾ Bioquímica e Biotecnologia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, BR.

A resistência bacteriana verificada a partir de isolamentos de microrganismos presentes no gado leiteiro é observada através da reação de bactérias causadoras de mastites que apresentam resistência à drogas como penicilinas, ampicilinas, tetraciclina e estreptomicinas, resultando na ineficácia dos tratamentos. Entre os patógenos mais frequentes causadores de mastite, *Staphylococcus aureus* tem grande destaque nos estudos desenvolvidos, pois além de ser responsável por perdas na cadeia leiteira, apresenta resistência a diversos antibióticos utilizados rotineiramente no tratamento de Mastite. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo analisar o perfil de sensibilidade de *Staphylococcus aureus* isolados do leite cru a antimicrobianos em discos. As amostras de leite cru foram coletadas de 4 propriedades leiteiras, em dois municípios do estado do Maranhão, Brasil, sendo uma amostra por propriedade na quantidade de 500mL, após a ordenha total do leite. A contagem foi realizada através de Placas Petrifilm™ Staph Express para *Staphylococcus aureus*. Após a leitura das placas, foram isoladas 18 cepas de *Staphylococcus aureus* para realização dos testes antimicrobianos. Os antibióticos usados nos testes foram: azitromicina, sulfonamidas, timetoprim, cloranfenicol, nitrofurantoina e cefalexina. As leituras dos halos de inibição foram realizadas de acordo com critérios estabelecidos pelo documento M100-S25 CLSI de 2018. A contagem de *S. aureus* variou de $1,0 \times 10^3$ a $7,8 \times 10^4$ UFC/mL, estando presente em 100% das amostras de leite cru. Das 18 cepas analisadas no antibiograma, 28% mostraram-se sensíveis a Azitromicina e Sulfanamidas, enquanto 100% foram vulneráveis a Cloranfenicol e Nitrofurantoina. Quanto à resistência, verificou-se que 67% das cepas foram resistentes a Azitromicina e Sulfanamidas e 89% a Timetoprim. Em relação ao perfil de multirresistência, verificou-se que 78% das cepas foram resistentes a mais de um antibiótico, variando de dois a três antimicrobianos. Observou-se variações entre os perfis de sensível e resistente nas cepas de *S. aureus*, apresentando perfil de multirresistência, sendo resistente a mais de um antibiótico. Nesse sentido, verifica-se a importância do uso adequado de antibióticos no tratamento de infecções no gado leiteiro, de modo que não venha propiciar o desenvolvimento de cepas multirresistentes, dificultando no tratamentos de infecções causadas por esses microrganismos.

Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão - FAPEMA.



MA067

The metal-binding loop size defines proper ion-ligand interaction and signal transduction in CueR-like sensors

Mendoza Julián I.¹, Checa Susana K.¹ ⁽¹⁾ Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR), CONICET-UNR, Rosario, Argentina.

Bacteria resistance to toxic transition metals depends on transcriptional regulators that detect the metal ion and activate the expression of factors that remove or neutralize the harmful species, restoring homeostasis. Our group is focus on metallo-regulators of the MerR family, dimeric proteins that interact with toxic ions in the cytoplasm and modify the promoter conformation to enhance recognition by the RNA polymerase. The ability of MerR proteins to discriminate between metals is essential to achieve a proper response to a specific stress, and depends mainly on the array of specific ligand (cysteine or histidine residues) at the metal coordination environment. Based on these key residues, two groups can be distinguished: one including members that recognize Cu(I), Ag(I) or Au(I), and the other that interact with divalent ions such as Zn(II), Pb(II), Cd(II) or Hg(II). While most of these sensors are poorly selective, like the ancestral CueR or ZntR sensors, some evolved to achieve preferential recognition to one specific metal ion, such as GoIS, the Au(I)-sensor from *Salmonella*. Previously, we demonstrated that two residues within $\alpha 5$ - $\alpha 6$ metal-binding loop (MBL) of GoIS favor Au(I)-sensing over Cu(I) or Ag(I). To analyze the contribution of the MBL to the evolution of monovalent and divalent metal sensors, we applied site-directed mutagenesis and domain swapping to generate a set of GoIS, CueR and ZntR variants with modifications in both the size and the identity of residues composing MBL. The functionality of these mutant sensors was investigated by assessing the activation of specific reporter genes followed by *in silico* modelling. The results obtained indicate that the size of the MBL is optimized in most sensors to allow the adequate arrangement of ligands in order to improve the interaction with the inducer metals. Some CueR variants also modified the pattern of metal specificity, lowering their affinity for some of their original inducers while keeping parental response to others. Our results highlight the relevance of other regions outside the MBL of CueR for adequately driving the inductor signal to the distal DNA-binding region and activate the transcription of their target genes.

PICT-2015-2339. Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), Argentina.

MA068

Avaliação do efeito antifúngico de compostos fenólicos de sorgo sobre o desenvolvimento de *Fusarium verticillioides* associado à produção de micotoxinas em milho

Conceição Renata R. P.¹, Queiroz Valéria A. V.², Simeone Maria L. F.², Silva Dagma D.², Cota Luciano V.², Barbosa Mariana P.³, Miguel Rafael A.², Stoianoff Maria A.R.¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽²⁾ Embrapa Milho e Sorgo, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Sete Lagoas, BR. ⁽³⁾ Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de São João Del Rei, Sete Lagoas, BR.

Estudos recentes têm demonstrado que extratos fenólicos de sorgo, além de serem fontes de compostos antioxidantes, possuem também, ação antimicrobiana. Entretanto, há pouca informação sobre os efeitos antifúngicos desses compostos. Espécies de fungos do gênero *Fusarium*, como o *Fusarium verticillioides*, podem produzir micotoxinas no milho, causando danos econômicos e na saúde de animais e humanos. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi realizar um teste preliminar para avaliar o efeito de compostos fenólicos de sorgo no controle do crescimento miceliano (diâmetro e peso seco da colônia) e do número de esporos de *Fusarium verticillioides*. As análises foram realizadas na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas-MG, Brasil. Os compostos fenólicos foram extraídos do pericarpo de grãos de sorgo SC319, em etanol/água (20/80%, v/v), liofilizados e seu teor determinado (255 mg GAE /g). Meios de cultura BDA e BD foram incorporados ou não (controle) com o extrato liofilizado de sorgo na proporção de 1 mg/mL em seis repetições. O meio BD foi avaliado com (BDCA) e sem agitação (BDSA). Um disco miceliano (± 5 mm de diâmetro) de *F. verticillioides* foi adicionado aos tratamentos e aos controles e mantidos a 25 °C/7 dias. O diâmetro da colônia foi mensurado diariamente e o peso seco foi avaliado após secagem em estufa a 51° C até peso constante. A contagem de esporos foi realizada em câmara de Neubauer com microscópio óptico. Verificou-se que os compostos fenólicos do sorgo não apresentaram efeito antifúngico sobre o *F. verticillioides*. No BDSA com extrato o peso seco do micélio foi de 2,147g e no controle 0,373g. No BDA com extrato e no controle o diâmetro das colônias foi de 13,8 e 13,9 cm, respectivamente. O BDCA com extrato e o controle apresentaram 257×10^5 e 155×10^5 esporos/mL. Estes testes preliminares levaram a conclusão que o extrato empregado não reduziu a taxa de crescimento miceliano, bem como o número de esporos e o peso seco da massa. Entretanto, novos testes para avaliação da atividade antimicrobiana de compostos fenólicos de sorgo estão sendo realizados utilizando outros gêneros de fungos e de bactérias que acometem a cultura do milho.

EMBRAPA; CNPq; Fapemig.

MA069

Avaliação *in vitro* de derivados 2-aminoalcanóis contra o *Mycobacterium tuberculosis* multidroga resistente

Sousa Luanna De Ângelis Correia¹, Linhares Leonardo De Aquino², Laet João Paulo De Lucena³, Peixoto Aline Dos Santos², Hernandes Valéria Pereira⁴, Santos Aline Caroline Da Silva⁴, Neves Maria Madileuza Carneiro⁵, Romero Ricardo Escarcena⁶, Nerea Escala⁶, Feliciano Arturo San⁶, Schindler Haiana Charifker², Pimentel Lilian Maria Lapa Montenegro². ⁽¹⁾ Imunologia, Laboratório de Imunoepidemiologia, Faculdade Integrada de Pernambuco, Instituto Aggeu Magalhães, Recife, BR. ⁽²⁾ Imunologia, Laboratório de Imunoepidemiologia, Instituto Aggeu Magalhães, FIOCRUZ, Recife, BR. ⁽³⁾ Imunologia, Laboratório de Imunoepidemiologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Instituto Aggeu Magalhães, Recife, BR. ⁽⁴⁾ Imunologia, Laboratório de Patologia e Biologia Molecular, Instituto Aggeu Magalhães, FIOCRUZ, Recife, BR. ⁽⁵⁾ Microbiologia, Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN-PE), Secretaria Estadual de Saúde, Recife, BR. ⁽⁶⁾ Ciências Farmacêuticas: Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade de Salamanca, Salamanca, ES.

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa, causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), que alcançou redução da mortalidade mundial através da terapia medicamentosa. Porém, os medicamentos são administrados por um longo período. E desta forma, os pacientes interrompem o tratamento, o que pode levar o *Mtb* a adquirir resistência às drogas, ocasionando a tuberculose multidroga resistente (MDR). Embora existam antibióticos de segunda linha para o tratamento da MDR, estes mostram baixa taxa de cura, ação lenta e extrema toxicidade ao paciente. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar compostos do tipo 2-aminoalcanóis, presente na estrutura química do etambutol e da esfigosina, contra o *Mtb* sensível e MDR, bem como determinar a toxicidade *in vitro*. Nesta pesquisa, foram utilizados 9 compostos, sintetizados, analisados e caracterizados estruturalmente pelo Laboratório de Química Farmacêutica da Universidade de Salamanca (Espanha) e fornecidos para análise de atividade biológica *in vitro*. A análise contra o *Mtb* foi realizada pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), utilizando a cepa padrão de referência (H37Rv) e um isolado clínico de TB-MDR (1576) disponibilizado e identificado pelo Laboratório de Saúde Pública de Pernambuco-Brasil. A ação citotóxica dos compostos foi realizada através da determinação da citotoxicidade (CC_{50}) utilizando a linhagem celular macrófaga J774A.1. Os compostos avaliados demonstraram uma CIM contra as cepas sensível e MDR, variando entre 8 e 64 μM e CC_{50} entre 2,35 a 135 μM . Dentre estes, os compostos D07 (CIM = 8 μM) e o D09 (CIM = 16 μM), demonstraram melhor atividade contra a cepa sensível e multirresistente de *Mtb*. Já com relação a citotoxicidade os compostos D09 (CC_{50} = 135 μM) e D05 (CC_{50} = 102 μM) demonstraram menor ação tóxica à célula. Desta forma, as moléculas testadas mostraram satisfatória atividade contra o bacilo e moderada potencial de ação danosa ao organismo. Sendo assim, os resultados indicam que os derivados avaliados apresentaram relevante atividade contra o *Mtb*, suportando assim a continuidade do estudo para as novas fases de testes *in vitro* como novos agentes potenciais anti-TB.

FIOTEC (Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Saúde), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), Programa MINECO-RETOS: AGL2016-79813-C2- 2-R e Red RETICRD16/0027/0018.

MA070

Evaluation of the activity of the antimicrobial lipopeptides produced by *Paenibacillus elgii* against *Candida albicans* biofilms

Fulgêncio Débora Luíza Albano¹, Costa Rosiane Andrade¹, Fernanda Guilhelmelli¹, Thiago Fellipe De Araújo¹, Patrícia Albuquerque², Ildinete Silva-Pereira², Barreto Cristine Chaves¹. ⁽¹⁾ Programa de Pós-graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia, Universidade Católica de Brasília, Brasília, BR. ⁽²⁾ Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, BR.

The antimicrobial activity of *Paenibacillus elgii* strain AC13 isolated from Cerrado's soil is correlated with the presence of lipopeptides of the pelgipeptin family. These molecules present activity against several pathogens, including multidrug-resistant bacteria. Considering the increase in the incidence of systemic mycoses, the pelgipeptin are potential antimicrobial molecules for the control of fungal pathogens. Some *Candida* species are able to form biofilms, which increase the resistance to certain antibiotics. In addition, biofilms enhance the ability of yeast to invade the host's immune system, causing the inefficiency of some treatments. The present study aimed to investigate the activity of pelgipeptins against *Candida albicans* biofilms. *Paenibacillus elgii* AC13 was grown in mineral medium MMP at 37°C for 70h. The cells were removed by centrifugation and then filtered at 0.22 µm membrane. The cell-free supernatant was purified by RP-HPLC and the mass of pelgipeptins confirmed by mass spectrometry (MALDI-TOF/MS). The minimum inhibitory concentration (MIC) of the pelgipeptins against *C. albicans* SC5314 was determined using microdilution in broth, according to CLSI M27-A23 guidelines with modifications. The effect of pelgipeptin was evaluated on the inhibition of cell adhesion, biofilm formation, and cell activity in the mature biofilm. Pelgipeptins inhibited biofilm formation and cell adhesion, presenting MIC of 16 µg/mL, and MIC of 32 µg/mL, respectively. On mature biofilms, it inhibited cell metabolism at MIC of 64 µg/mL. The antifungal effect of pelgipeptins against the species tested was comparable to Amphotericin B and fluconazole. Amphotericin B reduced biofilm formation, presenting MIC higher than 64 µg/mL, and the inhibition on cell adherence occurred at MIC of 8 µg/mL, Fluconazole presented MIC of 64 µg/mL on the mature biofilm metabolism. These results are encouraging, since the lipopeptides showed an antifungal effect in different phases of the biofilm process, representing an alternative source of drug treatment against *Candida albicans* biofilms.

MA071

Mo*-CBP₂, a chitin-binding protein from *Moringa oleifera* seeds, has antifungal activity against *Candida albicans

Silva Neto João Xavier Da¹, Costa Helen Paula S.¹, Lopes Tiago Deiveson P¹, Dias Lucas Pinheiro¹, Pereira Mirella Leite², Vasconcelos, Ilka Maria¹, Oliveira José T. A. De¹, Sousa Daniele O. B.¹. ⁽¹⁾ Department of Biochemistry and Molecular Biology, Federal University of Ceará, Fortaleza, BR. ⁽²⁾ Department of Biology, Federal University of Ceará, Fortaleza, BR.

Introduction: *Candida albicans* is a ubiquitous species and one of the most common opportunistic pathogens. *C. albicans* can cause diseases in skin surfaces, host mucosa or even systemic infections, mainly in immunocompromised patients, increasing the risk of mortality. Moreover, it has been observed the emergence of *C. albicans* strains resistant to commercially available antifungal drugs. Therefore, the discovery and development of new active molecules against *C. albicans* is of utmost importance. In this regard, plant proteins are amongst the potential candidates. *Mo*-CBP₂, a chitin-binding protein from *Moringa oleifera* seeds, inhibited the growth of *Candida* spp. by increasing cell membrane permeability and ROS production, but the action mechanism is unknown. **Objective:** To evaluate whether the antifungal activity and cellular modifications induced by *Mo*-CBP₂ in *C. albicans* is mediated by interaction of the protein with the pathogen cell wall. **Materials and Methods:** *Mo*-CBP₂ (18.9 μM) was pre-incubated for 60 minutes with the carbohydrates N-acetylglucosamine, diacetylchitobiose, triacetylchitotriose, mannose, saccharose, galactose, laminarin, and also with sorbitol (800 mM), and next incubated with *C. albicans* (ATCC 10231) cells to test its anticandidal activity. Apoptosis in *C. albicans* was evaluated using a commercial kit whereas morphological alteration was observed by scanning electron microscopy (SEM). **Results:** *Mo*-CBP₂, besides inducing cellular collapse in cell wall and intracellular material extravasations, induced apoptosis in *C. albicans* cells. Previous incubation of *Mo*-CBP₂ with triacetylchitotriose or laminarin (56.7 μM) promoted, respectively, around 60% and 50% reduction in its anticandidal activity. These results suggest that chitin and β-glucans present in the fungal cell wall are possible targets to which *Mo*-CBP₂ could interact to exert its antimicrobial activity. On the other hand, the yeast growth inhibition caused by *Mo*-CBP₂ was not abolished by previous incubation with sorbitol. However, sorbitol showed strongly inhibitory effect on the anticandidal activity of itraconazole (22.67 μM). **Conclusion:** The anticandidal activity of *Mo*-CBP₂ appears to be mediated by its interaction with cell wall compounds like chitin and/or β-glucans, which leads to cell collapse, intracellular material extravasations, and apoptosis.

CAPES, CNPq, FUNCAP, and Analytical Center of UFC.

MA072

Actividad antibacteriana de bacterias ácido lácticas obtenidas de tocosh frente a aislados de *Enterobacteriaceae* clínicas responsables de diarreas

Ruth Cristobal Delgado¹, Ángela Ampuero León¹, Alejandro Barrenechea De La Fuente¹. ⁽¹⁾ Ciencias Celulares y Moleculares, Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, PE.

Las bacterias ácido lácticas (BAL) forman parte de la flora normal del ser humano, así como participan en la elaboración de distintos tipos de alimentos. Dentro de este grupo de bacterias, existen especies con propiedades probióticas, como la actividad antibacteriana frente a patógenos. Esta cualidad ha permitido que sean usadas en prevención y tratamiento contra enfermedades diarreicas ocasionadas por agentes bacterianos, siendo los más comunes los pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*. Los alimentos fermentados constituyen la fuente más común de BAL. Un alimento fermentado peruano de gran valor medicinal es el tocosh, generalmente elaborado a base de papas nativas, y al cual se le conoce como la “penicilina natural” debido a sus propiedades antimicrobianas. El objetivo del trabajo es determinar la actividad antibacteriana de aislados de BAL obtenidas de muestras de tocosh provenientes de distintas regiones del Perú, frente a aislados de la familia *Enterobacteriaceae* de muestras clínicas humanas responsables de diarrea. Los aislados de BAL de tocosh fueron seleccionados de un estudio previo y se enfrentaron a 35 aislados clínicos por medio del método de pozo difusión. En los resultados, todas las cepas de BAL presentan actividad frente a los aislados clínicos. Los halos de inhibición se encontraban entre 8.5 a 13 mm frente a los aislados de *E. coli* (n=30) y de 9 a 11.5 mm frente a los de *Enterobacter aerogenes* (n=5). De los aislados ensayados, cinco de las *E. coli* presentaban BLEE (Beta Lactamasa de Espectro Extendido) y 2 de las *E. aerogenes* presentan BLEE como Carbapenemasas, siendo éstas también sensibles frente a los aislados de BAL. Esto demostró que los aislados de BAL obtenidas de tocosh tienen una actividad antibacteriana frente a cepas patógenas causantes de problemas gastrointestinales, lo cual promueve la investigación acerca de este alimento como fuente de aislados candidatos a probióticos.

MA073

Actividad antimicrobiana de prodigiosina sobre *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y otros microorganismos gram positivos.

Alejandro Cuevas¹, Javiera Jara², Daniela Ulloa². ⁽¹⁾ Unidad de Microbiología, Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, CL. ⁽²⁾ Carrera de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, CL.

Antecedentes: Las prodigiosinas son una familia de pigmentos rojos, caracterizados por tener en común un esqueleto pirroilpirrometano. Ha sido demostrado que poseen actividad antiproliferativa, inmunomoduladora e incluso antimicrobiana. Estas propiedades han despertado el interés de investigadores en los campos de la medicina e industria farmacéutica, sin embargo, los antecedentes encontrados son contradictorios y faltan estudios que repliquen lo demostrado. Así, el objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana del pigmento prodigiosina extraído de *S. marcescens*, sobre microorganismos de importancia clínica. **Métodos:** Para obtener el pigmento, la cepa *S. marcescens* ATCC 13880 se cultivó en medio LP-Sal (levadura-peptona-Mg2SO4) a 28°C por 48 h. Tras extraer el pigmento desde la masa celular con metanol ácido, se purificó mediante cromatografía en columna con Sephadex LH-20 y gel de sílica. El pigmento prodigiosina se identificó por cromatografía de capa fina y caracterizando su espectro de absorción, comparado contra un estándar comercial. La determinación de la concentración mínima inhibitoria de prodigiosina frente a los microorganismos seleccionados se realizó según las recomendaciones del manual M07-A10 del CLSI. Cuando hubo inhibición del crecimiento, se determinó la concentración mínima bactericida según lo recomendado en el manual M46-A del CLSI. **Resultados:** El pigmento obtenido a partir de *S. marcescens* tuvo un R_f 0.61 y un único peak a 536 nm en el espectro de absorción, coincidiendo con lo previamente reportado para prodigiosina. Se observó una CMI de 0.5 y 1 µg/ml para *S. aureus* ATCC 43300 (*mecA* +, resistente a meticilina) y *S. aureus* ATCC 29213 (β -lactamasa *blaZ* +), respectivamente. Además, se observó una CMI \leq 0.5 µg/ml para *S. aureus* ATCC 25923 (*wild-type*), *C. diphtheriae* ATCC 13812, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. No se observó ningún efecto sobre los microorganismos gram negativos estudiados. A las 20 h de incubación, el efecto observado fue bacteriostático para *S. aureus* y *L. monocytogenes* y bactericida para *C. diphtheriae* y *E. faecalis*. **Conclusión:** La prodigiosina de *S. marcescens* mostró una actividad antimicrobiana prometedora y sugiere estudios futuros con respecto a su aplicabilidad en terapias con antibióticos dirigidos a *S. aureus* resistente a meticilina y otros microorganismos gram positivos.

Fondecyt Iniciación 11140906, Dirección de investigación Universidad de la Frontera DI17-0084.

MA074

Avaliação da atividade antimicrobiana do extracto de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe)

Marcos Costa-Silva¹, Conceição Eliane Santos², Jesus Edson Marques³, Bomfim Ellen Matos³, Erica Carvalho³, Vera Vale³. ⁽¹⁾ Departamento de Ciências da Vida, Biologia, Universidade do Estado da Bahia, Salvador, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Imunologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BR. ⁽³⁾ Departamento de Ciências Exatas e da Terra, Ciências Biológicas, Universidade do Estado da Bahia, Alagoinhas, BR.

O gengibre é uma especiaria rica em compostos aromáticos, voláteis e pungentes, os quais são os principais responsáveis pelas suas características organolépticas: aroma doce e sabor pungente. É bastante utilizado na culinária, pois realça o sabor de doces, sopas, carnes, produtos de confeitaria e padaria, bebidas alcoólicas e não alcoólicas. Essa especiaria também é utilizada na medicina popular como tratamento para inflamações, tornando importante a verificação do potencial antimicrobiano do extrato. Este estudo teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana do extrato etanólico do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), contra *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Escherichia coli* (ATCC 94863), *Micrococcus luteus* (ATCC 10240) e *Bacillus subtilis* (ATCC6633). Para a avaliação da atividade antimicrobiana foi realizado o teste de difusão em ágar, pelo método do papel filtro, aplicando-se 10µL do extrato etanólico de gengibre em uma concentração de 100 mg/mL, em disco de 6mm. Como controle positivo foi utilizado o cloranfenicol a 0,1% e o controle negativo foi utilizado etanol, ambos (10µL) impregnados em discos de 6mm. O teste foi realizado em triplicata e repetido. O resultado final foi a média das medidas dos halos, os microrganismos testados com halos de inibição de crescimento igual ou maior a 8 mm de diâmetro foram considerados susceptíveis para o extrato analisado. Antes da utilização dos discos os microrganismos foram semeados em caldo Agar Müeller-Hinton e incubados a 37°C por 24 horas e ressuspensas em solução salina na concentração de 10⁶ células/mL. Em seguida, as suspensões microbianas foram semeadas em placas Petri, com Agar Müeller-Hinton, após esse processo foram colocados os discos controles e do extrato equidistantes. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Após esse tempo foram feitas as análises e medições dos halos de inibição, onde observou-se que o extrato etanólico do gengibre inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) com halo de 9mm, e também de *Micrococcus luteus* (ATCC 10240) com halo de 8mm. O extrato etanólico do gengibre mostrou atividade antimicrobiana, isso possibilita o desenvolvimento de novos estudos para um melhor entendimento dessa atividade.

Universidade do Estado da Bahia.

MA075

Sensibilidade de *Erwinia psidii* a antibióticos para desenvolvimento de um meio semisseletivo

Hermenegildo Pollyane Da Silva¹, Ferreira Marisa A. S. V.¹ ⁽¹⁾ Departamento de Fitopatologia, Instituto de Biologia, Campus Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Brasília, BR.

Erwinia psidii (Enterobacteriaceae) é o agente causal da seca dos ponteiros da goiabeira e eucalipto. Métodos para sua detecção em mudas e árvores que sejam específicos e simples são necessários no processo de diagnose dessas doenças. Meios seletivos e semisseletivos podem ser de grande utilidade no isolamento do patógeno de material infectado e também para o enriquecimento bacteriano acoplado a técnicas moleculares como a PCR, aumentando sua sensibilidade. Os objetivos desse trabalho foram selecionar antibióticos que não inibem o crescimento de *E. psidii* (antibiograma qualitativo), e determinar sua concentração mínima inibitória, CMI (antibiograma quantitativo). No antibiograma qualitativo foram testados 25 antibióticos em seis isolados de *E. psidii*, obtidos de goiabeira e eucalipto com sintomas típicos da seca dos ponteiros. O teste foi conduzido em meio 523 semissólido, contendo 50 µl da suspensão bacteriana (~ 10⁸ UFC/ml) adicionados em 5 ml de meio. Sobre o meio solidificado, foram colocados cinco discos de papel impregnados com antibiótico, por placa, nas concentrações comerciais. Já no antibiograma quantitativo, o crescimento dos seis isolados de *E. psidii* foi testado em diferentes concentrações do antibiótico ao qual os isolados testados se mostram insensíveis. Para isso, uma camada de 10ml de 523 sólido foi vertida na placa e após seu resfriamento, uma segunda camada semissólida de 10ml do mesmo meio contendo 100µl da suspensão bacteriana foi depositada sobre a primeira camada. Em cada placa foram feitas cavidades onde foi depositada uma alíquota de 100 µl de cada uma das cinco concentrações testadas (de 1 a 5 µg/ml) e o controle (água estéril). Em ambos os experimentos foram feitas três repetições para cada isolado e as placas foram mantidas por 48h a 27 °C, quando avaliou-se a presença do halo de inibição. Dentre os 25 antibióticos testados, somente a oxacilina não inibiu o crescimento dos isolados de *E. psidii*, quando adicionada nas concentrações até 3 µg/ml, e deverá ser a base para o desenvolvimento de um meio semisseletivo para *E. psidii*.

Apoio: FAPDF, Capes, UnB.



MA076

Actividad antibacteriana de dos especies de tabaco *Nicotiana glauca* Graham y *Nicotiana tabacum* L. utilizado en la medicina tradicional en el Municipio de Mairana en Santa Cruz, Bolivia

Yulizabeth Daniela Pinto Rojas¹. ⁽¹⁾ Santa Cruz, Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno UAGRM.

Las hojas del tabaco son comúnmente utilizadas con fines medicinales en abscesos cutáneos por ciertas comunidades en Bolivia. Debido a esto el presente estudio pretende evaluar la actividad antibacteriana en diferentes extractos obtenidos a partir de las especies; *Nicotiana tabacum* L. y *Nicotiana glauca* Graham, colectadas en un municipio de Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. Ambas especies fueron sometidas a extracciones con agua, etanol y éter de petróleo como solventes. El método empleado para medir la actividad antibacteriana fue el de difusión en Placa de Bauer & Kirby; las bacterias de referencia utilizadas fueron: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus* sp., *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp. Las cepas de *P. aeruginosa* y *Salmonella* sp. presentaron mayor sensibilidad al extracto de *N. glauca* en etanol con (halos de 20mm), y *Bacillus* sp. (halos de 18 mm), A su vez *N. tabacum* tuvo mayor efecto de inhibición en *Bacillus* sp. (17 mm) y *P. aeruginosa* (halos de 18 mm). Siendo las más sensible a los extractos de estas dos plantas *P. aeruginosa* y *Bacillus* sp. El solvente con mejor capacidad extractiva de los principios activos fue el etanol y el agua de menor capacidad para ambas especies, concluyendo así que ambas especies de *Nicotiana* tuvieron efecto de inhibición en las distintas cepas bacterianas.

Laboratorio de Investigación de Microbiología Ambiental "LIMAB" de la Facultad de Ciencias Agrícolas.

MA077

Antimicrobial potential of different pelgipeptin's isoforms produced by *Paenibacillus elgii* AC13

Thiago Fellipe Araújo¹, Costa Rosiane Andrade¹, Ortega Daniel Barros¹, Fulgêncio Débora Luíza Albano¹, Barreto Cristine Chaves¹. ⁽¹⁾ School of Health and Medicine, Genomic Sciences and Biotechnology Program, Universidade Católica de Brasília, Brasília, BR.

Background: A *Paenibacillus elgii* strain (AC13) was isolated from Cerrado soil samples and is able to produce pelgipeptins, a family of cyclic cationic nonribosomal lipopeptides synthesized by a nonribosomal peptide synthase (NRPS). Pelgipeptins comprises four well-described members, pelgipeptin A-D with molecular masses ranging from 1072 to 1100 Da. All isoforms show a β -hydroxy fatty acid chain of three or four carbons linked to –N terminal region of the nonapeptide portion. In addition, the second amino acid residue may be either a valine or isoleucine. The strain AC13 also presents two additional lipopeptides with masses of 1118 Da and 1104 Da. The aim of this study was to characterize these new isoforms of pelgipeptin and to determine their Minimal Inhibitory Concentration (MIC) against two bacteria. **Methods:** *P. elgii* AC13 was grown in nutrient broth and the lipopeptides were extracted from the supernatant using butanol. The organic phase was dried and purified by HPLC-RP. Amino acid sequences were determined by mass spectrometry MALDI-ToF-MS/MS. The antimicrobial assays were performed against *Escherichia coli* ATCC11229 and *Staphylococcus aureus* ATCC14458 using the CLSI M7-A6 microdilution method. **Results:** The lipopeptide of mass 1104 Da (named pelgipeptin F) presents the same amino acid sequence of pelgipeptin C, whereas the peptide of mass 1118 Da (named pelgipeptin E) presents the same amino acid sequence of pelgipeptin B. The mass difference observed is a result of the linearization of the cyclic molecule. MICs of pelgipeptins A to E were determined as 6.25, 12.5, 6.25, 6.25, and 50 μ M against *E. coli*. MICs of pelgipeptin A to D were 12.5 μ M against *S. aureus*. Pelgipeptin E did not show activity against *S. aureus* and pelgipeptin F did not exhibit antimicrobial activity against both bacteria tested. **Conclusion:** The linear forms of pelgipeptin isoforms B and C present lower antimicrobial potential than their cyclic counterparts.

CAPES and Universidade Católica de Brasília.

MA078

Caracterización de genes de resistencia a Trimetoprim en cepas chilenas de *Shigella flexneri* aisladas entre los años 1995 y 2006

Claudia de la Iglesia¹, Tannia Quiroz¹, Vanessa Román¹, Andrea Avilés², Germán Hermosilla³, Ulloa María Teresa³, Salazar Juan Carlos³, Toro Cecilia Shirley³. ⁽¹⁾ Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Bioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Shigella spp. es un patógeno de reservorio humano que se transmite generalmente de manera fecal-oral, a través de alimentos contaminados. Es el agente etiológico de la shigelosis, diarrea mucopurulenta para la cual el uso de antibióticos permite disminuir tanto la duración de los síntomas como la tasa de excreción del patógeno. En Chile, la shigelosis se produce principalmente por *S. sonnei* y *S. flexneri*, aislándose *S. flexneri* en alrededor de un 43% de los casos. La combinación trimetoprim (TMP) - sulfametoxazol es uno de los antimicrobianos utilizados en el tratamiento de esta infección, sin embargo, la resistencia ha aumentado considerablemente en los últimos años en nuestro país (45 a 100%, desde 1995 al 2009). Esta resistencia se asocia principalmente a la presencia de los genes *dfrA* y *dfrB*, con más de 30 alelos, que codifican para enzimas variantes de la dihidrofolato reductasa nativa, *folA*. Estudios previos de nuestro laboratorio detectaron la presencia de los genes *dfrA1* y *dfrA8* en las cepas chilenas de *S. flexneri*, destacándose *dfrA1* en un 90% de las cepas resistentes, frecuentemente asociado a un integrón de clase 2, y confiriendo además resistencia a estreptomicina. En un grupo de 80 cepas de *S. sonnei* más recientes (2009) se detectó *dfrA14* como único gen de resistencia a TMP (TMP^R) y una cepa más antigua con *dfrA15*. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia y distribución de *dfrA14* y *dfrA15* en cepas de *S. flexneri* aisladas entre 1995 y 2006, mediante PCR, y determinar su asociación con integrones y plásmidos conjugativos. De 57 cepas estudiadas, 42 (74%) eran TMP^R, de las cuales ninguna presentó *dfrA14*, el gen *dfrA15* se encontró sólo en 1 cepa (2%), *dfrA8* en cuatro cepas (10%) y *dfrA1* como gen de TMP^R más frecuente en 37 cepas (88%). Mediante conjugación, se transfirió el fenotipo TMP^R a *E. coli*, identificando dos plásmidos distintos que portan *dfrA1* en el contexto de un integrón clase 2 atípico, y *dfrA15* en un plásmido que no porta integrones. Estos resultados muestran la variabilidad de elementos genéticos móviles presentes en *S. flexneri* y sugieren que éstos dan cuenta del aumento de la resistencia a TMP en Chile.

FONDECYT 1130394.

MA079

Inibição do crescimento micelial e esporulação de *Aspergillus niger* por combinação de óleo essencial

Lima Renata De¹, Barbosa Leonardo Oliveira¹, Rocha Welica Zaiana Bastos², Passos Camila Pereira², Silva Franceli Da¹.

⁽¹⁾ Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, CCAAB, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BR. ⁽²⁾ Graduação em Agronomia, CCAAB, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BR.

A podridão vermelha do sisal é uma doença causada por *Aspergillus niger* e tem ameaçado a sustentabilidade da cultura na região semiárida do Brasil. Os óleos essenciais (OEs) são metabólitos secundários produzidos pelas plantas e que podem possuir bioatividades sobre microrganismos. A combinação de diferentes OEs é uma estratégia que tem sido adotada para aumentar a eficiência de controle de doenças e fitopatógenos. Nesse contexto, objetivou-se avaliar o efeito da combinação de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) NE Brown e *Ocimum basilicum* L. sobre *A. niger*. Os OEs foram extraídos pelo método de hidrodestilação. O isolado de *A. niger* foi crescido em placa de Petri contendo meio Batata Dextrose Agar (BDA) a 28° C por oito dias. No método de diluição em meio de cultura o OE de *L. alba* nas concentrações (2, 4, 8 e 16 µL mL⁻¹) e *O. basilicum* (0,5, 1, 2 e 4 µL mL⁻¹) foi diluído em Tween 20 (10%), e suas combinações (v/v) foram adicionados ao BDA. O controle consistiu do meio sem adição de OE. Após a homogeneização do meio com OE estes foram distribuídos em placas de Petri e foi transferido um disco (5 mm) de micélio do patógeno. As placas foram vedadas e incubadas a 28°C por oito dias. Após esse período foi avaliado o crescimento micelial e esporulação. Os OEs individuais e combinados de *L. alba* e *O. basilicum* proporcionaram uma redução significativa ($p < 0,01$) no crescimento micelial e esporulação de *A. niger*. Os tratamentos L16, L16+M4, L16+M1, L16+M0,5 e L8+M4 obtiveram uma redução de aproximadamente 30% no diâmetro das colônias em comparação com o controle (8,8 cm). Todos os tratamentos conseguiram diminuir a produção de esporos exceto os tratamentos L2 e L2+M2 que não diferiram do controle ($4,7 \times 10^6$ conídeos. cm²). Exceto pelas combinações L16+M4, L2+M0,5 e L2+M2, todas as demais combinações foram eficientes na inibição da esporulação de *A. niger*, alcançando resultado semelhante ou superior ao da aplicação individual dos OEs. Portanto, conclui-se que a depender da concentração e combinação, os OEs de *L. alba* e *O. basilicum* podem inibir o crescimento e esporulação de *A. niger*.

CAPES, CNPq, UFRB.

MA080

Evaluación de la susceptibilidad a la penicilina-estreptomicina de células sésiles y biofilms de *Staphylococcus aureus* asociados a mastitis subclínica

Alvaro Gonzalez Revello¹, Rosario De Los Santos¹, Virginia Micol¹, Bettiana Izquierdo¹, Andrés Gil Rodríguez², Dario Hirigoyen^{1,3}, Pablo Zunino⁴. ⁽¹⁾ Ciencia y tecnología de la Leche, Facultad de Veterinaria, UDELAR, Montevideo, UY.

⁽²⁾ Estadística, Facultad de Veterinaria, UDELAR, Montevideo, UY. ⁽³⁾ Director Regional, INIA La Estanzuela, Colonia, UY.

⁽⁴⁾ Microbiología, IIBCE, Ministerio de Educación y Cultura, Montevideo, UY.

En Uruguay *Staphylococcus aureus* es uno de los agentes más importantes causante de mastitis subclínica bovina. La combinación de penicilina-estreptomicina es una de las asociaciones más comúnmente utilizadas para el tratamiento y control de la mastitis bovina. Entre las principales estrategias que emplea *Staphylococcus aureus* para su sobrevivencia se encuentra la formación de biofilm. Se estima que los biofilms desarrollados por aislamientos obtenidos de mastitis bovinas son altamente resistentes a los antimicrobianos e incluso concentraciones inhibitorias subliminales inducirían en algunas cepas a su formación. El objetivo de este trabajo fue evaluar la susceptibilidad a la penicilina-estreptomicina, de células sésiles y de biofilms, de cepas de *S. aureus* asociados a mastitis subclínica. Se determinó en tres aislamientos, la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM) en las células planctónicas, utilizando el método de microdilución. Asimismo, se evaluó sobre un biofilm formado en 24 h, en leche descremada UHT, la susceptibilidad al mismo antibiótico, determinando las concentraciones mínimas inhibitoria de biofilm (CMIB) y de erradicación de biofilm (CMEB). Las cepas planctónicas fueron sensibles a los antibióticos en estudio, la CIM varió entre 1,5-6,1 y 1,9-7,6 µg/mL de penicilina-estreptomicina respectivamente. La CBM fue más de 10 veces superior, con una variación entre las cepas de 24,4-97,6 y 30,5-122 µg/mL de penicilina-estreptomicina respectivamente. Las concentraciones inhibitorias mínimas del biofilm producido en leche resultaron entre 20-80 veces mayores a las inhibitorias de las células planctónicas. La más alta concentración de penicilina-estreptomicina empleada (6250 µg/mL de penicilina y 7810 µg/mL de estreptomicina) no logró erradicar el biofilm previamente formado, por lo que la CMEB se encontraría en concentraciones superiores y sería mayor a 1000 veces la utilizada para inhibir el crecimiento de la célula planctónica. Los resultados de este trabajo, que concuerdan con otros autores, dan cuenta de la importancia de la presencia de biofilm al momento de instaurar un tratamiento, apoyando la experiencia clínica, en donde las concentraciones de los antibióticos a las cuales las bacterias muestran ser sensibles *in vitro* son incapaces de eliminar a los estafilococos del lugar *in vivo* (formando biofilms).

CCISA, Facultad de Veterinaria.

MA081

Analysis of antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates obtained from patients submitted to peritoneal dialysis and diagnosed with peritonitis in a Brazilian Center

Dias Regiane C B¹, Vieira Melissa Arruda¹, Moro Ana Cláudia¹, Soares Flávia Barrosa², Tiba-Casas Monique Ribeiro², Camargo Carlos Henrique², Dos Santos Luis Fernando², Cunha Maria De Lourdes R De Souza¹, Pasqual Barretti³, Hernandes Rodrigo Tavanelli¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, BR. ⁽²⁾ Centro de Bacteriologia/ Núcleo de Doenças Entéricas e Infecções por Patógenos Especiais, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, BR. ⁽³⁾ Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, BR.

Peritonitis is the main cause of peritoneal dialysis (PD) failure, influencing the mortality of patients. Among the infectious peritonitis due to Gram-negative bacilli (GNB), *Escherichia coli* is one of the most frequent etiologic agents. The aim of this study was to investigate the antimicrobial resistance of *E. coli* isolates, obtained from patients undergoing peritoneal dialysis and diagnosed with peritonitis, occurred from 1997 to 2015, at University Hospital of Botucatu Medical School, São Paulo State, Brazil. The antimicrobial resistance profile was determined based on the interpretations of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), obtained by E-test, with the antimicrobial drugs: amikacin, ceftazidime, cefepime, ciprofloxacin and imipenem. The Extended-Spectrum β -lactamase (ESBL) production was investigated by double disk-synergism test, and the following ESBLs genes were searched by PCR: *bla*_{CTX-M}, *bla*_{CTX-M-2}, *bla*_{CTX-M-8}, *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{SHV} and *bla*_{TEM}. Quinolone resistance mutations in the DNA gyrase *gyrA* and *gyrB* genes was investigated by sequencing analysis; and the occurrence of plasmid mediated quinolone resistance (PMQR) genes were done by PCR. In this retrospective 18-year study, 178 peritonitis episodes due GNB were recovered. Among these episodes, 61.2% were caused by members of the Enterobacteriaceae family, of which we obtained 27 *E. coli* isolates. Two isolates presented a susceptible-dose dependent MIC to cefepime and ESBL-production was confirmed in these isolates. The *bla*_{CTX-M-2-group} and *bla*_{CTX-M-9-group} genes were detected in these isolates, concomitantly with the *bla*_{TEM-1}. Five isolates were resistant to ciprofloxacin and one showed MIC compatible with the intermediate category, and presented only one mutation at the codon Ser-83 to Leu in the *gyrA* gene. The five *E. coli* isolates resistant to ciprofloxacin, showed two amino acid substitution at codons, *i.e.*, Ser-83 to Leu and Asp-87 to Asn; besides two isolates that harbored the *aac(6')-Ib-cr* PMQR-gene. Based on clinical data, the cure of the peritonitis was observed in 13 of the 27 patients included in this study, and seven died with active peritonitis. In conclusion, the analysis of the antimicrobial resistance of *E. coli* isolates, from patients with PD-peritonitis, demonstrated a high susceptibility to the antimicrobials tested, despite the failure of the treatment observed in several patients included in this study.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP N° 2013/21379-8).

MA082

Antifungal activity of scorpion-venom derived antimicrobial peptides on *Candida albicans* and *Paracoccidioides brasiliensis* cells

Dias Jhones N¹, Souza-Silva Calliandra M¹, Araújo Alyne R², Souza Jessica M T², Patrícia Albuquerque¹, Ildinete Silva-Pereira¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, BR. ⁽²⁾ Biotecnologia, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, BR.

The incidence of fungal systemic infections is currently increasing, accounting to high mortality and morbidity rates. Thus, the development of more efficient drugs is urgently required. The present work aims to determine the antifungal activity of antimicrobial peptides (AMPs) against *Candida albicans* and *Paracoccidioides brasiliensis*. The AMPs ToAP1, ToAP2 and NDBP-5.7 were chemically synthesized according to putative AMP cDNA sequences from the venom gland of scorpions. We determined the Minimum inhibitory concentration (MIC) for each. We also evaluated the possible effects of these peptides on *C. albicans* filamentation. Synergy of multiple pairwise combinations of AMPs or AMP combinations with fluconazole and amphotericin B was evaluated using the microdilution checkerboard test. Finally, we evaluated possible effects of those AMPs on the *C. albicans* cell structure after 24 hours of treatment by atomic force microscopy (AFM). ToAP2 was the most effective for both *C. albicans* (6,25 μ M) and *P. brasiliensis* (12,5 μ M). MICs values for ToAP1 and NDBP-5.7 were 50 μ M and 25 μ M respectively for *C. albicans* and 50 μ M for both AMPs in *P. brasiliensis*. After 4 hours of incubation of *C. albicans* cells with ToAP2 (12,5 μ M) and NDBP-5.7 (25 μ M), there were a decrease of 47 and 24% in the percentage of fungal cells presenting germ tubes. The checkerboard assay revealed an additive effect of NDBP-5.7 with fluconazol (FICI mean: 0.54) and a synergistic effect of ToAP1 and ToAP2 with fluconazole with FICI means of 0.5. There was also a synergistic effect in the combination of ToAP1 with ToAP2 (FICI mean: 0.39) and an additive effect of the combination of ToAP2 and NDBP-5.7 (FICI mean: 0.53). Synergistic effects were observed with all AMPs when combined with amphotericin B AFM imaging demonstrated that NDBP-5.4 treatment induced an increase in the cell size and morphology of *C. albicans* cells, while treatment with ToAP1 did not induced any noticeable differences in cell size or morphology. These results reinforce the potential of these molecules in antifungal therapy and point out to the need of more studies for better characterization of these molecules and their mechanism of action.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq; Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF; Universidade de Brasília.

MA083

Association phenotype-genotype of antimicrobial resistance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) obtained in Chile

Leonela Diaz¹, Jimenez Maria Fernanda¹, Patricia Gallardo¹, Herve Luis Pablo², Magaly Toro¹. ⁽¹⁾ Lab. Microbiología, INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Depto. Ciencias Clínicas, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) is an emerging foodborne pathogen that causes isolated cases and outbreaks of diarrhea. Complications such as the hemolytic uremic syndrome are described in children and immunosuppressed patients. Antimicrobial resistance (AMR) in STEC is increasing, and resistance to streptomycin, sulfonamides and tetracycline is frequent. Our main goal was to characterize phenotypic and genotypic AMR in STEC obtained in Chile. AMR of 66 STEC isolates was determined by screening through a disc diffusion (DD) test and confirmed by minimum inhibitory concentration (CMI) test against the following antimicrobials following CLSI protocols: ampicillin, amoxicilin+clavulanic acid, ceftiofur, ceftriaxone, cefoxitin, imiprem, gentamicin, streptomycin, azithromycin, tetracycline, ciprofloxacin, nalidixic acid, sulfisoxazole, trimethoprim/sulfamethoxazole and chloramphenicol. Additionally, bacterial genomes were sequenced using the Nextera-XT kit for library preparation and the MiSeq Illumina™ technology with 250 end pair reads. Genomes were assembled with CLC-genomics-workbench software and stored as FASTA files. Genomes were explored for AMR genes with the ResFinder 3.0 platform (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/resfinder>) provided by the Technical University of Denmark. The RAST server and the BLASTn suite (NCBI) were used to characterize the contigs carrying AMR genes. All isolates were susceptible to amoxicilin+clavulanic acid, ceftiofur, ceftriaxone, cefoxitin, imiprem, gentamicin, azithromycin, ciprofloxacin, and trimethoprim/sulfamethoxazole. CMI confirmed AMR in five isolates (7.6%), and AMR genetic determinants were found only in the same isolates. There was consistency between phenotypic and genotypic AMR: The gene *tetA* was present in one cattle isolate which was resistant to tetracycline; ground beef isolates (3) were all resistant to streptomycin, sulfisoxazole, and tetracycline and carried genes *strA*, *strB*; *sul2* and *tetB* that determine resistance to the same antimicrobials. Finally, the clinical isolate was resistant to tetracycline, sulfisoxazole, streptomycin, trimethoprim/sulfamethoxazole, and ampicillin, and carried AMR genes *tetB*, *sul2*, *aadA1*, *dfrA1* and *blaTEM-1A*. Genes *aadA1*, *dfrA1* y *tetB* were located in the same contig which carried a *IntI2* gene, and gene *blaTEM-1A* was carried in a plasmid. We concluded that STEC carries AMR genes which might be determining AMR. Some of the AMR genetic determinants are present in mobile genetic elements.

FONDECYT 11150491.

MA084

Two new fluorinated phenol derivatives pyridine Schiff bases: synthesis, spectral, theoretical characterization, inclusion in epichlorohydrin- β -cyclodextrin polymer, and antifungal effect

Alexander Carreño¹, Dayán Páez-Hernández¹, Rudy Martín-Trasanco¹, Macarena Rivera², Ramiro Arratia-Pérez¹, **Fuentes Juan A.**². ⁽¹⁾ Center of Applied Nanosciences (CANS), Ciencias Exactas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Ciencias Biológicas, Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

It has been reported that the structure of the Schiff bases is fundamental for their function in biomedical applications. Pyridine Schiff bases are characterized by the presence of a pyridine and a phenolic ring, connected by an azomethine group. In this case, the nitrogen present in the pyridine is responsible for antifungal effects, where the phenolic ring may be also participating in this bioactivity. In this study, we synthesized two new pyridine Schiff Bases: (*E*)-2-[(4-Amino-pyridin-3-ylimino)-methyl]-4,6-difluoro-phenol (F1) and (*E*)-2-[(4-Amino-epyrindin-3-ylimino)-methyl]-4-fluoro-phenol (F2), which only differ in the fluorine substitutions in the phenolic ring. We fully characterized both F1 and F2 by FTIR, UV-vis, ¹H; ¹³C; ¹⁹F-NMR, DEPT, HHCOSY, TOCSY and cyclic voltammetry, as well as by computational studies (DFT), and NBO analysis. In addition, we assessed the antifungal activity of both F1 (two fluorine substitution at positions 4 and 6 in the phenolic ring) and F2 (one fluorine substitution at position 4 in the phenolic ring) against yeasts. We found that only F1 exerted a clear antifungal activity, showing that, for these kind of Schiff bases, the phenolic ring substitutions can modulate biological properties. In addition, we included F1 and F2 into in epichlorohydrin- β -cyclodextrin polymer (β CD), where the Schiff bases remained inside the β CD as determined by the *ki*, TGA, DSC, and SBET. We found that the inclusion in β CD improved the solubility in aqueous media and the antifungal activity of both F1 and F2, revealing antimicrobial effects normally hidden by the presence of common solvents (e.g. DMSO) with some cellular inhibitory activity. The study of structural prerequisites for antimicrobial activity, and the inclusion in polymers to improve solubility, is important for the design of new drugs.

This work was funded by FONDECYT 11170637; D. Páez-Hernández thanks FONDECYT 11140294, R. Arratia-Pérez thanks FONDECYT 1150629, and J. A. Fuentes thanks FONDECYT 1181638 and Proyecto Núcleo UNAB DI-1419-16/N.

MA085

Ação anti-biofilme do extrato glicólico de *Juglans regia*: redução de bactérias anaeróbias, aeróbias e multi-resistentes

Lucas Ramos¹, Simone Aparecida Biazzi De Lapena¹, Santos Carlos Eduardo Rocha¹, Assis Maria Angélica De Sá¹, Carvalho Claudio Antonio Talge¹, Oliveira Luciane Dias¹. ⁽¹⁾ Biociências e Diagnóstico Bucal, Instituto de Ciência e Tecnologia, campus de São José dos Campos, UNESP.

Juglans regia (nogueira) possui grande atividade anti-oxidante, anti-parasitária e antimicrobiana, apesar disso poucos estudos avaliam sua atividade anti-biofilme, assim os objetivos foram avaliar a ação anti-biofilme do extrato glicólico de *J. regia* sobre cepas ATCC de *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Porphyromonas endodontalis* (ATCC 35406), *Parvimonas micra* (ATCC 33270), *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586), *Prevotella intermedia* (ATCC 33563), *Pseudomonas aeruginosa* (15442), *Streptococcus mutans* (35688), *Candida albicans* (18804) e *Klebsiella pneumoniae* (4352), bem como a avaliação do extrato sobre cepas multi-resistentes de *Klebsiella pneumoniae* 400381, 386546 e 367725 provenientes do laboratório Bioclin - São José dos Campos, Brasil. Inicialmente foi aplicado o teste de microdiluição em caldo, protocolos M7-A10 e M11-A8. As cepas que obtiveram CMM (concentração microbicida mínima) foram selecionadas para os testes em biofilmes, onde soluções padronizadas em 10^7 foram transferidas para microplacas de 96 poços e cultivadas em caldo BHI por 48h/37°C, já os anaeróbios seguiram em incubação por 168h/37°C em caldo brucella enriquecido com hemina e menadiona e estruturados com suspensões padronizadas em 10^8 . Os tratamentos foram carreados por 5 min com 200, 100 e 50 mg/ml do extrato, como controle foi utilizada solução salina estéril a 0,9%. Os biofilmes aeróbios foram mensurados pelos testes de MTT e cristal violeta, para os anaeróbios foi utilizada a contagem de UFC/ml. *C. albicans*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa* obtiveram CMM com 50 mg/ml, enquanto *S. aureus*, *S. mutans* e *E. faecalis* não obtiveram CMM. As cepas anaeróbias obtiveram CMM com 100 mg/ml do extrato. Os biofilmes de *C. albicans* e *P. aeruginosa* foram reduzidos em 19,8 e 61,0% com 200 mg/ml. As cepas 400381, 386546 e 367725 foram reduzidas em 34,6, 44,3 e 50,9% com 50 mg/ml. Já as anaeróbias obtiveram reduções de 100% com 200 mg/ml. Em conclusão o extrato de *J. regia* obteve ação anti-biofilme sobre *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra* e as cepas multi-resistentes de *K. pneumoniae*, enfatizando a eliminação do biofilme de anaeróbios e a redução nos biofilmes multi-resistentes de *K. pneumoniae*.

MA086

CtpF: a potential target for anti-tubercular drugs

Santos-Ruiz Paola A.¹, López-Vallejo Fabián H.¹, Ramírez-Sánchez David M.², Julio Caballero², Soto-Ospina Carlos Y.¹.

⁽¹⁾ Biochemistry and Molecular Biology of Mycobacteria, Faculty of Science, National University of Colombia, Bogotá D.C, CO. ⁽²⁾ Center for Bioinformatics and Molecular Simulation, Faculty of Engineering, Talca University, Talca, CL.

Tuberculosis (TB) remains one of the most dreaded human diseases worldwide. The emergence of multi-drug resistant (MDR) and extensively drug resistant (XDR) *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) strains has driven the finding of new therapeutic targets to the development of novel anti-TB drugs. Mycobacterial P-type ATPases could be interesting anti-TB targets. It was previously observed that CtpF (Rv1997), a putative Ca²⁺-ATPase of Mtb that shows a high degree of sequence identity with the sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase (SERCA1a), is activated under hypoxia and infection conditions; therefore, CtpF could be a potential drug target. The cyclopiazonic acid (CPA) has already been shown to bind and inhibit SERCA1a by locking its structure in a defined conformational state. Therefore, we find to evaluate the possible inhibition of CtpF by CPA. As a starting point, we constructed a model for CtpF by homology modelled using SERCA1a structure co-crystallized with a molecule of CPA as a modelling template. We observed a structural similarity between the two proteins showed good identity in and around the active site. Molecular docking calculations further predicted that the binding mode is similar between these two models. On the other hand, the Ca²⁺ dependent ATPase activity in plasma membrane vesicles of Mtb Ra was inhibited in a concentration dependent manner from a concentration of 10 μM CPA. We also observed that the inhibition of Ca²⁺ ATPase activity is associated with a diminished mycobacterial survival. Furthermore, in this work we aim to identify novel inhibitors based on CPA moiety as a prototype. A pharmacophore-based library for screening of compounds was performed using the ZincPharmer query. This library was then virtually screened against the CtpF using molecular docking calculations and MM-BGSA simulations. After screening, ten compounds with lowest binding energy were chosen. All of the selected compounds displayed lower binding energy than CPA (-5,05 kcal/mol), ranging from -10.0 to -6,5 kcal/mol. Using this combined approach, we characterized for the first time, the interaction of CPA with CtpF and we propose new compounds with possible antimycobacterial activity.

This work was supported by Colciencias (Grant 110171250419), and the Division of Investigations Bogotá, (Grant 35885). Paola A. Santos-Ruiz is fellows of the “617-2013” National Scholarship Program, Colciencias, Colombia.

MA087

Detecção de resistência de *Aspergillus fumigatus* a antifúngicos pela técnica de espectrometria de massas (MALDI-TOF MS)

De Araujo Eduardo Marques³, Da Silva Teresinha Gonçalves², Galindo Hugo Marques³, De Santana Raphael Carlos Ferrer⁴, Neves Rejane Pereira³, De Lira Diana Duarte³, Pascal Marchand¹, Lima Maria Eduarda Costa³, Patrice Le Pape¹, Gusmão Norma Buarques³, Lima Neto Reginaldo Gonçalves³. ⁽¹⁾ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, University of Nantes, Nantes, FR. ⁽²⁾ Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽³⁾ Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, Campus Recife, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR.

Aspergillus fumigatus um patógeno oportunista cosmopolita é o principal agente mundial de aspergilose, micose que apresenta manifestações inespecíficas, dependem da resposta imune do hospedeiro e tem rápida progressão. Tem como antifúngicos instituídos para o tratamento as drogas azolicas itraconazol ou voriconazol, que inibem de forma não competitiva e reversível, enzimas que participam das etapas finais da biossíntese do ergosterol. Uma mutação genética que confere resistência a drogas azolicas em espécies de *Aspergillus* vem se tornando um problema de saúde pública. Adicionalmente, as técnicas utilizadas na rotina hospitalar para o diagnostico dessa infecção não demonstram a devida acurácia e exatidão, além da morosidade de 48 horas para o conhecimento da concentração mínima inibitória (CIM). Neste contexto, a utilização da espectrometria de massa através da técnica de MALDI-TOF MS reduz o tempo de diagnóstico consideravelmente, comparando com métodos de rotina ao determinar o fingerprint proteico do isolado clínico. Assim, objetivou-se determinar a CIM de itraconazol e voriconazol e determinar as alterações no perfil proteico promovidas por esses antifúngicos contra linhagens de *Aspergillus fumigatus* e relacioná-los a resistência fúngica. Para o desenvolvimento desse trabalho foram obtidos 20 isolados de *A. fumigatus* estocados na Coleção de Culturas URM e um isolado da Universidade de Nantes, França. Todos foram submetidos a testes de sensibilidade antifúngica através do método de microdiluição em caldo. A detecção de resistência foi determinada pela mudança mínima do plano espectral proteico obtida no MALDI-TOF MS, após o cruzamento de cada concentração do espectro com uma das duas concentrações extremas, máxima ou nula, onde se formou uma matriz a partir do Índice de Correlação do Composto, que foi utilizado para gerar mapas de calor. Entre os *Aspergillus fumigatus* testados, dois apresentaram CIM relacionado a resistência ao voriconazol. A CIM e a mudança mínima no perfil proteico obtido através do CLSI e MALDI-TOF apresentaram concordância de 85,7% e 90,47% para voriconazol e itraconazol, respectivamente. Com a técnica do MALDI-TOF MS foi possível determinar o breakpoint de *Aspergillus fumigatus* após 3 horas de exposição ao antifúngico e permitiu prever a melhor escolha terapêutica para pacientes com algum quadro infeccioso por esse fungo filamentosos.

CAPES; Laboratório de Microbiologia Ambiental e Industrial – LAMAI – Departamento de BIOLOGIA DE FUNGOS – CB; CETENE; CAPES-COFECUB

MA088

Anti-biofilm action promoted by barbatimão glycolic extract (*Stryphnodendron barbatiman*) on anaerobic bacteria

Petri E Silva Simone Carolina Soares¹, Sper Fabia Lugli², Isabela Amendola², Biazzini Lapena Simone Aparecida¹, Rosário Palma Ana Luiza¹, Ramos Lucas Paula¹, Talge Carvalho Cláudio Antônio², De Oliveira Luciane Dias². ⁽¹⁾ Instituto de Ciências da Saúde, Farmácia, Instituto Taubaté de Ensino Superior, Taubaté, BR. ⁽²⁾ Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, São José Dos Campos, BR.

Stryphnodendron barbatiman is popularly known as barbatimão, this plant has many biological activities as anti-inflammatory, anti-oxidant and healing action, however, few studies are evaluating the antimicrobial action of the extract. Thus the aim was evaluate the anti-biofilm action of the glycolic extract by barbatimão on aerobic strains of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* and the anaerobic strains of *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Parvimonas micra* and *Fusobacterium nucleatum*, in addition to cytotoxicity on keratinocytes humans (HaCat). First, the broth microdilution test was carried, followed by protocols M11-A8 and M7-A10 by CLSI. After, the strains that obtained MMC (minimum microbicide concentration) were selected for the tests in biofilm, in microplates of 96 wells. The aerobic biofilms were structured with 10^7 cells/ml and incubated for 48 h/37°C in BHI broth. Anaerobics have been standardized in 10^8 cells/ml and grown in brucella broth enriched with hemin and menadione, incubated by 168h/37°C. The treatments were applied for 5 min, with 200, 100 and 50 mg/ml of the extract. The measurement of the aerobic biofilms was performed by the MTT test, for the anaerobes was performed the CFU/ml count. Cytotoxicity was analyzed on HaCat cells, where 4×10^4 cells/Poco was exposed to 10 concentrations of the extract for 5 min, followed by the cellular viability Analysis (MTT). Data -analyzed by ANOVA and Tukey ($p < 0.05\%$). Results showed that *S. aureus*, *S. mutans*, *E. faecalis* and *C. albicans* did not obtain MMC, already *P. aeruginosa* obtained MMC with 50 mg/ml. Anaerobics obtained MMC with 100 mg/ml. Biofilms of *P. aeruginosa* was reduced by 20%, *F. nucleatum* obtained a reduction of 60%, already *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, and *P. micra* obtained the total eradication of the biofilm with 200 mg/ml. The extract applied to HaCat cells presented minimum viability of 74.7%. In conclusion, extract of Barbatimão demonstrated anti-biofilm action on *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. micra*, *F. nucleatum*, *P. aeruginosa* and did not show cytotoxic on HaCat cells.

MA089

Perfil de suscetibilidade a antifúngicos de leveduras isoladas de uma laguna no sul do Brasil

Pezzi Eduarda H¹, Pagani Danielle M³, Vieira Audren M¹, Oliveira Renata O¹, Rios Iasmin Da S², Tavares Carine C³, Daiane Heidrich³, Maria Lúcia Scroferneker³, Da Silva Patricia V³. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽²⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Fungos Patogênicos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR.

As leveduras são fungos cosmopolitas e são encontradas em diversos ambientes como oceanos e lagunas que possuem papel ecológico fundamental e sofrem diferentes graus de impactos antrópicos. Podendo conter cepas resistentes a antifúngicos. O objetivo do trabalho foi avaliar a resistência a antifúngicos de leveduras isoladas da Laguna Tramandaí, costa sul do Brasil. As amostras de água foram coletadas, três alíquotas de 250mL, em quatro pontos: estuário, meio da laguna, margem preservada e próximo aos condomínios; mantidas a 5º-12ºC e levadas para processamento. Para o isolamento foram utilizados ágar e caldo YM acidificado (pH 4,5) e antifúngicos: anfotericina B (0,5µg/mL), fluconazol (8µg/mL), caspofungina e terbinafina (ambas com 1 µg/mL), incubadas a 25ºC por 7 dias. Após o crescimento, as colônias foram contadas e representantes de cada morfotipo foram isolados. Estes foram purificados e estocados em meio YM com glicerol 30% em ultrafreezer e em meio GYMP coberto com óleo mineral, a 4ºC. Para a atividade antifúngica foi realizado o protocolo M27-A3 do Clinical and Laboratory Standards Institute, através de microdiluição. As colônias foram repicadas em ágar dextrose Sabouraud e incubadas por 48h a 25ºC. Posteriormente inoculadas em solução salina estéril (0,85%) em uma concentração de células em torno de $2,5 \times 10^3$ UFC/mL. Os testes de resistência a antifúngicos foram realizados com 10 dos isolados de leveduras, em triplicata, utilizando microplacas de 96 poços contendo os antifúngicos: anfotericina B (128 µg/mL), fluconazol (2048 µg/mL), terbinafina e caspofungina (256 µg/mL), sendo incubadas por 48h a 35ºC. A leitura de concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada visualmente, com confirmação de leitura em espectrofotômetro a 660 nm. A CIM para fluconazol foi de 1024 µg/mL para 20% dos isolados testados e de 512 µg/mL para 50%. Já para terbinafina foi de 256 µg/mL para 80%, enquanto para os demais a CIM foi de 128 µg/mL. A anfotericina B apresentou um CIM de 128 µg/mL para 20% das leveduras, outros 20% foram inibidos com 64 µg/mL. E 20% dos isolados apresentaram CIM para caspofungina maior que 128 µg/mL, enquanto 40% foram inibidos com 64 µg/mL. Com estes resultados, sugerimos que a laguna atua como um reservatório de genes de resistência a antifúngicos, sendo importante o monitoramento constante desse ambiente.

MA090

Evaluación del potencial de bacterias productoras naturales de ácido succínico para aprovechamiento de glicerina bruta

Acevedo Jaramillo Lizeth Y.¹, Marcela Jauhar Cardoso Mendonça Bessa², Diogo Simas Bernardes Dias³, Viridiana Santana Ferreira-Leitão⁴, Eliana Camporese Sérvulo⁵. ⁽¹⁾ Departamento de Engenharia Bioquímica, Laboratório de Biocorrosão, Biodegradação e Biossíntese, Escola de Química, Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Engenharia Química, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, BR. ⁽³⁾ Serviços de Tecnologias Limpas, Laboratório de Biotecnologia (LaBiotec), Centro de Tecnologia Mineral (CETEM), Rio de Janeiro, BR. ⁽⁴⁾ Divisão de Catálise e Processos Químicos (DICAP), Laboratório de Biocatálise (Labic), Instituto Nacional de Tecnologia (INT), Rio de Janeiro, BR. ⁽⁵⁾ Engenharia Bioquímica, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, BR.

El panorama actual de alta disponibilidad y continua generación de glicerina bruta, asociada principalmente a la industria del biodiesel, demanda un tratamiento adecuado para mitigación de sus impactos ambientales. Una alternativa para el aprovechamiento de esta glicerina es su uso como fuente de sustrato para producción de ácido succínico, el cual ha sido apuntado como uno de los ácidos orgánicos de mayor potencialidad biotecnológica. La producción de ácido succínico por micro-organismos naturalmente productores es un proceso bioquímico complejo, que envuelve caminos metabólicos paralelos, los cuales pueden llevar a la cogeneración de diversos metabolitos. Considerando lo anterior, en este trabajo fue estudiada comparativamente la capacidad de las bacterias *Actinobacillus succinogenes* 130Z y *Basfia succiniciproducens* JF4016 para producción de ácido succínico a partir de glicerol P.A y glicerina bruta. Los ensayos fueron realizados en frascos de penicilina conteniendo 80 mL del medio de fermentación, el cual fue compuesto por extracto de levadura, K_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, NaCl, $CaCl_2$, $NaNO_3$, $NaHCO_3$. Los ensayos fueron realizados por triplicado, en condición de oxígeno reducido, usando un inóculo de 10% (v/v) a 37°C y 150 rpm, por 12 horas. Las muestras fueron centrifugadas y filtradas para análisis por HPLC. De forma general y en las condiciones estudiadas, para las dos especies no fueron observadas diferencias considerables entre los ensayos con glicerol e glicerina bruta. Comparando las especies, *A. succinogenes* 130Z presentó un consumo de sustrato de 13% en cuanto *B. succiniciproducens* JF4016 mostró mayor capacidad de asimilación con 36% de sustrato consumido. En todos los ensayos fue observada la producción de subproductos, indicando el favorecimiento de caminos metabólicos paralelos en las condiciones evaluadas. Finalmente y considerando el uso de glicerina bruta para producción de ácido succínico, la bacteria *B. succiniciproducens* JF4016 presentó mejor desempeño, con una concentración 9,5 veces superior a la obtenida con *A. succinogenes* 130Z. De esta forma, el aprovechamiento de glicerina bruta para producción de ácido succínico presenta oportunidades de desarrollo tecnológico, siendo necesario estudios para aumento de la asimilación del sustrato, optimización del medio de fermentación y de los regímenes del proceso para favorecimiento de la ruta metabólica y aumento de la producción.

Los autores agradecen al Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasil) por el soporte financiero y al Instituto Nacional de Tecnologia (INT, Brasil) por el soporte técnico.

MA091

Desarrollo y validación de un sistema de “ELISA casero” basado en la expresión de la proteína recombinante VP6 en *E. coli*, para el diagnóstico de Rotavirus del grupo A

Leonarda Acha¹, Ewald Beck², Ulices Caceres³, Volga Iñiguez¹. ⁽¹⁾ Instituto de Biología Molecular y Biotecnología, Facultad de Ciencias Puras y Naturales - Carrera de Biología, Universidad Mayor de San Andrés. ⁽²⁾ GEFEK, GEFEK, Frankfurt, DE. ⁽³⁾ Instituto de Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Técnica de Oruro, Oruro, BO.

Rotavirus del grupo A (RVA) es el agente causal más importante de gastroenteritis en niños menores de 5 años y en crías de mamíferos domésticos. El diagnóstico de RVA es importante para identificar a este patógeno, conocer su epidemiología y considerar medidas de control. Los métodos inmunológicos de detección de RVA están generalmente basados en la proteína VP6, la más abundante del virión. En este estudio se reporta el desarrollo de un “ELISA casero” para la detección de RVA, basado en la expresión en *E. coli* de la proteína recombinante VP6 de rotavirus humano. Se utilizó a la proteína de fusión VP6-SUMO, para incrementar su solubilidad. La proteína fue purificada y clivada, liberándose el fragmento VP6, el cual fue inoculado en conejos para la producción de anticuerpos policlonales IgG-anti-VP6, que fueron utilizados para la captura y detección del antígeno viral en un sistema de ELISA-sándwich. Para comparar la correlación entre el método casero y kits de ELISA comerciales (Rotaclon y Prospect) recomendados por la OMS, se analizaron 539 muestras de heces fecales provenientes de casos de diarrea infantil y otras 43 de camélidos domésticos (llamas y alpacas), obteniéndose mediante el estadístico kappa un valor sustancial de concordancia ($k=0.676$). Posteriormente, las muestras discordantes entre ambos ensayos de ELISA (18.3%) se compararon con el RT-PCR, para confirmar la presencia de RVA, encontrándose un 82,2% y 87% de concordancia con el ELISA comercial y casero respectivamente. El método desarrollado alcanza un nivel de sensibilidad de hasta $1,87 \cdot 10^4$ CCID₅₀. La especificidad del ensayo fue evaluada frente a diferentes patógenos gastrointestinales: *Giardia lamblia*, *ETEC*, *EPEC*, *EAEC*, *EHEC*, *Salmonella* spp., *Shigella*, *Norovirus*, *Coronavirus*, *Adenovirus*, *Parvovirus*, *C. perfringens*, no observándose reacciones cruzadas con los organismos testados. Este ensayo fue finalmente utilizado para el diagnóstico de RVA en 1096 muestras diarreicas de animales y humanos, detectándose muestras de RVA pertenecientes a diferentes genotipos circulantes (G2P[4], G3P[6], G9P[8], G9P[6], G12P[8], G1P[8]). El “ELISA casero” desarrollado será utilizado en la vigilancia de diarreas por rotavirus tanto en hospitales como en las unidades de producción ganadera.

Este estudio fue financiado por the Swedish International Development Cooperación Agency (SIDA), the Swedish Research Council Project, under the Swedish Research Links y forma parte del Programa de Enfermedades Diarreicas UMSA-IBMB.

MA092

Avaliação do potencial biotecnológico de fungos filamentosos na descoloração de corantes têxteis

Almeida Alana Pereira¹, Nascimento João Victor Fernandes¹, Nascimento Rodrigo Pires¹. ⁽¹⁾ Departamento de Engenharia Bioquímica, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR.

A indústria têxtil gera anualmente milhares de toneladas de efluentes contendo diversos tipos de corantes. Os corantes têxteis podem apresentar alto índice de toxicidade em função da sua composição química. Quando liberados irregularmente no ambiente, poucos organismos são capazes de adsorver e mesmo degradar esses corantes, causando impacto ambiental grande. Dentre esses, os fungos filamentosos apresentam uma grande capacidade em remover do ambiente compostos aromáticos, como os corantes, através de rotas enzimáticas, com a participação de lacases, lignina peroxidases (LiP), manganês peroxidases (MnP) e citocromo P450 oxidases (CP450). Assim, o presente trabalho objetivou avaliar o potencial de descoloração de diferentes corantes têxteis por linhagens de fungos filamentosos isolados do Parque Nacional de Itatiaia (PNI – 800 a 1.200 m). As linhagens fúngicas foram cultivadas em meio Ágar Malte (pH 5.0) suplementado com 200 ppm dos corantes *Reactive Black 5* (RB-5) ou *Remazol Brilliant Blue R* (RBBR). Após incubação por 14 dias/28°C, foi verificado que a linhagem I5-06, identificada como *Aspergillus* sp., apresentou os melhores resultados, sendo selecionada para os testes de descoloração em sistema submerso. A linhagem *Aspergillus* sp. I5-06 foi inoculada em Erlenmeyers (500 mL) contendo Extrato de Malte suplementado com 100 ppm dos corantes *Reactive Black 5* (RB-5) ou *Remazol Brilliant Blue R* (RBBR). O sistema fermentativo foi incubado por 10 dias/28°C/180rpm, e alíquotas foram retiradas após 3 e 10 dias de fermentação, sendo avaliadas espectrofotometricamente para determinar o percentual de descoloração. Também foram determinadas as atividades enzimáticas de lacase, LiP e MnP. Foi observado um índice de descoloração superior a 90% para o corante RB-5 e inferior a 10% para o corante RBBR. Com relação as atividades enzimáticas, a máxima atividade de lacase (0.6 U.L⁻¹) e MnP (3.14 U.L⁻¹) foram observadas após 10 dias de fermentação, na presença do corante RB-5. De acordo com os resultados obtidos, foi possível evidenciar o potencial biotecnológico dos fungos filamentosos do PNI, em especial a linhagem *Aspergillus* sp. I5-06, no processo de descoloração de corantes por sistema sólido e submerso, objetivando uma possível aplicação em processos de biorremediação.

FAPERJ, CNPq.

MA093

O efeito dos nanotubos de carbono de múltiplas paredes (MWCNT) na multiplicação de *Rhizobium* sp.

Almeida Miriã Souza¹, Ary Correa Júnior¹, Stoianoff Maria Aparecida De Resende¹. ⁽¹⁾ Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR.

A nanotecnologia surge com possibilidades de aplicações em vários seguimentos como a medicina, indústria e a agricultura. Dentre os nanomateriais, os nanotubos destacam-se devido à suas propriedades únicas e à grande quantidade produzida. Como resultado da crescente demanda por nanomateriais, há o aumento da preocupação com seus efeitos nos diversos ambientes. O solo ainda é um ambiente pouco estudado neste sentido, então o objetivo do estudo foi aferir o efeito da exposição de *Rhizobium* sp aos nanotubos de carbono, visando no futuro utilizá-lo como um modelo de estudos para avaliação dos efeitos dos nanomateriais na microbiota do solo. Para isto, foram realizadas análises da viabilidade de *Rhizobium* sp quando expostos aos MWCNT carboxilados e não funcionalizados em meio de cultura nas seguintes concentrações: 20 mg/L; 15 mg/L; 12,5 mg/L; 7,5 mg/L e 5 mg/L. O número de células bacterianas foi estimado periodicamente até 96 horas de incubação por meio da leitura da densidade óptica em Leitor de microplacas. Concomitantemente foi realizada a contagem padrão em placas e feito o ensaio colorimétrico para avaliação de viabilidade celular, utilizando sal Tetrazolium XTT. Os dados obtidos foram comparados com a curva controle separadamente utilizando teste t (Mann Whitney – $p > 0,05$). A exposição aos MWCNT carboxilados apresentou diferença significativa, apenas na concentração de 20 mg/L, com crescimento aumentado após 40 h em relação ao controle. A respeito dos nanotubos de carbono não funcionalizados, apenas a concentração 12,5 mg/L apresentou diferença quando comparada ao controle, também elevando o crescimento após as 40 h. Os resultados sugerem uma relação entre a presença dos nanotubos de carbono e o crescimento aumentado de *Rhizobium* sp.

MA094

Producción y purificación a nivel de laboratorio de L-asparaginasa producida por *Streptomyces* spp. aislados de la ribera del río Guaviare

Karolaim Vanessa Alvarez Diaz^{1,2}, Jorge Eduardo Cortázar¹, Luis Eduardo Díaz^{1,2}. ¹Universidad de La Sabana, Facultad de Ingeniería, ²Grupo de Investigación en Bioprospección, Semillero ProNIUS

L-asparaginasa microbiana es una enzima que cataliza la conversión de L-asparagina a L-aspártico y amonio. Esta enzima ha demostrado ser útil en medicina y en la industria de alimentos. La L-asparaginasa es un agente anti-cáncer el cual previene la proliferación de células cancerosas por la disminución del nivel de asparagina en la sangre. Esta enzima actualmente es empleada como agente quimioterapéutico en leucemia linfoblástica aguda extraída de *E. coli* y *Erwinia chrysanthemi*, las cuales presentan efectos laterales y un alto valor comercial, poco accesible para poblaciones latinoamericanas. En este proyecto de investigación plantea como fuente alterna de producción de L-asparaginasa, las Actinobacterias, específicamente bacterias del género *Streptomyces*, que pueden llegar a producir una enzima con menores efectos adversos y constituirse en una fuente natural disponible de fácil acceso y obtención. Se realizó un screening en placas de agar con diferentes fuentes de carbono de *Streptomyces* spp. obtenidas de la ribera del río Guaviare, las cepas positivas para la producción de L-asparaginasa se utilizaron para realizar fermentación a nivel matraz. Adicionalmente se establecieron modelos no estructurados a nivel fermentador de 2 litros que permitieron apreciar el efecto de la temperatura, el pH y la aireación sobre la actividad enzimática presentada en el cultivo de *Streptomyces* spp. Al ejecutar diferentes ensayos se obtuvo como condiciones óptimas para crecimiento y actividad enzimática de L-asparaginasa una temperatura de 37°C, pH de 6.2 (no controlado) y aireación 1.5 L/min. Igualmente, se realizó la purificación de la enzima producida tanto a nivel matraz como a nivel fermentador.

El presente trabajo fue financiado por la Universidad de La Sabana para el grupo de Investigación de Bioprospección y Semillero ProNIUS a cargo del Doctor Luis Eduardo Díaz Barrera.

MA095

Producción de P(3HB) por *Burkholderia xenovorans* LB400 a partir de subproductos y residuos agroindustriales

Alvarez-Santullano Natalia Sofía¹, Pamela Villegas¹, Michael Seeger¹. ⁽¹⁾ Departamento Química, Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL.

Los polihidroxicanoatos (PHAs) son poliésteres microbianos con una amplia gama de propiedades que les permite ser utilizados como termoplásticos biodegradables y biocompatibles. Sin embargo, su comercialización está limitada por sus altos costos de producción. El uso de subproductos y residuos agroindustriales como sustratos se ha investigado como una alternativa para disminuir los costos totales. *Burkholderia xenovorans* LB400 es una bacteria modelo para la degradación de compuestos aromáticos y es capaz de sintetizar PHAs a partir de distintas fuentes de carbono. El P(3HB), tipo de PHA de cadena corta, es uno de los más estudiados ya que posee propiedades similares al polipropileno (PP). El objetivo de este trabajo es caracterizar la producción de PHA por la cepa LB400 a partir de azúcares (i.e., glucosa, fructosa) y residuos agroindustriales (e.g., cáscara de naranja, tomate de desecho). Como determinación preliminar de la producción de PHA *B. xenovorans* LB400 se creció en medio sólido con tinte de Rojo de Nilo como indicador. Para la evaluación cuantitativa, la cepa LB400 se cultivó en medio mínimo M9 suplementado con una fuente de carbono en exceso. El crecimiento bacteriano y la producción de P(3HB) se monitoreó durante 48 [h]. El cultivo se centrifugó y liofilizó para obtener la biomasa seca. Las muestras se sometieron a propanólisis y los propilésteres obtenidos se analizaron mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Se realizó una extracción con cloroformo del polímero, el que se analizó mediante análisis de calorímetro de barrido diferencial (DSC). Durante el crecimiento en glucosa *B. xenovorans* LB400 alcanzó 4,5 [g L⁻¹] de biomasa seca y una acumulación de P(3HB) de ~49% de la biomasa seca. Cuando la cepa LB400 creció en cáscara de naranja alcanzó una biomasa seca de 5,4 [g L⁻¹] y una acumulación de ~20% de P(3HB). Estos resultados sugieren que *B. xenovorans* LB400 puede ser una candidata para el escalamiento de la producción de PHA utilizando fuentes de carbono derivadas de subproductos y residuos agroindustriales.

Proyecto Anillo GAMBIO ACT172128 (MS), Proyecto FONDECYT 1151174 & 1110992 (MS), Proyecto InES FMS1402_B22, USM (131562 & 131342).

MA096

Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) 22 para ajuste de aeração e agitação na fase de inóculo da bactéria *Ralstonia solanacearum* RS produtora de P(3HB)

Mariane Alves¹, Macagnan Karine Laste², Torres Matheus Marques², Piecha Rios Camila², Perez Izadora De Almeida³, Becker Jackson Gabriel Morais², De Oliveria Patrícia Diaz², Moreira Da Angelita Silveira³. ⁽¹⁾ Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Programa de Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas. ⁽²⁾ Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR. ⁽³⁾ Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Química de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR.

Poli(3-hidroxibutirato) P(3HB) é um biopolímero biodegradável da família dos Polihidroxialcanoatos (PHA) acumulado no citoplasma microbiano como corpos de inclusão lipofílicos para reserva de carbono e energia. Obtido através de processos fermentativos, a adequação das condições de fermentação tem provado ser bem sucedida em melhorar substancialmente o rendimento do produto. Obtenção de inóculos densos são o passo inicial para uma produção relevante de P(3HB). Objetivou-se estudar o efeito combinado da aeração e agitação no crescimento celular na fase de inóculo de *Ralstonia solanacearum* RS em biorreator de bancada utilizando DCCR 22. A bactéria, cedida pelo Laboratório de Bacteriologia da FAEM, UFPel, foi primeiramente incubada a 32 °C, durante 72 h, em meio sólido *Nutritive Yeast Agar*; após, as células foram diluídas em meio líquido YM modificado, pH 6; até atingirem densidade óptica (DO600nm) inicial de 0,5 abs. As condições de incubação foram 32 °C e 150 rpm durante 24 h. Para a transposição de escala de obtenção de inóculo para 7 L, utilizou-se biorreator (BIOSTAT®B) contendo 4800L de YM inoculado com 600 mL do pré-inóculo. Testou-se 11 combinações diferentes de aeração (0,3 a 1 vvm) e agitação (150 a 250 rpm). Avaliou-se pH e DO600nm do caldo fermentado, MCS, rendimento de P(3HB) e cromatografia em permeação em gel em 24h. Observou-se maior crescimento celular na combinação de 1vvm com 250 rpm, resultando DO600nm de 18,04 abs, MCS de 4,82 g/L, e rendimento polimérico de 42,9%. O pH final variou entre 5,7 (1 vvm e 150 rpm) e 6,5 (1,05 vvm e 200 rpm). A massa molar polimérica variou entre 2,2 x 10⁵ (0,65 vvm e 200 rpm) e 7,5 x 10⁵ (0,3 vvm e 150 rpm) a polidispersão foi de 5.3 (0,65 vvm e 143 rpm) a 6.0 (0,65 vvm e 200 rpm). Concluiu-se que a melhor combinação de aeração e agitação para crescimento celular foi 1vvm com 250 rpm. Como a *R. solanacearum* RS acumulou significativamente polímero na fase de crescimento celular (inóculo), a mesma pode ser considerada como tendo metabolismo tipo II, ou seja, não necessita de limitação de nutrientes para induzir à produção do polímero.

MA097

Produção de tanases utilizando biofilmes de *Aspergillus ochraceus*

Fernanda Aracri¹, Guimarães Luis Henrique S.². ⁽¹⁾ Bioquímica, Instituto de Química, Araraquara, BR. ⁽²⁾ Microbiologia, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras, USP, Riberão Preto, BR.

A utilização de biofilmes, uma forma inovadora e eficiente de cultivar fungos filamentosos têm sido uma boa alternativa para a produção de enzimas uma vez que os aspectos morfológicos dos biofilmes fúngicos contribuem para a produção destas. Dentre as enzimas biotecnologicamente atrativas, produzidas por fungos filamentosos, as tanases (tanino acil hidrolase – TAH; EC 3.1.1.20) merecem destaque devido sua ampla gama de aplicações. Estas enzimas catalisam a hidrólise de ésteres e ligações laterais em vários substratos, como o ácido tânico, que é um tanino hidrolisável, liberando ácido gálico e glicose. Desta forma, o objetivo do trabalho foi a produção de tanase utilizando biofilme fúngico de *Aspergillus ochraceus*. Foi promovida a adesão dos esporos fúngicos em suporte de polietileno e o crescimento do biofilme fúngico foi induzido em meio Khanna contendo glicose como fonte de carbono. Após obtenção dos biofilmes, estes foram transferidos para diferentes meios de cultura contendo ácido tânico como fonte de carbono, pH inicial 5 e tempo de cultivo de 72 horas (Khanna, Mineral, M5, SR e Czapeck), sendo que o uso do meio Khanna possibilitou a maior atividade específica (7,35 U/mg de proteína). Uma vez selecionado o meio Khanna, a influência de diferentes fontes adicionais de carbono sobre a produção enzimática foi avaliada. As fontes que possibilitaram a maior atividade específica foram, respectivamente, ácido tânico (17,62 U/mg de proteína) e ácido gálico (19,32 U/mg de proteína), sendo estas utilizadas, em diferentes concentrações (0,5-5% m/v), na avaliação da produção tanásica em função do tempo de cultivo (24-120 horas). As maiores produções enzimáticas foram obtidas com a utilização de 1,5% (m/v) de ácido tânico (33,61 U/mg de proteína) e 1% (m/v) de ácido gálico (19,84 U/mg de proteína) ambos em 72 horas de cultivo. Foi também realizada a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) do biofilme fúngico e constatada a presença de canais secretores no tempo de 72 horas após indução. Analisando os resultados obtidos nesta pesquisa, até o momento, é possível verificar que o cultivo do fungo *Aspergillus ochraceus* em FB foi efetivo para a produção da enzima de interesse como era esperado.

CAPES, FAPESP.

MA098

Atividades enzimáticas em isolados bacterianos de ninho de espuma de *Leptodactylus vastus*

Araujo Francisco Jonathan¹, Bessa Claudiane Carvalho¹, Monteiro Felipe Augusto¹, Hissa Denise Cavalcante¹, Melo Vânia Maciel¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia (LEMBIOTECH), Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, BR.

Amilases e proteases são hidrolases amplamente utilizados na indústria de alimentos, limpeza e cosméticos. A grande demanda desse mercado, exige a busca de novas enzimas em ambientes ainda poucos explorados como estratégia para a prospecção de novas moléculas com características melhoradas. Poucos trabalhos visam a exploração de atividades enzimáticas da microbiota associada aos ninhos de espuma de anuros, tornando-as valiosas fontes de prospecção de novas biomoléculas. Essas bioestruturas são compostas majoritariamente por proteínas (1,37 mg/mL) e carboidratos (0,23 mg/mL) e têm papel essencial na deposição e proteção de ovos e de girinos. O presente trabalho teve como objetivo a prospecção de atividades amilásicas e proteásicas em bactérias isoladas de ninho de espuma de *Leptodactylus vastus*. Os ninhos de espuma de *L. vastus* foram coletados na reserva particular do patrimônio natural de Monte Alegre, localizado na serra de Pacatuba-CE no período chuvoso. Foram feitas diluições seriadas com amostras de ninho e poça d'água para a contagem de viáveis em placa utilizando a técnica de *spread plate*. As diluições 10⁻¹ a 10⁻⁴ foram plaqueadas em meio ATGE (água 15 g/L, triptona 5 g/L, glicose 1 g/L, extrato de levedura 2,5 g/L) e incubadas a temperatura ambiente por 16h. Para o teste de atividades enzimáticas cada isolado foi cultivado em ATGE suplementado com amido (0,1% p/v) para amilases, leite desnatado (1% p/v) e gelatina (3% p/v), para pesquisa de proteases. As atividades foram detectadas pelo aparecimento de zonas claras ao redor das colônias após adição de uma solução de lugol (I₂/KI), para atividade amilásica, e uma solução de (NH₄)₂SO₄, para gelatinase. As amostras de ninhos de espuma apresentaram um número de viáveis 100 vezes maior que as poças d'água, compreendendo $1,3 \pm 0,9 \times 10^7$ ufc/g quando comparado a $1,4 \pm 1,2 \times 10^5$ ufc/mL. Foram obtidos 19 morfotipos de bactérias de amostras de ninhos de espuma, 6 (31,6 %) apresentaram atividade amilásica e 12 (63,2 %) apresentaram atividade proteásica. A composição majoritária de proteínas na estrutura do ninho de espuma de *L. vastus*, corrobora com um maior número de atividades proteásicas detectados. Experimentos adicionais serão realizados para melhor caracterizar as enzimas prospectadas.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Instituto Serrapilheira, Fundação Cearense de apoio ao desenvolvimento científico e tecnológico (FUNCAPE).

MA099

Improvement bio-based succinate production by metabolic engineering of *Pseudomonas putida* KT2440

Carla Aravena¹, Ignacio Poblete¹. ⁽¹⁾ Biosystems Engineering Laboratory, Center for Bioinformatics and integrative Biology, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Background. Succinate is a bio-based platform chemical mainly used as building-block for higher-value materials. A particular interest of succinate is that it can be used for the sustainable production for different types of plastics, elastic fibers and biodegradable polyesters. There are three pathways for succinate formation: the reductive branch of the TCA cycle, the glyoxylate pathway, and the oxidative TCA cycle. In recent years, a broad range of microorganisms have been evaluated for their succinate synthesis capacity and performance, mostly from glucose fermentation. Nevertheless, the use of these microorganisms for succinate production is largely limited at industrial scale due to the high costs associated to the carbon source (sugars) accompanied by environmental concerns since those sugars could rather be used as food. In order to synthesize succinate in a more sustainable manner, we have genetically modified *Pseudomonas putida* KT2440, which holds great potential for the production of this added-value compound using glycerol as the only carbon substrate. Through metabolic engineering of this bacterium, we propose the redirection of carbon flux towards the glyoxylate route, at the branch of acetyl-CoA, with the aim of increasing succinate synthesis in batch cultures. **Methods.** To replenish a higher amount of carbon to the glyoxylate pathway in *P. putida* KT2440, a malate synthase (GlcB), phosphoenolpyruvate carboxylase (ppc) and PHA synthase (phaC1-phaC2) knock-out mutant strains have been constructed by homologous recombination utilizing the I-SceI system. The mutants were used as host for overexpressing the own *P. putida* Isocitrate lyase enzyme (AceA) using the plasmid pSEVA634. The succinate production capacity and performance of the strains have been evaluated utilizing glycerol as carbon source. Succinate production was measured via HPLC analysis. **Results.** Through the metabolic flux redirection by knocking out several genes of the PHA synthesis and anaplerotic pathway, and Isocitrate lyase expression, we have generated six strains of *P. putida* KT2440. Each strain has different succinate production levels and show unique physiological parameters which can be coupled to process performance. **Conclusion.** Metabolic engineering of *P. putida* enhances the sustainable production of succinate on glycerol, thus broadening the portfolio of chemicals than can be obtained from this valuable industrial compound.

Center for Bioinformatics and integrative Biology (CBIB), Universidad Andrés Bello and FONDECYT Project n° 11150174.

MA100

Síntesis biológica y biomimética de nanopartículas de CuInS_2 : aplicación en celdas solares y bioimágenes

C. Arriaza-Echanes¹, Quezada Carolina Paz¹, Rodrigo Espinoza-González², J.M. Pérez-Donoso¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de BioNanotecnología y Microbiología, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa (CBIB), Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento Biotecnología y Materiales, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Las nanopartículas fluorescentes o “quantum dots” (QDs) han resaltado en el último tiempo debido a su uso en televisores (quantum dotdisplay), celdas solares y bioimágenes. Los QDs emiten fluorescencia de distintos colores al ser excitados a una única longitud de onda, presentan gran resistencia a la foto-degradación (especialmente en comparación a fluoroforos orgánicos) y pueden ser conjugados a distintas bio-moléculas lo que permite modular sus propiedades. Nuestro laboratorio se ha interesado en el estudio y la aplicación de nano-materiales de cobre y litio. En este sentido, las nanopartículas de CuInS_2 (CIS) representan una interesante alternativa debido a sus propiedades únicas que favorecen sus aplicaciones: fluorescencia en el infra rojo (útil para bioimágenes y para captar fotones en celdas solares) y baja toxicidad. Actualmente la síntesis de estas nanopartículas (NPs) se realiza mediante métodos químicos, los cuales involucran altos costos de producción y condiciones de síntesis complejas. A la fecha, no se han descrito métodos biomiméticos o biológicos de síntesis de nanopartículas de CIS (que involucren moléculas y condiciones biológicas). Hemos desarrollado un método biomimético de síntesis de CIS que involucra ambiente acuoso, bajas temperaturas (80°C) y presión atmosférica. Este método involucra el uso de sales de Cu e In, además de glutatión como fuente de S y estabilizante de las NPs. Las NPs producidas emiten fluorescencia en el rango 650-750 nm al ser excitadas a 360 o 520 nm. Mediante TEM se determinó que el tamaño de las NPs es cercano a los 30 nm. El análisis de EDS confirmó que las NPs están compuestas por Cu, In y S en las proporciones esperadas de In:S (1:2). Las NPs fueron incorporadas en celdas solares lo que confirmó su capacidad de actuar como fotosensibilizadores captando fotones. Utilizando la síntesis biomimética como base desarrollamos un método de biosíntesis utilizando levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*). Las NPs biosintetizadas se encuentran en el sobrenadante del cultivo y presentan las mismas características espectroscópicas que aquellas sintetizadas por nuestro método biomimético. Esta es la primera vez que se describe la biosíntesis de NPs de CuInS utilizando microorganismos.

Este proyecto es financiado por Fondecyt 1151255 e INACH RT-25_16.

MA101

Posibles mecanismos de resistencia a cobre en la cepa *Acidithiobacillus ferrivorans* ACH aislada desde el Altiplano Chileno

Sergio Barahona¹, Matias Castro², Ana Moya², Cristina Dorador³, Carlos Jerez⁴, Raquel Quatrini², Francisco Remonsellez⁵. ⁽¹⁾ Ingeniería Química, Ingeniería, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Microbial Ecophysiology Lab, Fundación Ciencias y Vida, Santiago, CL. ⁽³⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽⁴⁾ Departamento de Biología, Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁵⁾ Laboratorio de Microbiología aplicada y extremófilos, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL.

En la naturaleza, el cobre se presenta en dos estados de oxidación (Cu^{+1} y Cu^{+2}), los cuales pueden unirse a metaloproteínas que tienen un importante rol en reacciones de oxidación. Por otro lado, el cobre puede interactuar fácilmente con radicales libres, especialmente con el oxígeno molecular, generando un efecto tóxico para la mayoría de los microorganismos. Sin embargo, los microorganismos lixiviantes, los cuales se encuentran expuestos constantemente a altas concentraciones de cobre (30-300 mM), han desarrollado mecanismos de resistencia que le permiten realizar su acción catalizadora potenciando su uso en procesos industriales de biolixiviación. Dentro de estos mecanismos se han descrito algunas ATPasas tipo P (*copAB*), sistemas RND (*cusCBA*) y chaperonas de unión a cobre (*cusF*, *copZ* y *copC*), que se encuentran presentes en el genoma de varias cepas biolixiviantes. Incluso recientemente se ha reportado que la proteína rusticianina (*rusA* y *rusB*) también podría estar involucrada en la resistencia a cobre en algunos microorganismos biolixiviantes. La mayoría de estos mecanismos han sido descritos en la bacteria modelo *At. ferroxidans* (cepas tipos ATCC23270 y ATCC53993). El objetivo del presente trabajo es determinar la tolerancia a cobre y los posibles mecanismos de resistencia en la cepa *Acidithiobacillus ferrivorans* ACH aislada desde el Altiplano Chileno. Se realizaron pruebas de tolerancia a cobre (0-400 mM) en matraces de 100 mL con agitación constante a 120 rpm utilizando como medio de cultivo 9K a una temperatura de incubación de 28°C. Los resultados indican que la cepa ACH es capaz de tolerar concentraciones < 400 mM de cobre, siendo la primera vez que se reporta dicha resistencia en este tipo de microorganismo, superando incluso a la cepa tipo de acuerdo a la literatura. Además se realizó la secuenciación del genoma completo de la cepa ACH mediante la tecnología de Illumina MiSeq. Un análisis preliminar indica que la cepa ACH presenta en su genoma un gran número de determinantes genéticos de resistencia a cobre incluyendo sistemas Cus, sistemas RND, chaperonas y rusticianinas, potenciando su posible uso en procesos industriales con concentraciones de cobre similares a las ensayadas.

Beca Doctorado Conicyt Folio 21150614.

MA102

Efecto de la bioestimulación con saponinas de *Quillaja saponaria* Molina y la bioaumentación con un consorcio bacteriano sobre la degradación de hidrocarburos y las comunidades bacterianas en agua marina contaminada

Bárbara Barra Sanhueza¹, Lisette Hernández¹, Roberto Durán¹, Myriam González¹, Michael Seeger¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL.

La contaminación por hidrocarburos es una problemática mundial. La biorremediación utiliza las capacidades catabólicas de los microorganismos para la remoción de compuestos contaminantes. La baja biodisponibilidad de los hidrocarburos limita la biorremediación en ambientes marinos. La utilización de biosurfactantes es una alternativa para aumentar la biodisponibilidad de los hidrocarburos. Las saponinas son surfactantes sintetizados por diversas especies vegetales. El objetivo de este estudio es determinar el efecto de la bioestimulación con saponinas de *Quillaja saponaria* Molina y la bioaumentación con un consorcio bacteriano hidrocarbonoclástico sobre la degradación de hidrocarburos y la dinámica de las comunidades nativas en agua marina contaminada a escala de micro y mesocosmos. El consorcio bacteriano se conformó por las cepas *Arthrobacter* sp. LD52b, *Micrococcus* sp. LD135, *Alcaligenes* sp. QD168 y *Dietzia* sp. LD181 aisladas desde sedimentos marinos de Chile central. El ensayo de microcosmos consistió en sistemas de 1,5 L con medio mínimo Bushnell-Haas con agua de mar artificial y diésel 1% v/v. Se tomaron muestras semanales para análisis de hidrocarburos y recuento de UFCmL⁻¹. Se observó 90% de degradación de hidrocarburos (C10-C25) en el sistema bioestimulado y bioaumentado, alcanzando $3,5 \times 10^9$ UFCmL⁻¹. El ensayo a escala de mesocosmos se realizó durante 30 días a 14 °C, mediante sistemas de 15 L de agua de mar contaminada con diésel 1% v/v. La degradación de hidrocarburos fue evaluada mediante GC-FID. La relación C18-Fitano (compuesto recalcitrante indicador) disminuyó en el tiempo, reflejando un efecto de biodegradación en los sistemas. La evaluación de la dinámica de las comunidades, se realizó mediante secuenciación masiva MiSeq. En el sistema bioaumentado y bioestimulado se observó que el género *Alcanivorax* aumentó de 0,5 a 37%, en tanto *Alcaligenes* perteneciente al consorcio aumentó de 9 a 84% después de inocular, disminuyendo la última semana a 27%. La bioestimulación con saponinas favoreció la homogenización de sistemas de degradación de hidrocarburos, permitiendo un aumento en la biodisponibilidad y degradación de estos contaminantes.. LD135, *Alcaligenes* sp. QD168 y *Dietzia* sp. LD181 aisladas desde sedimentos marinos de Chile central. El ensayo de microcosmos consistió en sistemas de 1,5 L con medio mínimo Bushnell-Haas con agua de mar artificial y diésel 1% v/v. Se tomaron muestras semanales para análisis de hidrocarburos y recuento de UFCmL⁻¹. Se observó 90% de degradación de hidrocarburos (C10-C25) en el sistema bioestimulado y bioaumentado, alcanzando $3,5 \times 10^9$ UFCmL⁻¹. El ensayo a escala de mesocosmos se realizó durante 30 días a 14 °C, mediante sistemas de 15 L de agua de mar contaminada con diésel 1% v/v. La degradación de hidrocarburos fue evaluada mediante GC-FID. La relación C18-Fitano (compuesto recalcitrante indicador) disminuyó en el tiempo, reflejando un efecto de biodegradación en los sistemas. La evaluación de la dinámica de las comunidades, se realizó mediante secuenciación masiva MiSeq. En el sistema bioaumentado y bioestimulado se observó que el género *Alcanivorax* aumentó de 0,5 a 37%, en tanto *Alcaligenes* perteneciente al consorcio aumentó de 9 a 84% después de inocular, disminuyendo la última semana a 27%. La bioestimulación con saponinas favoreció la homogenización de sistemas de degradación de hidrocarburos, permitiendo un aumento en la biodisponibilidad y degradación de estos contaminantes.

Beca doctorado Nacional CONICYT 2013-21130742 (BBS), Beca de Gastos Operacionales CONICYT 2013-21130742 (BBS), Beca magíster Nacional CONICYT 2016-22162307 (RD), Proyecto FONDECYT 1151174 (MS), Proyecto Anillo GAMBIO ACT172128 (MS).

MA103

Impresión de nanocompósitos poliméricos y nanopartículas de plata para la producción de dispositivos antibacteriales mediante tecnología DoD.

Nicole Barrera^{1,5}, Lizeth Guerrero¹, Alexis Debut², Norma Gusmão³, Petrus D'Amorim Santa Cruz⁴. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias de la Vida, Facultad de la Carrera de Ingeniería en Biotecnología, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Sangolquí, EC. ⁽²⁾ CENCINAT, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Sangolquí, EC. ⁽³⁾ LAMAI, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – BR. ⁽⁴⁾ LANDFOTON, Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, BR. ⁽⁵⁾ Departamento de Pós-graduação de Biologia de Fungos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife - BR.

Las nanopartículas de plata (Ag-NPs) son conocidas por su eficiente actividad bactericida y son ampliamente usadas en la industria. En este estudio se pretende producir un fluido imprimible que contenga AgNPs como principio activo, sintetizadas utilizando métodos químicos e irradiación por microondas, para obtener un tamaño promedio de partículas monodispersas de 20 nanómetros. Las propiedades estructurales y morfológicas de las nanopartículas sintetizadas se caracterizaron por UV-Vis, STEM, DLS y XRD. Esta innovadora investigación tiene como objetivo crear dispositivos antibacteriales usando la tecnología Drop-on-Demand (DoD), para imprimir fluidos funcionales de Ag-NPs y nanocompósitos poliméricos con polivinil butiral (Ag-NPs / PVB). El acetato de celulosa fue utilizado como un sustrato flexible, sobre el cual se realizó la impresión. El análisis ecotóxico del polímero PVB y del sustrato se realizó mediante un ensayo con nauplios de *Artemia franciscana* sin alimentación. Para la impresión, se establecieron las formas de las curvas (waveforms) del pulso eléctrico optimizado para la formación de las gotas de cada fluido, las cuales se obtuvieron basadas en el cristal piezoeléctrico de la impresora DoD. La actividad antibacteriana de los dispositivos impresos se evaluó mediante el método Kirby-Bauer con *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Los resultados estadísticos realizados en IBM SPSS® (Student version) de los dispositivos impresos, basados en p valor 0.05, determinaron un p_valor 0.041 para Ag-NPs y un p_valor 0.017 para Ag-NPs / PVB, indicando que ambos dispositivos mostraron inhibición bacteriana. Una importante ventaja al utilizar tecnología DoD, es la posibilidad de imprimir capa por capa y lado por lado, de un o más de un principio activo o moléculas de interés, permitiendo su liberación intercalada o simultánea para mejorar las características del dispositivo, como en el caso del fluido imprimible con nanocompósitos poliméricos, para mejorar la eficacia de la actividad de la plata. La fabricación de estos dispositivos antibacteriales impresos puede ser potencialmente utilizados en aplicaciones ambientales, médicas e industriales.

MA104

Inhibición de biopelículas por el biosurfactante producido por la bacteria antártica *Streptomyces luridus* (So3.2).

Leticia Ximena Barrientos¹, Claudio Lamilla². ⁽¹⁾ Ciencias Básicas. Centro de Excelencia en Medicina Traslacional. Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, CL. ⁽²⁾ Centro de Excelencia en Investigación Biotecnológica Aplicada al Medio Ambiente (CIBAMA). Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN)., Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, CL.

Las condiciones extremas que posee la Antártica han permitido la adaptación de las bacterias a cada uno de los diferentes nichos ecológicos presentes, transformándolas en poblaciones bacterianas únicas, cuya expresión adaptativa se manifiesta por la producción de diferentes metabolitos activos, que les permiten tolerar los factores ambientales extremos característicos de este continente y por otro, al desarrollo de compuestos que los ayuden en la competencia por las pocas fuentes de nutrientes existentes en los diferentes ambientes antárticos. El descubrimiento de nuevos antimicrobianos es un hecho incuestionable por el incremento de cepas multiresistentes debido al uso masivo e inapropiado de los antibióticos actuales. Se ha reportado que varios biosurfactantes exhiben actividad antimicrobiana contra diferentes patógenos humanos; además, estos compuestos suelen mostrar actividades anti-adhesivas y anti-biopelícula, haciéndolos útiles para reducir la adherencia y la colonización por microorganismos patógenos, así como para eliminar biopelículas formadas previamente. El objetivo de esta investigación fue determinar si el biosurfactante producido por la cepa antártica *Streptomyces luridus* (So3.2) posee la capacidad de inhibir la formación de biopelículas y/o actuar como agente antimicrobiano. Los organismos patógenos evaluados fueron *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* y *Salmonella typhimurium*, los que se hicieron crecer en el medio de cultivo Luria-Bertani durante 24 horas a 37°C. Los ensayos de actividad antibiofilm se realizaron en microplacas de 96 pocillos con biotensoactivos en diferentes concentraciones, más un control sin compuesto, todo en triplicado. La formación de biopelícula se cuantificó adicionando cristal violeta y ácido acético glacial a cada pocillo leyéndose la absorbancia (570 nm). Los resultados mostraron que el biosurfactante posee actividad de inhibición de la formación de biofilm en todas las concentraciones evaluadas. También, se destaca que el biosurfactante mostró mayor actividad de inhibición de la biopelícula en las cepas *Proteus vulgaris* y *Salmonella typhimurium*. Este trabajo confirma que la cepa antártica posee la capacidad de producir moléculas biotensoactivas con características de biosurfactante, capaz de inhibir la formación de biofilm en las cepas patógenas estudiadas. En este contexto la aplicación de esta biomolécula, pudiese ser en áreas tanto de la clínica como en la industria de los alimentos.

Proyecto DIUFRO DI17-0116 y Proyecto INACH DT_05-15.

MA105

Atividades emulsificantes e biossurfactantes de *Bacillus* sp. isolados do processo de compostagem adotado no Zoológico de São Paulo, Brasil

Barros Caroline Almeida, Medeiros Bruna Couto¹, Julio Oliveira², Ramos Patricia Lacosque³, Vasconcellos Suzan Pantaroto³. ⁽¹⁾ LABMSMA, Instituto de Ciências, Químicas e Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo, Diadema, BR. ⁽²⁾ Microbiologia, Instituto de Ciências, Químicas e Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo, Diadema, BR. ⁽³⁾ Complexo Laboratorial, Fundação Parque Zoológico de São Paulo, São Paulo, BR.

Os biossurfactantes são produzidos por microrganismos, e devido às suas propriedades físico-químicas, como a capacidade de estabilização de fluidos não miscíveis, possuem diversas aplicações na indústria alimentícia, farmacêutica, cosméticos, além da biorremediação de locais contaminados por compostos graxos. Nesse sentido, a busca por recursos microbianos produtores de biossurfactantes e/ou biodegradadores de hidrocarbonetos é crescente, almejando-se a obtenção de ferramentas de baixo custo de produção, aliada à menor toxicidade para o ambiente. Com esse intuito, no presente estudo, avaliou-se o potencial de emulsificação e atividade tensiométrica, de 41 isolados bacterianos obtidos a partir do processo de compostagem, adotado na Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP). Foi possível a seleção de 3 (três) isolados (1609, 1539 e 1594), quanto ao índice de emulsificação (E24) sobre óleo diesel, apresentando valores em torno de 65 % de eficiência. Os mesmos isolados também se destacaram quanto à atividade tensiométrica avaliada pelo método de colapso *d'* gota e *Ring Method*, obtendo-se valores em torno de 31 mN/m. Em termos de rendimento reacional, tais isolados foram hábeis à produção média 5 g de exopolímeros microbianos, para cada 1 g de células. Análises de sequenciamento do *rDNA* 16S dos isolados bacterianos permitiram a afiliação dos mesmos ao gênero *Bacillus* sp., o qual é vastamente descrito na literatura como produtor de exopolímeros com atividades biossurfactantes, tais como a surfactina, devido à presença dos genes da família *Srf*. Nesse sentido, o presente estudo tem como meta para o próximo período a caracterização espectroscópica dos compostos biossurfactantes e bio-emulsificantes produzidos pelos isolados de *Bacillus* sp. selecionados, bem como detectar, por homologia de sequências a presença de genes relacionados à produção de surfactina.

Agradecimentos: CAPES, FAPESP, FPZSP.

MA106

Criodessecação de cepas de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* por liofilização

Jackson Gabriel Morais Becker¹, Maria Luiza De Oliveira Zanini¹, Matheus Marques Torres¹, Camila Rios Piecha¹, Izadora Almeida Perez², Mariane Igansi Alves³, Angelita Da Silveira Moreira⁴, Oliveira Patrícia Diaz⁵. ⁽¹⁾ Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec) - Laboratório de Biopolímeros, Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR. ⁽²⁾ Química de Alimentos - CCQFA, Química de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR. ⁽³⁾ PPGCTA - Universidade Federal de Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR. ⁽⁴⁾ Química de Alimentos - CCQFA / PPGCTA - Universidade Federal de Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR. ⁽⁵⁾ CD Tec - Universidade Federal de Pelotas / PPGCTA - Universidade Federal de Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR.

A liofilização é umas das técnicas mais empregadas para a conservação de microrganismos, utilizando o princípio da criodessecação de culturas que encontram-se congeladas previamente. Por isso, apresenta-se como a alternativa mais viável para a conservação de coleção de culturas microbianas. Assim, este trabalho teve como objetivo determinar a viabilidade celular das cepas 71, 80 e 101 após 7 dias liofilizadas, assim como, das cepas 24, 82 e 87, reativadas após 16 anos de liofilização, de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*, presentes na coleção de culturas do Laboratório de Biopolímeros. Para o preparo dos inóculos das cepas 71, 80 e 101, repiques multiplicativos em meio SPA sólido, incubados à 28 °C por 72 h, foram ressuspensos em meio SPA líquido. Um volume de 10 mL da suspensão, adicionado em Erlenmeyers de 250 mL contendo 40 mL de meio, foram incubados em incubador agitador orbital a 150 rpm, a 28°C durante 24 h. Para a determinação da concentração bacteriana do inóculo realizou-se diluição seriada, seguidas de plaqueamento das diluições 10⁻⁶ até 10⁻⁹ em placas de meio SPA incubadas a 28 °C por 48 h, e feita posterior contagem das colônias. Os inóculos foram misturados ao crioprotetor na proporção de 6:4 (inóculo:crioprotetor) e alíquotas de 2 mL da mistura foram adicionados a frascos tipo penicilina e criodessecadas no liofilizador por 24h. Após, foram armazenadas a -18 °C durante 7 dias. A reativação de todas as cepas foi realizada por reidratação com 2 mL de meio SPA líquido durante 20 min. Para avaliar a viabilidade das bactérias, homogeneizou-se e retirou-se 100 µL dessa suspensão e fez-se diluições decimais até 10⁻⁷, seguidas de plaqueamento, em meio sólido SPA, e incubação a 28 °C por 48 h. As cepas 71, 80 e 101 obtiveram uma taxa de sobrevivência de 42,6%, 50,0% e 55,5% respectivamente. As cepas 24, 82 e 87, que não possuíam os valores de concentração bacteriana inicial, apresentaram crescimento bacteriano de 3,3x10⁸, 6,2x10⁸, 2,1x10⁸ (UFC.mL⁻¹), respectivamente. Portanto, conclui-se que todas as cepas de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* apresentadas no presente trabalho demonstraram uma viabilidade celular satisfatória após o processo de criodessecação por liofilização.



MA107

Sequenciamento e identificação de ORFs relacionadas à resistência de metais pesados e antibióticos

Daiane Bonaldi¹, Henrique Laurito¹, Luciano Kishi¹, Camila Fernandes¹, Eliana Lemos¹, Lucia Alves¹. ⁽¹⁾ Tecnologia, Faculdade de Ciências agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, BR.

A poluição por metais pesados é um problema ambiental que tem aumentado devido às atividades humanas e industriais, estes metais tendem a se acumular no solo e nos organismos vivos através da cadeia alimentar, causando problemas aos seres humanos como toxicidade, mutagênese e carcinogênese. Nesse sentido, a busca por microrganismos resistentes a diferentes metais, como uma alternativa relevante na redução de metais pesados, devido a sua capacidade de se desenvolver na presença destes compostos tóxicos é indispensável para que os mesmos potencialmente atuem sobre a bioacumulação. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi uma caracterização genômica detalhada das bactérias *Rhizobium* sp. (C01), *Ensifer meliloti* (C02), *Ensifer* sp. (C03) e *Rhizobium tropici* (C04), para se conhecer os genes existentes e quais estão relacionados à resistência a metais pesados, visando à utilização desses organismos ou dos genes envolvidos na bioacumulação, em processos de biorremediação. Estes isolados foram selecionados, pois em estudos anteriores ficou evidenciada sua capacidade de adsorção dos metais cobre (II) e cromo (VI), são também produtores de exopolissacarídeos (EPs) e apresentam grande importância no setor agrícola por serem fixadores simbióticos de nitrogênio. Para o sequenciamento completo do genoma dos isolados de rizóbios foi utilizado a plataforma Illumina e, posteriormente, estes dados foram submetidos para análises de montagem e anotação gênica, usando bancos de dados específicos. Os resultados de sequenciamento das estirpes C01, C02, C03 e C04 apresentaram abundância das orfs RF0007, RF0008, RF0107 e RF0143 relacionadas aos sistemas de captação do tipo ABC (ATP Binding Cassete) e ao sistema bomba de efluxo de antibióticos. Apresentando também a orf RF0051, que codifica para bomba de efluxo de cloranfenicol, dados condizentes com os testes de antibiograma. O estudo do genoma completo proporcionará a análise para o conhecimento das vias metabólicas envolvidas nos processos de bioacumulação dos íons metálicos detectado nesses organismos. Palavras-chave: rizóbios, genoma, metal pesado, bioinformática, biotecnologia.



MA108

Análise e prospecção *in silico* de lacases microbianas em metagenomas e genomas de amostras ambientais

Bárbara Bonfá¹. ⁽¹⁾ Tecnologia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Paulista Julio de Mesquita Filho.

A bioinformática surge como tendência na busca de novos genomas e genes de interesse biotecnológico, principalmente no que diz respeito à prospecção *in silico* de enzimas. Em vista disso, foi realizada a bioprospecção de genes ortólogos codificadores de Ligninases (especificamente Lacases microbianas) usando o critério de similaridade. As análises foram realizadas utilizando dados genômicos e metagenômicos depositados na base de dados do Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas, localizado no departamento de tecnologia da Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho – Câmpus Jaboticabal – SP, Brasil. Primeiramente foram selecionadas as ORFs que continham o motivo conservado HLHGH, padrões específicos para lacases, analisadas no programa Pfam, que torna possível visualizar se a sequência desejada possui domínios completos, e alinhadas pelo Banco de Dados não redundante (nr) do NCBI (National Center for Biotechnology Information). Com a sequência do gene codificador de lacase definida, foi realizada uma modelagem por homologia pela plataforma SWISS-Model, utilizando o modelo com maior percentual de identidade que está depositado no Banco de Dados PDB (Protein Data Bank). Assim, foi gerada uma estrutura tridimensional, a qual foi visualizada no programa Pymol. A partir dessas análises foi possível verificar que a ORF possui 3 domínios de cobre, sendo eles Cu-oxidase 3, Cu-oxidase e Cu-oxidase 2, é um monômero e apresenta uma capacidade eletrostática de 63,098. Estas informações auxiliaram nas próximas etapas do trabalho e comprovam que a sequência selecionada codifica uma multicopper – oxidase da família das lacases, importante grupo de enzimas com interesse em vários setores industriais.

FAPESP - Fundação de Amparo à pesquisa do estado de São Paulo.

MA109

Síntesis de nanopartículas de litio utilizando bacterias ambientales aisladas desde el Salar de Atacama.

Nicolás Bruna¹, Matias Vargas-Reyes¹, Sebastián Lagos-Moraga¹, Giovanna Anziani-Ostuni¹, Carolina Paz Quezada¹, José Manuel Pérez-Donoso¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de BioNanotecnología y Microbiología, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa (CBIB), Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Chile es el país con las mayores reservas de litio conocidas a la fecha, siendo el Salar de Atacama el principal sitio de extracción. El mayor porcentaje de litio, comercializado como carbonato de litio, se destina a la elaboración de baterías de ión-Li. Debido a esto, el consumo mundial de litio aumentó considerablemente. La utilización de litio en baterías ha impulsado la investigación y el desarrollo de dispositivos de almacenaje de energía más eficientes. En este sentido, las baterías de última generación de litio-azufre (Li-S), poseen una mayor vida útil y mayor densidad energética que las baterías de ion-Li, sobre todo cuando el Li-S se encuentra nanoparticulado en el cátodo. A la fecha no existen nanopartículas de Li-S disponibles comercialmente, principalmente por las desventajas asociadas a su síntesis: atmosferas anaeróbicas, uso de sales de litio distintas al carbonato de litio (costosas y poco abundantes), altas temperaturas y sensibilidad al oxígeno. Debido a lo anterior, existe gran interés en desarrollar métodos de síntesis que sean simples, económicos, amigables con el ambiente y utilizando carbonato de litio. Nuestro grupo se ha enfocado en el desarrollo de nuevos métodos de síntesis de nanopartículas de litio utilizando microorganismos. En este trabajo se aislaron bacterias resistentes a litio desde muestras de suelo del Salar de Atacama, posteriormente se realizó la biosíntesis de nanopartículas de litio (Li-S) utilizando carbonato de litio y cisteína (fuente de azufre). Las nanopartículas fueron purificadas y caracterizadas mediante Espectrofotometría, Dispersión Dinámica de la Luz (DLS), Termogravimetría (TGA) y Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM). Los resultados mostraron que las nanopartículas presentan un tamaño de ~40 nm (DLS y TEM), una cubierta de materia orgánica (TGA) y corresponden a Li₂S (espectroscopia). Estos resultados concuerdan con lo descrito para nanopartículas de Li-S sintetizadas por métodos químicos. Este trabajo es el primer reporte de síntesis de nanopartículas de litio utilizando bacterias. La biosíntesis es realizada en condiciones aeróbicas, a bajas temperaturas, pH neutro y ocurre solo en presencia de bacterias. El uso de bacterias como biofabricas de nanomateriales de litio representa una alternativa única para la síntesis económica y sustentable de nanomateriales de Li-S.

Fondecyt 1151255 e INACH RT-25_16.

MA110

Multi objective metabolic modeling for optimal growth of *Acidithiobacillus ferrooxidans* Wenelen and *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* Cutipay

Marko Budinich¹, María Cortés Paz ², Sebastián Mendoza², Méziane Aïte³, Clemence Frioux³, Damien Eveillard⁴, Anne Siegel³, Mauricio Latorre^{5,6}, Alejandro Maass^{2,7}. ⁽¹⁾ Station Biologique de Roscoff, UPMC, CNRS, Roscoff, FR.

⁽²⁾ Mathomics, Ingeniería, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Dyliss Team, INRIA, Centre Rennes-Bretagne-Atlantique, Rennes, FR. ⁽⁴⁾ Computational Biology group, LINA UMR 6241 CNRS, Université de Nantes, Nantes, CL. ⁽⁵⁾ LBEG, INTA, Universidad de Chile, Santiago. ⁽⁶⁾ Bioingeniería, Ingeniería, Universidad de O'Higgins, Rancagua, CL. ⁽⁷⁾ Mathematical Engineering, Ingeniería, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Through the combination of genome scale metabolic reconstruction and *in silico* Multi Objective Flux Balance Analysis, trade-offs between growth rates and metabolic fluxes of two acidophilic species were determined while competing for iron and sulfur sources. First, genome scale metabolic models were reconstructed for *Acidithiobacillus ferrooxidans* Wenelen and *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* Cutipay strains. The resulting models (*iML510* and *iSM517*) were able to couple the oxidation of iron and sulfur minerals to general metabolism and produce biomass in comparable rates between both species. Next, using a multi objective extension of constraint-based modeling, Pareto optimal curves under four conditions of iron/sulfur fluxes (max/max, min/max, max/min and min/min) were determined. As expected, limiting iron and sulfur fluxes reduced bacterial growth in both bacteria. Cutipay increased its growth rate while Wenelen abundance remained low. However, the capacity of Cutipay to use acetate as an alternative energy source reduced the competition between both strains for iron and sulfur. This work provides a new strategy to study and understand the metabolic adaptation of members of acidophilic communities, knowledge that is useful to optimize biotechnology processes.

FONDECYT N°11150679, Center for Genome Regulation FONDAP 15090007, Basal grant of the Center for Mathematical Modeling UMI2807 UCHILE-CNRS N° PFB03 project, Redes Internacionales para Investigadores(as) en Etapa Inicial N° REDI170193, Fondecyt national PhD fellowship CONICYT.

MA111

Automated imaging and data analysis for mixed biofilms of bioleaching microorganisms

Francisca Bugueño², Isaac Nuñez², Timothy Rudge^{2,3}, Mario Vera^{2,1}. ⁽¹⁾ Departamento de Ingeniería Hidráulica y Ambiental, Escuela de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Escuelas de Ingeniería, Medicina y Ciencias Biológicas, Instituto de Ingeniería Biológica y Médica, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Ingeniería Química y Bioprocesos, Escuela de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

Bioleaching is the process of solubilization of metals from metal sulfides mediated by microorganisms, mainly bacterial and archaeal species. Bioleaching microorganisms are able to oxidize iron/sulfur and attach to the mineral surface to form biofilms and secrete extracellular polymeric substances (EPS). Cell attachment to ores is not random, as initial attachment is mainly driven by electrostatic interactions. Other influencing factors are pre-growth conditions, since these generate modifications in EPS composition, and thus change their interaction with the metal sulfide surface. Microorganisms generally interact with each other, increasing or inhibiting leaching. Previously it has been shown that pre-colonization of pyrite (FeS₂) with living iron-oxidizers can enhance further attachment processes of other sulfur-oxidizing species. *Acidithiobacillus thiooxidans* cells attached 40% more to pre-colonized pyrite with biofilms of *Acidithiobacillus ferrooxidans* or *Leptospirillum ferrooxidans*. The study of the interactions between different species and with minerals has great importance for understanding of leaching processes. The aim of this study is to develop new labeling and quantification methods for interactions in mixed species bioleaching biofilms. Our methods comprise the optimization of membrane/DNA/protein specific dyes for cell labeling, imaging mixed species biofilms on pyrite by epifluorescence microscopy (EFM), and applying image processing and other computational methods to the EFM images, in order to determine number of cells attached and the relationships between attachment patterns of different species. We have obtained EFM images of fluorescently labelled mixed cultures on pyrite pre-colonized with iron-oxidizers *Acidithiobacillus ferriphillus* or *L. ferrooxidans* later inoculated with the sulfur oxidizer *Acidithiobacillus thiooxidans*. We then evaluated the relationships between the attachment and biofilm formation patterns of the aforementioned species by analysis of images taken under various conditions.

Funding by Fondecyt 1161007 (MV), and Fondecyt Iniciación 11161046 (TR).



MA112

Procesos de biosorción y recuperación de Cu(II) en reactores a escala laboratorio basados en células inmovilizadas de *Pseudomonas veronii* 2E sobre diferentes matrices

Busnelli María Pia¹, Vullo Diana L.². ⁽¹⁾ Área Química, Instituto de Ciencias, Universidad Nacional de General Sarmiento, Buenos Aires, AR. ⁽²⁾ Área Química, Instituto de Ciencias, Universidad Nacional de General Sarmiento - CONICET, Buenos Aires, AR.

La problemática ambiental generada por los vertidos de industrias en cuerpos de agua es un tema de gran importancia mundial, ya que trae como consecuencia el desgaste de la calidad del agua como recurso. Los biotratamientos son elegidos por su efectividad y bajo costo, especialmente en aquellos casos en los que los metales se encuentran en una concentración inferior a 100 mg/L, como en muchos efluentes, en donde los tratamientos físicos y químicos, no son rentables. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de sorción y recuperación de Cu(II), metal mayoritario en descargas industriales de galvanoplastia, en reactores en lote de células enteras inmovilizadas en diferentes soportes a escala laboratorio. El trabajo constó de dos etapas, en la primera etapa de inmovilización celular se incubó *Pseudomonas veronii* 2E a 32°C, con leve agitación durante 20 - 30 días en un reactor tipo *batch*, con tres matrices diferentes: esponjas de *loofa* (EV), tierra de diatomeas (PS) y pumita (PP). En la segunda etapa se realizaron dos ciclos, uno de sorción de Cu(II) 1mM en cada uno de los reactores mencionados (V_{final} = 50 mL) y otro de desorción del metal (V_{final} =17 ml) con HCl 75mM como desorbente. En cada una de las etapas se mantuvo la $T=32^{\circ}C$ y leve agitación. Los resultados para la primera etapa registraron una adherencia de biomasa expresada en gbiomasa/g soporte de 0,059, 0,087, 0,020 para EV, PP y PS respectivamente. Para la segunda etapa, se observó una retención de Cu(II) del 57,00%, 33,90% y 92,11% para EV, PP y PS respectivamente, del cual desorbieron un 100% del Cu(II) retenido para EV y PP, y un 76% para PS. Por los resultados observados, se concluye que *P. veronii* 2E inmovilizada en estos soportes representa una herramienta potencial para su aplicación en biotratamientos de efluentes de galvanoplastia por su capacidad de unión al metal y la habilidad de recuperación, dando posibilidad a procesos de reciclado de cobre y reutilización del sistema.

Agradecemos a la Universidad Nacional de General Sarmiento por permitir desarrollar este trabajo de investigación en sus instalaciones y a AGENCIA por financiarlo dentro del proyecto PICT 2014-0964- Plan Argentina Innovadora 2020.

MA113

Gold accumulation by *Lysinibacillus sphaericus* and possible biosynthesis of nanoparticles

M. Camila Bustos¹, Humberto Ibarra², Jenny Dussán¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigaciones Microbiológicas (CIMIC), Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Bogotá D.C., CO. ⁽²⁾ Centro de Microscopía, Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad de Los Andes, Bogotá D.C, CO.

Gold mining is an important activity worldwide. Its increasing demand, have led the industry the responsibility of the incorporation and development of new technologies with greater efficiencies and an environmental sustainable approach. Colombia has a great exploitation potential, but the presence of illegal and artisanal mining has brought political, social, economic and environmental problems. Two strains of *Lysinibacillus sphaericus* were isolated from an area of active alluvial gold mining exploitation at El Bagre, Antioquia. Absorption capacity of these strains and some of *Lysinibacillus sphaericus* CIMIC collection (CBAM5, B31, III (3)7) were evaluated by spectrophotometry according to a calibration gold curve of HAuCl_4^- with concentrations between 0 $\mu\text{g/mL}$ and 100 $\mu\text{g/mL}$. Bioassays with living biomass were done with an initial gold concentration of 60 $\mu\text{g/mL}$. Sorption capacity was evident, reaching percentage of gold recuperation between 25% and 85% in the first two hours and 75% to 95% after 48 hours. Additionally, possible biosynthesis of gold nanoparticles (AuNPs) were also observed. Metal binding and possible AuNPs were determinate with scanning electronic microscopy and EDS analysis. The sorption and fabrication capacity of AuNPs exhibit by the *Lysinibacillus sphaericus*, convert this microorganism in a potential alternative for processes in biomining related with gold extraction.

MA114

Mercury-resistant bacterial strain *Cupriavidus metallidurans* MSR33 as a benzene-degrading candidate for bioremediation of co-polluted soils

Cajas David R¹, Nataly Rojas¹, Exequiel Mamani¹, Luis Rojas¹. ⁽¹⁾ Química, Ciencias, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL.

Cupriavidus metallidurans CH34 is considered the model bacterium for heavy metal resistance. Its genome includes diverse gene clusters involved in heavy metal resistance and degradation pathways for some aromatic compounds, including the group of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes (BTEX). *In vitro* assays confirmed that strain CH34 is capable of using benzene (5 mM) as sole carbon source. However, a very low amount of Hg(II) 0.008 mM prevented benzene degradation. *Cupriavidus metallidurans* MSR33 is a derivative strain of CH34, generated by incorporation of the natural broad-host-range IncP-1 β plasmid pTP6, which increased the resistance to inorganic mercury and granted a novel resistance to organic mercury species. Strain MSR33 possesses 10-fold more resistance to inorganic mercury than the parental strain; therefore, could be an interesting candidate strain for benzene bioremediation in sites co-contaminated with toxic heavy metal such as Hg(II). The aim of this study was to determine the capability of strain MSR33 to transfer plasmid pTP6 to soil native bacteria and the capability to increase the benzene removal rate on soil in presence of mercury concentrations that are toxic to strain CH34. Microcosms were prepared with a characterized agricultural soil, spiked with benzene and/or Hg(II) and/or inoculated with *C. metallidurans* MSR33 or *C. pinatubonensis* JMP134 (both strains possess similar genes encoding for monooxygenases involved in aromatic compounds degradation). Sacrificial samples were taken daily for 7 days for total heterotrophic and MSR33 bacterial counting, and benzene determination by a Headspace-Gas Chromatography-FID system. ARDRA fingerprint and PCR analysis confirmed that different soil bacteria acquired plasmid pTP6 improving mercury resistance to the host. MIC of inorganic Hg(II) for soil bacterial strains carrying plasmid pTP6 was lower than MIC observed for donor strain MSR33. Finally, inoculation with strain MSR33 increased benzene removal on soil samples in presence of toxic concentrations of Hg(II). In conclusion, *Cupriavidus metallidurans* MSR33 is presented as a novel approach for bioremediation of soils impacted with organic pollution even in presence of toxic heavy metals.

FONDECYT 11130117, PROYECTO SEMILLA UCN RES. VRI NRO 187/2017.



MA115

Aislamiento de *Komagataeibacter* sp. productor de celulosa a partir de té Kombucha fermentado

Calderón-Toledo Susana V¹, Zavaleta Amparo I¹, Víctor Izaguirre¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima 1, PE.

Antecedentes: El té Kombucha, bebida fermentada, contiene un consorcio de microorganismos entre levaduras y bacterias ácido acéticas que complementan sus sistemas metabólicos. Entre las bacterias ácido acéticas destacan especies del género *Komagataeibacter* productoras de celulosa de alta pureza y cristalinidad. Por ello, el objetivo de esta investigación fue aislar y caracterizar bacterias productoras de celulosa a partir de té Kombucha fermentado. **Materiales y métodos:** Las muestras de té Kombucha fermentado de forma artesanal y adquiridas en el mercado Central de Lima, fueron pre-enriquecidas y sembradas sobre agar Hestrin y Schramm a 30 °C por seis días. Después de estabilizar los aislados, se realizaron pruebas morfológicas y bioquímicas. Luego, los aislados se sembraron en caldo Hestrin y Schramm a 30 °C por 72 horas, donde la formación de una película blanca sobre el medio líquido fue presuntiva de la producción de celulosa. Esta película fue aislada y tratada con NaOH 0.5 M a 80 °C por 1 hora. Además, se utilizó la secuenciación parcial de los genes ribosómicos 16S para su identificación. **Resultados:** De las 15 cepas aisladas, una de ellas presentó características morfológicas y bioquímicas similares al género *Komagataeibacter* tales como la sobreoxidación de ácido acético, la formación de dihidroxiacetona a partir de glicerol y halos en el medio GEY-CaCO₃ indicando la oxidación de etanol a ácido acético. Asimismo, la bacteria presenta morfología bacilar Gram negativa. Por otro lado, la película de celulosa obtenida resistió al tratamiento térmico con NaOH 0.5 M. A la vez, el análisis de la secuenciación parcial de los genes ribosómicos 16 S presenta similitud con miembros del género *Komagataeibacter*. **Conclusiones:** La cepa de *Komagataeibacter* sp. aislada del té Kombucha fermentado produce celulosa, la cual se puede utilizar en la producción industrial de este compuesto.

MA116

Evaluación del potencial antimicrobiano del extracto de hojas de *Baccharis dracunculifolia* cultivada en el sur de Brasil

Genice Iurckevicz¹, Maira Casagrande¹, Calegari Gabrielle Cristina², Débora Dahmer², Santos Vidianny Aparecida², Malfatti Carlos Ricardo¹, Cunha Mário Antônio². ⁽¹⁾ Departamento de Química, Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava, BR. ⁽²⁾ Departamento de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, BR.

Baccharis dracunculifolia es una planta arbustiva nativa de Brasil donde es popularmente conocida como romero del campo. Los extractos de la planta presentan una composición fitoquímica rica en compuestos bioactivos y propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y antimicrobianas. En el presente estudio el potencial antimicrobiano del extracto metanólico de las hojas de *B. dracunculifolia* se evaluó contra microorganismos de importancia clínica. La extracción se realizó con metanol 95% V/V (1:4, muestra/solvente) durante 20 minutos a 70 °C, con agitación constante. Se concentró el extracto en evaporador rotativo para la eliminación del solvente y fue resuspendido en agua destilada para la realización de los ensayos de actividad antimicrobiana. El método de microdilución fue utilizado para evaluar la concentración mínima inhibitoria (MIC) (0,36; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 20; 40; 60 y 70 mg/mL) contra *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella enterica* Typhimurium (ATCC 0028), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Candida albicans* (ATCC 10291) y *Candida tropicalis* (ATCC 13803). Los ensayos se realizaron en placas de Elisa donde fueron mezclados 100 µL de extracto, 100 µL de medio de cultivo (Mueller-Hinton o Sabouraud) y 5 µL de suspensión del microorganismo evaluado con concentración estandarizada (McFarland 0,5). Se utilizaron los antimicrobianos tetraciclina y fluconazol como control positivo (5 mg/mL) y agua peptona (0,1% m/v) como control negativo. Resazurina (0,01% m/v) fue utilizado como colorante revelador de actividad metabólica. Los pocillos con resultados positivos fueron sembrados en placas de Petri para la determinación de la concentración mínima bactericida (CBM) o fungicida (CFM). Se ha comprobado el potencial fungicida a partir de las concentraciones de 5 y 7 mg/mL contra *C. tropicalis* y *C. albicans*, respectivamente. El extracto de *B. dracunculifolia* también presentó efecto antibacteriano contra *E. coli* (MIC: 60 mg/mL), *S. enterica* Typhimurium (MIC: 40 mg/mL) y *S. aureus* (MIC: 4 mg/mL). Además, se verificó un efecto bactericida contra *S. aureus* en la concentración de 8 mg/mL. Los resultados obtenidos indican que el extracto metanólico de *B. dracunculifolia* cultivado en el estado de Paraná, puede ser una alternativa para uso como agente antimicrobiano, especialmente contra *C. albicans*, *C. tropicalis* y *S. aureus*.

MA117

Estudo da capacidade de consórcio bacteriano em desconstruir a biomassa lignocelulósica

Souza Anna C Oliveira¹, Constancio Milena Tavares L¹, Fernandes Camila Cesario¹, Kishi Luciano Takeshi¹, Lemos Eliana G Macedo¹, **Carareto Alves Lucia Maria**¹. ⁽¹⁾Tecnologia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, BR.

A produção de etanol de primeira geração gera resíduos que podem ser usados como matéria-prima para a produção do etanol de segunda geração, como o bagaço e a palhada da cana-de-açúcar. A produção de álcool utilizando material lignocelulósico é um processo de utilização sustentável de vários resíduos da agroindústria como a palha do milho, casca de amendoim, o bagaço de cana de açúcar e diversos outros materiais de origem vegetal. Entretanto para que esse processo possa ocorrer de modo eficiente e economicamente viável o maior desafio da produção de etanol de segunda geração equivale em encontrar a melhor opção de transformar celulose e hemicelulose hidrolisadas em hexoses e pentoses que possam ser fermentados. Com isso o objetivo deste trabalho é estudar a capacidade de um consórcio bacteriano em utilizar a biomassa como fonte de carbono e liberar açúcares fermentescíveis para utilização na produção de etanol de segunda geração. O estudo foi realizado a partir do cultivo do consorcio isolado durante 10 dias em meio com bagaço de cana como fonte de carbono. Foram realizadas análises da composição das frações fibrosas e da liberação de açúcares e ácidos orgânicos por cromatografia HPLC da fase sólida (bagaço de cana de açúcar) e líquida do meio de cultivo durante o período estudado. A partir do material genético do material cultivado foi realizado o sequenciamento do gene 16S rRNA para o estudo dos componentes do consórcio. Os resultados mostraram que durante o processo de cultivo foi observado diminuição do teor de celulose (15%/ 5 dias de cultivo) e hemicelulose (16% em 10 dias de cultivo), e teores estáveis de lignina. Na fração líquida, por outro lado, pode ser observado, por HPLC, um aumento de 25% do teor de glicose livre no período estudado. A população bacteriana que se desenvolve na fração líquida e sólida (bagaço de cana de açúcar) está sendo determinada para se conhecer a relação população bacteriana e eficiência do processo de desconstrução da biomassa, em relação ao tempo de cultivo do consórcio. Esses resultados poderão ser utilizados em ensaios para estimar a utilidade do consórcio em aplicação produtiva industrial.

Processo Fapesp 2016/16624-1.

MA118

Biocatálisis de compuestos orgánicos: biotransformación de triterpenos naturales con actividad antitumoral

Pilar Cárdenas¹, Agustín Zamora¹, Elisabeth Grohmann², Juan Carlos Gentina³, Leandro Padilla⁴, Leda Guzmán¹.

⁽¹⁾ Laboratorio de Química Biológica, Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL.

⁽²⁾ Life Sciences and Technology, Beuth University of Applied Sciences, Berlin, DE. ⁽³⁾ Escuela de Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽⁴⁾ I+D, Natural Response S.A., Quilpué, CL.

Los triterpenoides son un grupo variado de compuestos presentes en diversos tipos de vegetales y organismos marinos. En las últimas décadas, los compuestos triterpénicos naturales han sido investigados, debido a sus interesantes propiedades biológicas como: antiinflamatorias, antitumorales, antinociceptivas y antimicrobianas. Se ha querido encontrar nuevas y mejores actividades biológicas, lo que ha conducido a crear y estudiar el comportamiento de variantes estructurales. Se ha demostrado que compuestos del tipo triterpenos pentacíclicos como el ácido ursólico posee actividad antitumoral en células de cáncer de mama. Por otro lado, se ha demostrado que la modificación específica de estos compuestos catalizada por microorganismos (biotransformación), permite obtener derivados con actividad que podría ser mejorada de una manera costo-efectiva respecto a la síntesis química. Este proyecto tiene por objeto estudiar la biotransformación de compuestos triterpénicos obtenidos a partir de extractos de *Cicer arietinum* para obtener compuestos con mayor actividad antitumoral que las moléculas parentales. Para este fin, se utilizó un hongo del tipo *Aspergillus*. A la fecha hemos observado que este hongo presenta la capacidad de realizar una biotransformación enzimática sobre un triterpeno denominado Sap I, el que está presente en varas leguminosas como *Cicer arietinum*, para generar Sap II. Este MO removió cadenas de azúcares a través del corte de enlaces glicosídicos. Nuestro grupo de investigación ha logrado: i) caracterizar parcialmente por HPLC el compuesto Sap III y ii) evaluar su actividad antitumoral sobre la línea celular SNU1. Los resultados son alentadores, indicando la factibilidad de realizar catálisis biológicas sobre triterpenos de especies vegetales, para la obtención de nuevas moléculas con actividades nuevas o mejoradas.

Este proyecto fue financiado por DI 036-298 (PUCV) y CONICYT N 21141206.

MA119

Potencial uso de bacterias endolíticas antárticas como fuente de fotosensibilizadores en celdas solares

V. Carrasco¹, V. Amarelle¹, Pérez-Donoso J. M.², E. Fabiano¹. ⁽¹⁾ Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Facultad de Ciencias, UDELAR, Instituto de Investigaciones Biológicas, Montevideo, UY. ⁽²⁾ Laboratorio de Bionanotecnología y Microbiología, CBIB, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

La energía obtenida a partir de recursos renovables y limpios como la luz solar plantea un desafiante camino para la comunidad científica. Los beneficios de la tecnología fotovoltaica hacen que la obtención de este tipo de energía se vaya dando de formas más eficientes pero simultáneamente, el impacto ambiental que produce la construcción de dispositivos fotovoltaicos es un aspecto que debería llamar nuestra atención. Una alternativa son las nuevas generaciones de celdas solares (cuarta generación), cuyo principal objetivo la inclusión de materiales de origen biológico. Las comunidades endolíticas están compuestas por microorganismos capaces de colonizar el interior de las rocas, las cuales brindan a estos organismos protección frente a condiciones ambientales extremas de viento, desecación, alta radiación UV y fluctuaciones en la temperatura; condiciones habituales en la Antártida. Basándonos en la hipótesis de que las rocas antárticas albergan una comunidad bacteriana particular y poco explorada, nos planteamos analizar comunidades endolíticas antárticas en cuanto a su diversidad y fisiología, haciendo especial hincapié en la búsqueda de moléculas con el potencial de funcionar como fotosensibilizadores en celdas solares. A partir de una colección de bacterias endolíticas antárticas se seleccionaron 4 cepas por sus características en cuanto a tolerancia a metales y a su producción de pigmentos. *Pedobacter* sp. UYP1 resultó ser la cepa con características más interesantes, revelando mayores niveles de tolerancia a metales. Dos cepas de *Arthrobacter* y una de *Rhodococcus* fueron seleccionadas por su capacidad de producir pigmentos carotenoides de distintos colores (amarillo, naranja y rosado). En base a las características de estas cepas y con el propósito de evaluar su potencial en el desarrollo de celdas solares biológicas, se sintetizaron nanopartículas (NPs) de CdS con la cepa de *Pedobacter* y se purificaron los pigmentos de las cepas de *Arthrobacter* y *Rhodococcus*. Se construyeron celdas solares utilizando como fotosensibilizadores las NPs o los pigmentos producidos por las bacterias y se determinaron los parámetros fotovoltaicos. Ambos tipos de biomoléculas permitieron la obtención de energía a partir de la luz con distintas eficiencias y parámetros, lo que apoya la hipótesis de la prospección de este tipo de moléculas en los nichos endolíticos.

Financiado por PEDECIBA (VC), IAU (EF), ANII POS_NAC_2016_1_129907 (VC), INACH RT-25_16 (JMP-D).

MA120

Evaluation of the production of biomolecules by *Chlorella fusca* cultivated with pentoses and modification of luminous intensity

Cassuriaga Ana Paula Aguiar¹, Freitas Barbara Bastos¹, Morais Michele Greque², Costa Jorge Alberto Vieira². ⁽¹⁾ College of Chemistry and Food Engineering, Biochemical Engineering, Federal University of Rio Grande, Rio Grande, BR.

⁽²⁾ College of Chemistry and Food Engineering, Professor of Federal University of Rio Grande, Federal University of Rio Grande, Rio Grande, BR.

Microalgal biotechnology explores different applications of these microorganisms from the treatment of wastewater, use as biological indicators, production of biofuels and application in food. The production of biomolecules from microalgae has been the focus of several studies contributing to the processes becoming economically viable. Modifications of physical parameters such as variation of light intensity and modification of substrates influence the accumulation of compounds in the final biomass. In view of the above, this work had as objective to evaluate the production of biomolecules as proteins and lipids cells of *Chlorella fusca* LEB 111 with addition of pentoses, cultivated with different luminous intensities. The microalgae *Chlorella fusca* LEB 111 was cultivated in BG-11 medium with substitution of the carbon source ($0.02 \text{ g L}^{-1} \text{ Na}_2\text{CO}_3$) by D-xylose (20 mg L^{-1}) and reduction of the nitrogen compound (50%). The experiments were conducted on 2 L Erlenmeyer type photobioreactors, with light intensity change at 58 and 9 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. To evaluate the effects of the addition of pentoses in conjunction with the luminous intensity variation, determinations of proteins and lipids of the final biomass were carried out. The highest protein concentration (42.6%) was obtained with a light intensity of 58 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ in the control condition without modification of the carbon source, followed by experiment with addition of xylose and the same luminous intensity in which it was obtained 35.5% of this compound. In the experiments, it was possible to determine the increase in lipid concentration when the light intensity was reduced from 58 to 28 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ and the addition of pentose (D-xylose), reaching 22.1%. This concentration was higher than that verified in the control condition (16%), and in this condition there was a lower protein concentration (32.8%). It is believed that the modification of the luminous intensity together with the addition of pentose promoted modification in the microalgal metabolism so that reserve of lipid compounds as a form of defense occurred to the provided stress condition. The present study demonstrates the potential of the microalgae *Chlorella fusca* LEB 111 for the production of high biotechnological biomolecules such as proteins and lipids.

The authors would like to thank the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for the financial support provided.

MA121

Avaliação do potencial prebiótico de extrato etanólico não purificado de cascas de café

Costa Jéssica Batista Da¹, Paulo Cezar Da Cunha JR¹, Soares Tatiane Faustino², Ferreira Elisa Helena Da Rocha², Barbosa JR José Lucena². ⁽¹⁾ Programa de Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos - Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, BR. ⁽²⁾ Departamento de Tecnologia de Alimentos - Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, BR.

O café é uma importante cultura agrícola, sendo responsável pela movimentação de 5,47 bilhões de dólares no ano de 2016. Em relação à cadeia produtiva desta matéria prima, destaca-se o resíduo gerado na produção de café *coco*, que consiste majoritariamente da casca oriunda do descascamento dos grãos seco de café. Tal resíduo apresenta expressivo potencial antioxidante, em virtude de componentes ali presentes, como os compostos fenólicos. Entretanto, ainda é baixa sua utilização e quando a mesma ocorre, o destino desse resíduo é a produção de adubo. Desta forma, se faz necessária a incorporação desses compostos em produtos com maior valor comercial. Embora sejam encontrados alguns poucos trabalhos sobre o efeito prebiótico de compostos fenólicos, nenhum investigando os resíduos do beneficiamento do café *coco* como fonte de obtenção de compostos com potencial prebiótico se encontra disponível. Frente ao exposto, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o potencial prebiótico de um extrato etanólico não purificado, obtido a partir da casca de café seco, frente ao metabolismo do *Lactobacillus casei*. Foram utilizadas três condições de experimento, tendo como base leite desnatado: leite puro; leite adicionado de ácido gálico (0,2 mg mL⁻¹); leite adicionado de extrato etanólico não purificado (0,2 mg de ácido gálico equivalente mL⁻¹). Foram realizados plaqueamentos pela técnica da microgota. O experimento apresentou as seguintes contagens de *Lactobacillus casei*, partindo de um inóculo inicial de 6,5 log UFC.mL⁻¹ da cepa L. *casei* 01 – CHR Hansen®, após 12 horas de fermentação sob anaerobiose e a 37 °C: 9,03 log UFC.mL⁻¹; 9,24 log UFC.mL⁻¹; 9,11 log UFC.mL⁻¹, respectivamente. Em relação ao pH, foram realizadas as seguintes leituras após a fermentação: 5,10; 4,80; 5,75, respectivamente. A partir dos resultados aqui expressos, é possível concluir que o extrato obtido a partir da casca de café seco, ainda que não seja purificado, apresenta efeito prebiótico quando se refere ao desenvolvimento do *Lactobacillus casei*, mostrando-se uma alternativa viável como estimulante para o metabolismo de probióticos. Ainda foram realizadas as análises de índice de acidez nas três condições de processo e potencial antioxidante do extrato, pelas metodologias de FRAP, DPPH e teor de compostos fenólicos totais.

Os autores gostariam de agradecer às seguintes instituições: CNPq, CAPES, UFRJ e PPGCTA.

MA122

Producing cryptococcal laccase in *Komagataella pastoris* with a view to antibody production

Miranda Larissa VN¹, Melo Nadielle TM², Parachin Nádia S³, DeMarco Janice L⁴, Nicola André M⁵, Andrade Patrícia A⁶, **Paes Hugo C**⁷. ⁽¹⁾ Laboratory of Molecular Biology, Institute of Biological Sciences, University of Brasília, Brasília, BR.

⁽²⁾ Graduate Programme on Genomic Sciences and Biotechnology, Catholic University of Brasília, Brasília, BR.

⁽³⁾ Department of Cell Biology, Institute of Biological Sciences, University of Brasília, Brasília, BR. ⁽⁴⁾ School of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, University of Brasília, Brasília, BR. ⁽⁵⁾ Department of Pathology, Medical School, University of Brasília, Brasília, BR. ⁽⁶⁾ Department of Basic Sciences, Faculty of Ceilândia, University of Brasília, Brasília, BR. ⁽⁷⁾

Department of Clinical Medicine, Medical School, University of Brasília, Brasília, BR.

Human pathogens of the *Cryptococcus* genus are responsible for more than 200,000 deaths a year. In Latin America, case fatality exceeds 40%, with Colombia and Brazil being the countries of highest incidence. These fungi have several phenotypical traits in common which contribute to pathogenesis, including the ability to grow at 37 °C, a polysaccharide capsule with anti-phagocytic and immunomodulatory activities, and a variety of enzymes. Among these is laccase 1 (Lac1), a phenol-oxidase that has been shown as essential for these fungi to survive in the central nervous system (CNS). Among other activities, they are specifically able to detoxify antifungal agents in the cerebrospinal fluid, and aggressiveness of cryptococcal meningoencephalitis has been directly correlated with laccase activity of the fungal strain. We hypothesise that its role in the pathogenesis of neurocryptococcosis makes Lac1 a potential target for adjuvant therapy. Although antibodies against the enzyme do exist, none of them have anti-catalytic properties. To produce novel antibodies, the enzyme must be produced in high quantities. Therefore, we cloned a codon-optimised *LAC1* gene from *C. neoformans* into the pPICZ α -a expression vector and cloned the construct into the X-33 strain of *Komagataella pastoris* for methanol-induced secretion of Lac1. Previous, successful attempts to produce recombinant Lac1 used a combination of size exclusion and ion exchange chromatography, but these methods are cumbersome and not easily scalable for production in the amounts needed for antibody production via phage display and *in vitro* inhibition studies, so we tagged the enzyme with poly-His sequences at both the N- and C-terminal ends. We have obtained a *K. pastoris* recombinant strain that secretes Lac1 in amounts that are readily detectable in quantitative fashion by the chromogenic *in vitro* oxidation of ABTS, and we are currently optimising production and purification using affinity chromatography.

Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAP-DF.

MA123

Microbial recovery of lithium through environmental strains of Chilean Patagonia and Salar de Atacama, Chile

Cubillos Carolina F¹, Adrián Paredes², Phoenix Vernon R³, Severino Esteban L⁴, Mario Grágeda⁵, Cristina Dorador⁴.

⁽¹⁾ Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL.

⁽²⁾ Laboratorio Química Biológica, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽³⁾ Department of Civil and Environmental Engineering, Centre for Water, Environment, Sustainability and Public Health, University of Strathclyde, Glasgow, Scotland, GB. ⁽⁴⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽⁵⁾ Centro de Investigación Avanzada en Litio y Minerales Industriales, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL.

Lithium is one of the alkali metals most demanded for manufacturing of Li-ion batteries. Chile presents in its territory one of the largest lithium brines reserve, Salar de Atacama, with 1500 ppm average concentrations of Li. Currently, the lithium extraction begins with deposits of brines in evaporation ponds (0.7% Li), where by solar radiation effects it's obtained a concentrated lithium brine (5.8% Li). Later, these brines are transported to a chemical plant for lithium processing. Any biological material is able to remove metals and metalloids through a process called Biosorption. For the specific case of lithium, it has been described its removal using actinomycetes, bacterial, fungal and yeast cells. This study aimed to analyse the lithium removal from solution using environmental strains from Chilean Patagonia (Neltume Lake) and Salar de Atacama (brines). *Bacillus* sp. (Gram-positive), *Serratia* sp. (Gram-negative) and *Haloarcula* sp. strain LIBR001 (Archaea) were used as adsorbent biomasses. The biosorption lithium experiments were performed at 25°C in triplicated, the lithium was supplied in LiCl form and biomass as resting cells. The differences of lithium concentration were measured using inductively coupled plasma optical emission spectrometer. The lithium biosorption was performed at different contact time (0-120 min) and pH (2-10). We determined that lithium reaction biosorption is immediate, it occurs spontaneously when the cells are in contact with lithium. Nevertheless, the accumulation occurs after 60 min (5 min = 5.2 µmol Li accumulated; 60 min = 6 µmol Li accumulated), later the remaining accumulation is constant. The optimum pH biosorption depends of the adsorbent biomass. Alkaline pH was optimum for *Serratia* sp. (pH 10; 72.73 µmol Li/ g dry wt. cells) and *Haloarcula* sp. strain LIBR001 (pH 9; 96.33 µmol Li/ g dry wt. cells), while *Bacillus* sp. was neutral (pH 6; 209.01 µmol Li /g dry wt. cells). The removal percentage average were *Bacillus* sp. (49.7 % Li), *Haloarcula* sp. strain LIBR001 (16.6 %) and *Serratia* sp. (7%). The highest concentrations of accumulated lithium were obtained using Gram-positive bacteria as it has been reported for others Gram-positive strain. In conclusion, the microorganisms could be a suitable biosorbent of lithium.

CONICYT Scholarship for Doctoral Studies in Chile (CONICYT- PCHA/Doctorado Nacional/2014-21140165). Centre CeBiB FB 0001. Fondecyt 1140179; 1181773.

MA124

Avaliação do potencial prebiótico do resíduo oriundo da produção de bebidas à base de castanha-do-Brasil no desenvolvimento do *Lactobacillus casei* em sistemas modelo

Cunha Júnior Paulo Cezar Da¹, Gouvêa Lucas Paiva², Oliveira Lorena De Sá De², Martins Jade Guedes², Teixeira Bruno José Camões², Amauri Rosenthal³, Ferreira Elisa Helena Da Rocha². ⁽¹⁾ Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos - Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, BR. ⁽²⁾ Departamento de Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, BR. ⁽³⁾ CTAA, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, BR.

A castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K) é uma oleaginosa típica da região Amazônica, que apresenta grande interesse comercial, estando presente em diversos segmentos (alimentício, farmacêutico, cosmético, energético). Sua qualidade nutricional é um fator de destaque: 70% de lipídios, 20% de proteínas, além de quantidades significativas de compostos antioxidantes e minerais, em especial, o selênio, importante micromineral que atua em processos metabólicos e regulatórios. Ainda assim, a castanha-do-Brasil é pouco consumida, em virtude do alto valor de comercialização e baixa industrialização. Entretanto, destaca-se a crescente utilização dessa matéria prima para a elaboração de extratos, comercialmente conhecidos como “leites” vegetais. A obtenção dessas bebidas acarreta na geração de um resíduo de alto valor biológico e que, por muitas vezes, é descartado, sem ser utilizado como ingrediente em outras elaborações alimentícias. Mediante ao exposto, objetivou-se avaliar o potencial prebiótico do resíduo supracitado no frente a probióticos, a fim de propor a sua utilização no enriquecimento de bebidas lácteas. A castanha-do-Brasil (oriunda da região de Xapuri – AC) foi adicionada de água e triturada. O líquido obtido foi prensado e o resíduo sólido foi seco a 55 °C. O probiótico utilizado foi o *Lactobacillus casei* (L. casei 01 – CHR Hansen®) a uma contagem 6,50 log UFC.mL⁻¹. Foram estabelecidos os seguintes parâmetros de processo: anaerobiose e 37 °C. Utilizou-se como padrão a inulina, substância com potencial prebiótico amplamente conhecido. Foram elaborados três sistemas modelo, tendo como base leite desnatado estéril, com pH inicial de 6,60: leite puro (SM1); leite adicionado de inulina a 2,5% m/v (SM2) e leite adicionado do resíduo a 2,5% m/v (SM3). Após 12 horas de fermentação, avaliou-se o decréscimo de pH e a contagem em placas do micro-organismo nos sistemas modelo, observando-se as seguintes leituras: pH_{SM1} 5,10 e 9,03 log UFC.mL⁻¹; pH_{SM2} 4,83 e 9,05 log UFC.mL⁻¹; pH_{SM3} 5,02 e 9,21 log UFC.mL⁻¹, respectivamente. É possível constatar que a adição do resíduo teve efeito benéfico no desenvolvimento do *Lactobacillus casei* (acrécimo de, aproximadamente, 0,2 log UFC.mL⁻¹, superior a resposta observada pela adição de inulina). Além disso, determinou-se o índice de acidez dos três sistemas modelo e o potencial antioxidante do resíduo utilizado.

Os autores gostariam de agradecer às seguintes instituições: CNPq, CAPES, UFRRJ e PPGCTA.

MA125

Producción microbiana de (1-6)-B-D-glucana por fermentación sumergida utilizando hidrolizado de melaza de soja como sustrato

Michel Fonseca¹, Acosta Silvia Barbosa ², Calegari Gabrielle Cristina², Santos Vidianny Aparecida², Michel Fonseca², Dekker Aneli Melo³, Dekker Robert Frans³, Cunha Mário Antônio². ⁽¹⁾ Departamento de Química, Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, BR. ⁽²⁾ Departamento de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, BR. ⁽³⁾ Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, BR.

La melaza de soja es una biomasa generada en el proceso de producción del concentrado proteico de soja, siendo rica en carbohidratos como glucosa, fructosa, sacarosa, rafinosa y estaquiosa. Estos azúcares pueden ser aprovechados como sustrato de bajo costo en procesos biotecnológicos para la síntesis de productos de interés industrial. Macromoléculas como las b-D-glucanos, son bioproductos que pueden ser aplicados en los sectores farmacéutico, alimenticio y químico. De esta forma, lasiodiplodana, una (1-6)-b-D-glucana producida por el ascomiceto *Lasiodiplodia theobromae* MMPI, presenta funcionalidades biológicas como actividad inmunomoduladora, antioxidante e hipocolesterolemia. El presente trabajo evaluó la utilización del hidrolizado de melaza de soja como sustrato alternativo para la obtención microbiana de lasiodiplodana. La melaza de soja fue sometida a hidrólisis química (121 °C, 1,5 atm, 10 minutos) empleando H₂SO₄ (0,25 mol/L) como catalizador. Como medio de cultivo fue empleado melaza hidrolizada con pH ajustado a 5,5 y contenido de azúcares totales de 8 g/L. Los cultivos fueron conducidos en frascos agitados utilizando 100 mL de medio de trabajo y 10 mL de inóculo estandarizado, mantenidos en incubadora orbital por 102 h a 28 ° C y 150 rpm. La producción de lasiodiplodana y concentración de biomasa fúngica fueron evaluadas por gravimetría y el contenido de azúcares fue determinado por HPLC. El máximo consumo de azúcares (YC) fue de 73,48% después de 102 h, cuando se verificó una concentración final de lasiodiplodana de 1,96 g/L (PF), rendimiento en lasiodiplodana de 0,33 g/g y productividad volumétrica (QP) de 0,02 g/L.h. La máxima producción de este biopolímero (2,6 g/L) fue verificada en 72 h de proceso, cuando se había consumido 62,93% del sustrato, observándose un rendimiento de 0,52 g/g y productividad de 0,04 g/L.h. Posiblemente después de 72 h de cultivo ocurrió hidrólisis parcial de la macromolécula en función de la producción de (1-6)-b-D-glucanasa. Con relación a la biomasa fúngica, hubo aumento gradual durante el cultivo, con una concentración máxima de 6,85 g/L en 102 h. Los resultados obtenidos indican que el hidrolizado de melaza de soja presenta potencial como sustrato alternativo para la producción biotecnológica de lasiodiplodana por el hongo *L. theobromae* MMPI.

MA126

Coimobilização da β -glucosidase de *Humicola insolens* e da endoglucanase de *Scytalidium thermophilum* em nanopartículas ferromagnéticas: estudo do efeito sinérgico para hidrólise da biomassa lignocelulósica

Sibeli Carli¹, Luana Parras Meleiro¹, Richard John Ward¹. ⁽¹⁾ Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, BR.

Atualmente a produção economicamente viável de etanol de segunda geração (E-2G) tem como principal barreira o alto custo associado às enzimas envolvidas no processo de sacarificação da biomassa. A imobilização de enzimas é uma alternativa atraente para que haja a recuperação e a reutilização das mesmas resultando na redução dos custos de produção do E-2G. As nanopartículas atuam como materiais de suporte muito eficientes para imobilização enzimática, devido às suas características ideais para balancear os principais fatores que determinam a eficiência dos biocatalizadores, incluindo área superficial específica, resistência à transferência de massa e carga enzimática efetiva. Além disso, nanopartículas magnéticas possuem vantagem adicional, podendo ser separadas facilmente usando um campo magnético externo. A coimobilização de enzimas que atuam num mesmo substrato é uma maneira inteligente de potencializar o efeito sinérgico das mesmas. Neste trabalho a β -glucosidase recombinante de *Humicola insolens* (Bglhi) e a endoglucanase recombinante de *Scytalidium thermophilum* (Egst) foram coimobilizadas em nanopartículas ferromagnéticas quiosana-glutaraldeído-ácido N-(5-amino-1-carboxi-pentil) iminodiacético-Ni²⁺ e os resultados obtidos foram comparados com aqueles obtidos com as enzimas imobilizadas individualmente e livres em solução. Os rendimentos de coimobilização foram de aproximadamente 50% com um reuso de 5 vezes mantendo cerca de 80% da atividade. Egst hidrolisou CMC na presença de MnCl₂ 4 mM com V_{max} = 625,0 ± 6,7 U.mg⁻¹ e K_M = 6,4 ± 0,5 mg mL⁻¹ resultando numa eficiência catalítica (k_{cat}/K_M) de 107,4 ± 5,4 mg⁻¹.s⁻¹.mL. Bglhi hidrolisou pNP-Glc com V_{max} = 52,7 ± 2,7 U.mg⁻¹ e K_M = 0,23 ± 0,01 mM resultando numa eficiência catalítica (k_{cat}/K_M) de 214,3 ± 10,2 s⁻¹mM⁻¹, estes parâmetros cinéticos foram muito semelhantes aos observados para as enzimas livres. As enzimas coimobilizadas mostraram efeito sinérgico para hidrólise de CMC (1,2 vezes) e β -glucano (3,3 vezes). Além disso, foram capazes de agir sobre uma das frações pré-tratadas do bagaço de cana-de-açúcar de maneira muito parecida com aquele obtido para as enzimas imobilizadas individualmente, demonstrando excelente potencial para aplicação na hidrólise da biomassa lignocelulósica.

FAPESP, CAPES, CNPq.

MA127

Produção de enzimas hidrolíticas por microrganismos endofíticos de milho antagonistas a *Fusarium verticillioides*

Diniz Gisele De Fátima Dias¹, Ribeiro Vitória Palhares², Soares Eveline Anielle Cristelli², Aguiar Frederick Mendes³, Cota Luciano Viana³, Marriel Ivanildo Evódio⁴, Oliveira Christiane Abreu De⁴. ⁽¹⁾ Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Universidade Federal de São João del-Rei, campus de Sete Lagoas/MG, Sete Lagoas/MG, BR. ⁽²⁾ Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia, Universidade Federal de São João del-Rei, Sete Lagoas/MG, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Fitopatologia, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas/MG, BR.

⁽⁴⁾ Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Solos, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas/MG, BR.

A utilização de microrganismos antagonistas como agentes de controle biológico contra fitopatógenos é uma alternativa para reduzir os efeitos negativos de defensivos químicos e aumentar a eficiência do controle das doenças. Os antagonistas atuam por diferentes mecanismos de ação, como a produção de enzimas hidrolíticas, que podem degradar a parede celular e membrana dos fungos, além de desencadear respostas de defesa das plantas. O objetivo do trabalho foi identificar a produção de enzimas hidrolíticas por quatorze microrganismos dos gêneros *Penicillium* (IPR24), *Candida* (IGN36), *Aspergillus* (CT01), *Achromobacter* (ISD04 e 1PR23), *Bacillus* (2080, IM14, IGN23, IGN01, IGN14, IPR06 e CT02), *Burkholderia* (1919) e *Pseudomonas* (IPR45), que apresentaram inibição contra *Fusarium verticillioides*. Os isolados foram inoculados em meio específico para celulase, pectinase, protease e lipase. As bactérias foram inoculadas com 10 µl de uma suspensão a 10⁸ UFC/mL e os fungos com um disco do micélio. Após 48h a 28°C, o diâmetro das colônias e halos foram medidos. O índice enzimático (IE) foi calculado pela fórmula: $IE = DH/DC$, sendo DH: o diâmetro (mm) do halo descolorido e DC: o diâmetro (mm) das colônias. Os tratamentos foram feitos em triplicata, os dados submetidos a ANOVA e comparados pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. Para a produção de protease, três isolados (IGN36, ISD04 e IPR24) foram negativos e o restante (78%) foram positivos. O isolado CT01 apresentou o maior valor de IE (2,02), sendo estatisticamente diferente dos demais. Para celulase e pectinase, quatro isolados (IGN36, IPR24, IPR45, ISD04) não formaram halo. Os outros isolados (71%) apresentaram IE variando de 1,23 a 1,85 (celulase) e 1,73 a 2,35 (pectinase). Somente um isolado (IPR45) apresentou atividade lipolítica com IE de 2,3. Um microrganismo é bom produtor de enzimas quando o IE é $\geq 2,0$ e moderado quando $IE \leq 1,5$. Assim, nesse estudo 71% dos isolados foram considerados moderados e 21% considerados bons para alguma das enzimas avaliadas. A maioria dos isolados (71%) produziu três das quatro enzimas avaliadas (celulase, pectinase e protease), indicando grande potencial desses microrganismos para serem utilizados no biocontrole, pois possuem um maior espectro de ação contra os fungos fitopatogênicos.

FAPEMIG, CNPq, EMBRAPA, UFMG, UFSJ.

MA128

Biocontrol de fitopatógenos e incremento del vigor en semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) por *Bacillus thuringiensis* aisladas de México

De La Fuente_Salcido Norma Margarita¹, Quistian Martinez Deyanira², Alberto Valadez Lira, J Eleazar Barboza Corona⁴, David Francisco Lafuente Rincon⁵. ⁽¹⁾ Bioprospección y Bioprocesos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Torreón Coahuila, MX. ⁽²⁾ Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolas de los Garza, MX. ⁽³⁾ Departamento de Inmunología, Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolas de los Garza, MX. ⁽⁴⁾ Departamento de Alimentos, Ciencias de la vida, Universidad de Guanajuato, Irappuato Guanajuato, MX. ⁽⁵⁾ Departamento de Botánica, Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolas de los Garza, MX.

Las bacterias entomopatógenas como *Bacillus thuringiensis* (Bt) y/o sus metabolitos han demostrado ser beneficios para el biocontrol de plagas en los cultivos agrícolas. En esta investigación se evaluó el potencial antifúngico de 5 bacteriocinas de Bt *in vitro* contra *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) y se determinó el efecto de las bacteriocinas y las cepas que las producen para estimular la germinación (vigor) en semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv. Rio Grande). La actividad antifúngica de las bacteriocinas (100 µL) se determinó por difusión en pozos en PDA (7 días/30 °C). La germinación se evaluó en lotes de semillas por imbibición (60 min/28 °C) en suspensiones de cultivos de Bt (1×10^7 cél·mL⁻¹) o soluciones de bacteriocina (500 U·mL⁻¹), secadas a 30-35 °C y germinadas en obscuridad total (28 °C/96 h). Se registró la germinación (%) y además la longitud (cm), el índice de vigor y el peso fresco (µg) de los brotes de tomate y se realizó un análisis de los componentes principales (ACP) de los resultados obtenidos. Las bacteriocinas ejercieron un efecto fungistático sobre Fol (55-72 %), con mayor efectividad de la thuricina H (m). El ACP indicó el mayor efecto sobre la germinación por la bacteriocina tolworthicina 524 y la cepa productora *B. thuringiensis* subsp. *tolworthi*, coincidiendo con el valor registrado para el máximo índice de vigor en los brotes de tomate. Las cepas de *B. thuringiensis* y sus bacteriocinas tienen la capacidad de actuar como agentes biocontroladores de fitopatógenos (Fol) y como estimulantes de la germinación en semillas de tomate tipo *Solanum lycopersicum* L. cv. Rio Grande.

MA129

Atividades de decolorizing dye peroxidases (DyPs) de actinomicetos isolados da caatinga

Marques Kelly De Matos¹, Fernandes Bianca Barna¹, Okamoto Débora Noma¹, Ferrari Vitor Baptista², Caroline Lourenço¹, Melo Itamar Soares³, Vasconcellos Suzan Pantaroto⁴. ⁽¹⁾ Ciência e Tecnologia da Sustentabilidade, Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, Santo André - SP, BR. ⁽²⁾ Ciência e Tecnologia da Sustentabilidade, Ciências Ambientais, Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, São Paulo - SP, BR. ⁽³⁾ Meio Ambiente, Engenharia Agrônômica, Embrapa, São Paulo SP, BR ⁽⁴⁾ Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas, Farmácia, Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, São Paulo - SP, BR.

Os actinomicetos são bactérias Gram-positivas, com características semelhantes a fungos filamentosos, principalmente pelo lento crescimento e por suas células alongadas e ramificadas, denominadas hifas. Já foram descritos em ambientes como solo, lama, sedimentos marinhos e compostagem, sendo responsáveis pelo odor de “terra molhada”, onde estão relacionados com a produção de metabolitos secundários e habilidade em oxidar substâncias como fenóis e esteroides. Descritos em alguns ambientes extremos como a caatinga, esses microrganismos são fontes de enzimas que podem tolerar amplas variações de temperatura, salinidade e pH. Nesse contexto, 173 actinomicetos isolados da caatinga foram avaliados quanto à atividade de DyPs (“*Decolorizing Dye Peroxidases*”), utilizando-se o corante antraquinônico RBBR (Remazol Brilliant Blue R) como substrato modelo. Dentre os actinomicetos avaliados, 27 foram selecionados, apresentando habilidades enzimáticas compatíveis ao descrito pela literatura de referência. Os mesmos isolados também serão analisados quanto às atividades de manganês peroxidase (MnP), lacases (Lac) e lignina peroxidases (Lip), almejando-se a detecção e quantificação de suas habilidades ligninolíticas. Os extratos enzimáticos obtidos a partir dos isolados microbianos selecionados serão avaliados quanto às suas habilidades a atuar diretamente sobre biomassa vegetal lignocelulósica, almejando-se o aumento da digestibilidade das fibras, de maneira a incrementar o rendimento da produção de bioetanol de segunda geração.

Universidade Federal de São Paulo UNIFESP. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

MA130

Efeito do pH na degradação de zearalenona por peroxidase em solução modelo

Garcia Sabrina D Oliveira¹, Marimón Sibaja Karen Vanessa¹, Pinheiro Diean Fabiano Alvares², Victória Reyes³, Scaglioni Priscila Tessmer⁴, De Freitas Cristina Hallal⁵, Jaqueline Garda-Buffon¹. ⁽¹⁾ Escola de Química e Alimentos (EQA), Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos (PPGECA), Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, BR. ⁽²⁾ Escola de Química e Alimentos (EQA), Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos (EA), Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, BR. ⁽³⁾ Escola de Química e Alimentos (EQA), Curso de Graduação em Engenharia Bioquímica (EB), Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, BR. ⁽⁴⁾ Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Bioprospecção (PPGGBio), Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, BR. ⁽⁵⁾ Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, BR.

A zearalenona (ZEA) é uma micotoxina produzida por fungos do gênero *Fusarium*, quando em condições de estresse, que apresenta ação estrogênica. A ocorrência desta micotoxina em matérias-primas destinadas a formulação de alimentos e rações gera perdas econômicas e impacta na saúde humana e animal, acarretando em estratégias para sua mitigação. Nesta perspectiva, a enzima peroxidase (PO) têm demonstrado resultados promissores na degradação de micotoxinas, como aflatoxina B1, deoxinivalenol e ZEA. Porém, o pH é fator determinante nas ligações entre enzima e substrato, devido cada enzima possuir pH ótimo para a máxima atividade enzimática. Portanto, objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do pH na degradação de ZEA por PO em solução modelo. Os testes de degradação foram realizados adicionando ZEA (1 µg.mL⁻¹) e PO comercial (0,6 U.mL⁻¹) em solução modelo composta por água, peróxido de hidrogênio 0,08%, tampão fosfato de potássio 100 mM em pH de 3; 4; 5; 5,5; 6; 6,5; 7 ou 8. Os ensaios foram incubados a 25±5°C em agitador orbital a 150 rpm durante 24 h. A extração da micotoxina foi realizada com clorofórmio e quantificação por cromatografia líquida. A degradação de ZEA (%) foi estimada através da diferença entre as concentrações inicial e concentração residual. As degradações de ZEA (%) na solução modelo com pH 3; 4; 5; 5,5; 6; 6,5; 7 e 8 com desvio padrão foram 11,0 ± 5,9; 9,8 ± 4,9; 23,8 ± 4,9; 17,9 ± 6,2; 43,0 ± 11,2; 54,0 ± 2,8; 63,7 ± 2,8 e 64,6 ± 1,9, respectivamente. Os resultados demonstraram que os maiores percentuais de degradação foram em pH 6,5; 7 e 8, não havendo diferença estatística entre os mesmos (p>0,05). Em suma, a PO foi eficiente na degradação de ZEA em até 64,6% em solução modelo em pH neutro. Segundo a fabricante da enzima, o pH ótimo da atividade é de 6,0 a 6,5. O estudo permitiu verificar que o pH deve ser observado durante a otimização de processos para degradação de ZEA por PO considerando que o estado de ionização das cadeias laterais de aminoácidos da enzima é responsável por modular a reação enzimática.

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

MA131

Estudos de pigmentação do bioplástico poli(3-hidroxiбутирато) sintetizado por *Ralstonia solanacearum* cepa RS para a fabricação de glitter biodegradável

Maria Luiza De Oliveira Zanini¹, Ortiz Hadassa Gabriela¹, Jackson Gabriel Morais Becker¹, Matheus Marques Torres¹, Camila Rios Piecha¹, Mariane Igansi Alves², Luciana Bicca Dode¹, Cristiane Raubach Ratmann³, Suelen Rodrigues Almeida³, Patrícia Diaz de Oliveira^{1,2}. ⁽¹⁾ CDTEC, Biotecnologia, UFPel, Pelotas, BR. ⁽²⁾ PPGCTA, Agronomia, UFPel, Pelotas, BR. ⁽³⁾ PPGEM, Engenharia de Materiais, UFPel, Pelotas, BR.

Estudos atuais mostram que o uso do glitter tradicional – que é formulado com alumínio, pigmentos sintéticos e microplásticos derivados de petróleo, como o PET – causa grande impacto ambiental, principalmente no ecossistema marinho, pois entra na cadeia trófica dos animais, além de acumular-se nos oceanos. Diante deste problema ambiental, faz-se necessário buscar alternativas para a fabricação do glitter que o tornem um material biodegradável. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi analisar a capacidade de pigmentação de filmes do bioplástico poli(3-hidroxiбутирато) [P(3HB)] produzido por *Ralstonia solanacearum* cepa RS utilizando pigmentos naturais. O P(3HB) foi sintetizado pela bactéria *Ralstonia solanacearum* cepa RS por fermentação submersa em biorreator de bancada. Os pigmentos naturais testados foram cúrcuma, urucum, páprica, spirulina, anil e pigmento pirolisado de farelo da casca de arroz. Para o processo de pigmentação, a mistura entre o P(3HB) e o pigmento foi solubilizada em clorofórmio na proporção de 0,3 g de P(3HB): 0,3 g de pigmento: 10 mL de clorofórmio, em banho-maria a 56°C por 15 minutos e os filmes foram obtidos pelo método de *casting*. No teste de impregnação dos pigmentos, os filmes coloridos foram embebidos em 10 mL de solução de suor artificial e mantidos a 32°C por 7 dias, em triplicata. Foram realizadas análises visuais quanto a pigmentação da solução de suor artificial a cada 24 h. O método de impregnação da pigmentação foi adequado e obteve-se os bioplásticos com diferentes colorações. No teste de impregnação dos pigmentos observou-se que não houve alteração da coloração da solução de suor artificial para os pigmentos cúrcuma, urucum, páprica, anil e pigmento pirolisado de farelo da casca de arroz após 24h, permanecendo até o final do teste. Para a spirulina observou-se coloração esverdeada na solução de suor após 24 h, entretanto não houve aumento da despigmentação com o passar do tempo, o que pode ser atribuído ao excesso de pigmento aplicado no bioplástico. A metodologia utilizada na pigmentação do bioplástico será empregada para o estudo da interação do bioplástico com as partículas de brilho para a produção do glitter.

MA132

Reaproveitamento de resíduos da agro-indústria na produção de celulases por *Streptomyces* sp. AM4-6

De Brito Pedro Henrique De Paula¹, Almeida Alana Pereira¹, Do Nascimento Rodrigo Pires¹. ⁽¹⁾ Departamento de Engenharia Bioquímica, Escola de Química, UFRJ, Rio de Janeiro, BR.

As actinobactérias são bactérias filamentosas Gram-positivas amplamente distribuídas no ambiente, apresentando grande diversidade taxonômica e bioquímica. São importantes fontes biotecnológicas para a produção de diversos compostos bioativos, como enzimas e antibióticos. Dentre as enzimas com relevância industrial, destacam-se as celulases, amilases e proteases. Assim, o presente trabalho objetivou avaliar a produção de celulases por fermentação em estado sólido (FES) e submersa (FS) utilizando bagaço de cana *in natura* e pré-tratado como principais fontes de carbono, pela linhagem *Streptomyces* sp. AM4-6. Na FES, foram utilizadas 2 razões sólido:líquido (1:2 e 1:3), enquanto que na FS foi utilizado 2,0 % (p/v) de bagaço de cana (*in natura* / pré-tratado) por 6 dias a 28°C. Em ambas as condições de fermentação foram utilizadas 1,0% (p/v) milhocina. Na FES, foi realizado um pré-inoculo (2,0x10⁸ UFC/mL) em frascos de Erlenmeyer (50mL) contendo meio de sais suplementado com milhocina e incubados a 28°C/200rpm/3 dias. Ao fim, todo o conteúdo foi transferido para frascos cônicos (250mL) contendo 5,0 g de biomassa vegetal, e em seguida, incubados a 28°C/7 dias. A extração da enzima foi realizada através da adição de 50mL de uma solução salina 0,8% (p/v) nos frascos cônicos, seguida de agitação (180rpm) por 20 minutos, centrifugação (2.560g / 10 min) e filtração em filtros de vidro sinterizado. O processo foi repetido por mais uma vez, totalizando 2 extrações. Na FS, frascos cônicos (125mL) contendo 25 mL de meio de sais foram inoculados com 25mL de suspensão de esporos padronizada e incubadas a 28°C/6 dias. Diariamente alíquotas foram retiradas para análises posteriores. As atividades enzimáticas de CMCase e FPase foram determinadas através da quantificação dos açúcares redutores pelo método DNS. Na FES, as maiores atividades enzimáticas (2,91 U.g⁻¹ para CMCase e 1,47 U.g⁻¹ para FPase) foram observadas para o bagaço de cana *in natura*, enquanto que para a FS, as maiores atividades foram 217,67 U.L⁻¹ para CMCase e 433,44 U.L⁻¹ para FPase. Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram o potencial biotecnológico da linhagem *Streptomyces* sp. AM4-6 na produção de celulases utilizando bagaço de cana como matéria-prima por FES e FS.

FAPERJ; CNPq.

MA133

Influence of the static magnetic field on the CO₂ biofixation and biomass of *Chlorella fusca*

Deamici Kricelle M¹, Santos Lucielen O¹, Costa Jorge Alberto V¹. ⁽¹⁾ College of Chemistry and Food Engineering, Federal University of Rio Grande, Rio Grande, BR.

Microalgae are able to capture atmospheric CO₂ and use this gas as a carbon source and thus help to reduce the impact on the environment. Besides of CO₂ biofixation, microalgae have attracted considerable attention because their biomass is a great source of lipids, carbohydrates, proteins, antioxidants and pigments. Currently, magnetic fields (MF) are being studied as potential sources to increase and change the production of microalgae biomass and/or some compounds of interest. In this context, the aim of this study was to evaluate if the MF of 30 mT applied for 1 h d⁻¹ will promote increase of the CO₂ biofixation by *Chlorella fusca* and biomass composition. The *C. fusca* was cultured with BG 11 medium in vertical tubular photobioreactors with 30 mT ferrite magnets on the outside of the same for 1 h d⁻¹, for 15 days. The experiments were carried out at 30°C, with light/dark photoperiod 12 h and illuminance of 60 μmol m⁻²s⁻¹. The growth parameters evaluated were maximum cell concentration, maximum yield, maximum specific growth rate and generation time. CO₂ biofixation was evaluated by the rate of CO₂ biofixation and the efficiency of CO₂ biofixation. The quality of biomass was evaluated by protein and carbohydrate content. MF application for 1 h increased the biomass concentration; it was obtained 1.31 g L⁻¹ and the yield was 30% higher than control culture (CC) (without MF application). The rate of CO₂ biofixation was also increased by MF action, 25 % higher (0.22 g L⁻¹ d⁻¹) than CC. In relation to quality of biomass, only the carbohydrate content was enhanced by MF application, it was obtained 23.4% and it represents an increase of 27% by comparison with CC. However, protein content was not modified by MF action. Considering the results obtained, the MF applied for 1 h d⁻¹ had a positive effect on the CO₂ biofixation and on carbohydrate content, since these parameters increased by MF action.

Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel – Brazil (CAPES).

MA134

Relevance of bacteriophage 933W in the development of the Hemolytic Uremic Syndrome (HUS)

Del Cogliano Manuel Eugenio¹, Alipio Pinto ², Jorge Goldstein², Elsa Zotta³, Federico Ochoa³, Fernández-Brando Romina Jimena⁴, Ghiringhelli Daniel Pablo⁵, Marina Palermo⁴, Bentancor Leticia Verónica. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencia y Tecnología, Laboratorio de Ingeniería Genética y Biología Celular y Molecular, Universidad Nacional de Quilmes, Quilmes, AR. ⁽²⁾ Laboratorio de Neurofisiopatología, Departamento de Fisiología, Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (IFIBIO Houssay-UBA/CONICET), Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, AR. ⁽³⁾ Laboratorio de Fisiopatogenia, Departamento de Fisiología, Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (IFIBIO Houssay-UBA/CONICET), Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, AR. ⁽⁴⁾ División Inmunología, Instituto de Medicina Experimental (IMEX) (CONICET), Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, AR. ⁽⁵⁾ Departamento de Ciencia y Tecnología, Laboratorio de Ingeniería Genética y Biología Celular y Molecular, Universidad Nacional de Quilmes, Quilmes, AR.

Hemolytic uremic syndrome (HUS) is associated to infections with Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). Shiga toxins (Stxs) are known as the principal responsible for HUS development. We previously report Stx2 expression by host cells *in vitro* and *in vivo*. Due to the genes encoding the two subunits of Stx are located in the genomes of bacteriophages, the aim of this study was to evaluate the role of bacteriophage induction in absence of *E. coli* O157:H7 genomic background. Mice were inoculated with a non-pathogenic *E. coli* strain carrying on the bacteriophage 933W as lysogen (C60:933W) and bacteriophage excision was induced by antibiotic. Mice died after 72 hours of infection developing pathogenic damage typically observed after STEC infection. Renal and intestinal damage was observed in mice infected with C60:993W. Moreover, markers of central nervous system (CNS) injury were observed, including aberrant immunolocalization of NeuN in neurons and increased expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP). Our results showed that bacteriophage 933W without *E. coli* O157:H7 background is capable to reproduce pathogenic damage induced by STEC infection. Also, we developed a novel mice model to evaluate therapeutics approaches focused on the bacteriophage as a new target.



MA135

Identificación de genes asociados a oxidación de hierro en *Sulfobacillus* sp. CBAR13

Karla Delgado¹, Mauricio Acosta¹, Cecilia Demergasso¹. ⁽¹⁾ Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL.

Entre los microorganismos predominantes en las pilas de biolixiviación se encuentran miembros del género *Sulfobacillus* sp.. Estas bacterias son capaces de crecer en un amplio rango de temperatura y pH utilizando como fuente de energía ion ferroso y compuestos reducidos de azufre. La oxidación de hierro es un metabolismo de interés debido su rol fundamental en procesos de biolixiviación. En estudios previos en bacterias del mismo género se han propuesto modelos para este metabolismo, sin embargo la función de la mayor parte de las proteínas participantes no ha sido validada en cultivos. El análisis de la transcripción de genes en distintas condiciones de cultivo permite avanzar en la descripción de los metabolismos. El objetivo de este estudio fue validar genes hipotéticamente asociados a la oxidación de hierro en orden a ser utilizados como indicadores de la actividad microbiana en el proceso de biolixiviación, información útil para la toma de decisiones operacionales. Los genes fueron seleccionados a partir de un estudio de secuenciación masiva de ARN obtenido a partir de cultivos puros de *Sulfobacillus* sp. CBAR13, complementando el estudio con información disponible en literatura sobre oxidación de hierro en acidófilos. Estos genes identificados fueron validados mediante técnicas de biología molecular en cultivos puros. Se utilizaron dos fuentes de energía diferentes para crecer la bacteria *Sulfobacillus* sp. CBAR13 y se extrajo el ARN en la fase exponencial de crecimiento en cada cultivo. La medición del nivel de transcripción de los genes seleccionados se realizó mediante PCR en tiempo real. Se estudiaron cuatro genes (citocromo bd ubiquinol oxidasa subunidad I, sulfocianina, monóxido de carbono deshidrogenasa y una proteína hipotética conservada de función desconocida) los que mostraron una sobreexpresión en el cultivo crecido con hierro. Tres de estos genes no han sido asociados previamente al metabolismo del hierro en esta bacteria. Este trabajo es el primero en establecer un vínculo entre la transcripción de estos genes y el metabolismo de hierro en *Sulfobacillus* sp. CBAR13.

Este trabajo se realizó gracias al proyecto FONDEF IT16M100045.

MA136

Producción de biopolímero por *Paenibacillus* sp. visualizando la adsorción de níquel

Dias Diogo Simas B¹, Taketani Natália Franco², Leite Selma Gomes², Cunha Cláudia Duarte¹. ⁽¹⁾ SETEL, CETEM, Centro de Tecnologia Mineral, Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ DEB, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR.

Una alternativa para los polímeros de origen petroquímico son las sustancias poliméricas extracelulares también conocidas como biopolímeros, los cuales son producidos por organismos vivos y presentan aplicaciones en diversos sectores industriales debido a propiedades como aumento de la viscosidad, aumento de la capacidad de almacenamiento de agua, emulsificación, gelificante y estabilizante. Para mantener la competitividad de la producción de biopolímeros es necesario el aumento de la productividad, minimización de costos de producción y desarrollo de nuevas aplicaciones biotecnológicas, como su uso para absorción de metales, para mejorar el interés industrial. En este contexto, los objetivos de este trabajo fueron aumentar la producción de biopolímero utilizando una bacteria del género *Paenibacillus* con un medio de producción simple y evaluar la capacidad del material producido para la absorción de níquel. La producción de biopolímero fue estudiada usando un diseño experimental factorial fraccionado, teniendo como variables el extracto de levadura y sacarosa, únicos componentes del medio. Los experimentos fueron realizados utilizando un inóculo de 10%, con incubación a 30°C y agitación de 150 rpm por 28h. Para recuperación del biopolímero fueron realizadas etapas de liberación de la fracción del material retenido en el interior de las células, concentración, precipitación con etanol, separación, secado a 60°C y cuantificación del biopolímero bruto. Para evaluación de la absorción fue construida una isoterma siguiendo el modelo de Langmuir, utilizando una concentración de 1 g/L del biopolímero en soluciones de 0.1, 1, 10, 50 e 100 ppm de Ni (cloruro de níquel). Luego de 24 horas en agitación a 150 rpm y 30°C fue realizada la ultrafiltración con membrana de 100 KDa y la concentración de Ni determinada por absorción atómica. Con relación a la producción de biopolímero, fue logrado un aumento de 100%, alcanzando valores de 142 g/L y mostrando la significancia de los componentes del medio. Para la absorción de Ni fue posible obtener un q_{max} de 70,11 mg/g (cantidad máxima de Ni absorbida por gramo de biopolímero). La producción de este biopolímero fue superior a valores de literatura y la capacidad de absorción de Ni presentó un valor relevante, mostrando potencial para su aplicación biotecnológica.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

MA137

Evaluación de la actividad aciltransferasa de un mutante del gen *lipA* (Sm_LipA_M1) que codifica una variable soluble de la lipasa de *Serratia marcescens*, concebida mediante diseño racional

Jenny Díaz¹, Jorge Hernández¹, Oriana Serna¹, Jefferson Barraza¹. ⁽¹⁾ Centro Industrial y Biología Molecular (CINBIN), Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, CO.

La lipasa LipA de *Serratia marcescens* es una triacilglicerol acilhidrolasa con un fuerte potencial en la producción de biodiésel. Sin embargo, esta produce cuerpos de inclusión al sobreexpresarla en *Escherichia coli*. En este trabajo se diseñó un mutante soluble, mediante la herramienta bioinformática CamSol. Basado en el código PDB: 2QUA, se construyó el mutante (Sm_LipA_M1) que contiene seis sustituciones por residuos polares (I56E, L59E, T119E, I310E, W462E y L463E) y una delección del dominio β -sandwich Δ 133 en la región C- terminal. Posteriormente, se clonó el gen sintético LipA en el vector pET-22b y se indujo la expresión con 1mM IPTG, con el fin de evaluar la solubilidad y la actividad aciltransferasa al sobreexpresarlo en *E. coli* BL21 (DE3). Pruebas de actividad hidrolasa y la visualización en geles SDS-PAGE mostraron que Sm_LipA_M1 se restringió a la fracción subcelular soluble del periplasma, a diferencia de la sobreexpresión del genotipo salvaje, que se expresa en forma insoluble en la fracción citoplasmática bajo las mismas condiciones. A partir de extractos crudos del periplasma se determinarán las mejores condiciones de transesterificación por un diseño de superficie de respuesta, usando aceite de palma africana crudo y etanol como aceptor acilo. Si bien los resultados obtenidos son preliminares, indican aumento de la solubilidad de LipA. En consecuencia, Sm_LipA_M1 tiene potencial para llevar a cabo reacciones de transesterificación, requeridas para maximizar la producción de biodiésel.

Vicerrectoría de Investigación y Extensión- UIS.

MA138

Bacterias provenientes de sistemas de biopurificación: una herramienta para la degradación del plaguicida Iprodiona

Donoso-Piñol Pamela P¹, Bárbara Leiva N¹, Lamilla Claudio A¹, M. Cristina Diez¹. ⁽¹⁾ Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias - CIBAMA-BIOREN, Universidad de La Frontera, Temuco, CL.

Chile posee una alta producción de recursos agrícolas, lo cual ha llevado al uso extensivo de plaguicidas sin control. Los plaguicidas son compuestos sintetizados químicamente, que debido al mal uso y su persistencia, ponen en riesgo la salud humana y el ambiente. Iprodiona (IP) un fungicida, perteneciente al grupo de las dicarboximidias, es utilizada en post cosecha para el control de diversos hongos fitopatógenos y nematodos. La IP es tóxica para el medioambiente y los seres humanos. Una forma de eliminar la IP y otros plaguicidas presentes en aguas residuales es la utilización de sistemas de biopurificación (SBP), una tecnología cuyo uso promueve la reducción de la contaminación puntual por plaguicidas, mediante la degradación microbiológica de estos compuestos. El objetivo de este trabajo fue aislar y caracterizar bacterias degradadoras de IP provenientes desde un SBP contaminado periódicamente con una mezcla de plaguicidas. El SBP se encuentra ubicado en el Campo Experimental Maquehue, perteneciente a la Universidad de La Frontera. Los aislamientos se realizaron tomando 0,1 g de biomezcla, los cuales se resuspendieron en 0,9 ml de solución salina estéril, sembrando en dilución seriada de 1×10^{-1} hasta 1×10^{-4} en los medios de cultivos LB, ISP2 y R2A a 28°C por 7 días. A cada aislado se le determinó la morfología macro y microscópica. La caracterización bioquímica se realizó por medio de API[®]ZYM (Biomerieux). La degradación de IP se realizó en el caldo de cultivo MSM suplementado con 50 mg·L⁻¹ del plaguicida comercial, midiendo periódicamente la concentración residual por HPLC hasta las 240 h. Como resultado se logró el aislamiento de 11 aislados bacterianos diferentes, morfológicamente predominando bacilos gram positivos. El API[®]ZYM mostró diferencias enzimáticas donde se destacó las enzimas leucina arilamidasa y fosfatasa ácida en todos los aislados. En cuanto a la actividad degradadora destacan tres aislados con un máximo de 95% de degradación a las 72h de evaluación. En conclusión, los aislados bacterianos en este SBP poseen la capacidad de degradar IP, esto permitiría la selección de aislados con alta capacidad de degradación para su identificación molecular y posterior utilización como inóculos en otros SBP potenciando su funcionamiento general.

Agradecimientos: FONDECYT 1161481, CONICYT/FONDAP/15130015, CRHIAM, DIUFRO-2018.

MA139

Identification of genes involved in catabolic pathways of hydrocarbons in *Pseudomonas stutzeri* DN36

Flavia Dorochesi¹, Valentina Méndez, Roberto Duran, Michael Seeger. ⁽¹⁾Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL.

Petroleum hydrocarbon pollution of soils is a worldwide problem. Bioremediation strategies are more cost-effective and environmentally sustainable than physical-chemical processes. Bioremediation is based on microorganisms capable to remove pollutants. *Pseudomonas stutzeri* DN36 is a hydrocarbonoclastic bacterium isolated from a hydrocarbon-polluted soils from the Valparaíso Region. Strain DN36 has been applied in bioaugmentation processes for the remediation of hydrocarbons-polluted soils at pilot scale. The objective of this report is to characterize the hydrocarbon catabolic pathways in the *P. stutzeri* DN36 genome. Strain DN36 is able to grow on naphthalene, fluorene and phenanthrene. The genome of *P. stutzeri* DN36 was completely sequenced using SMRT sequencing technique (Pacific Biosciences). The genome is organized in one circular chromosome of 4,2 Mb with a 64,3% G+C content and possesses 4,022 coding sequences. The identification of catabolic genes was carried out through homology-based analysis using Blast tool. A high number of genes involved in the metabolism of aromatic hydrocarbons were manually annotated. Genes involved in the catabolism of anthranilate, naphthalene, biphenyl, benzoate and phenol were identified. Due to the key role of oxygenases in the degradation of hydrocarbons, alignment of the oxygenases present in the genome with enzymes involved in catabolic routes of aromatic hydrocarbons was performed. Genes encoding oxygenases involved in the degradation of naphthalene, anthranilate, biphenyl and phenol were identified. The classification of the alpha subunits of oxygenases identified in the genome of *P. stutzeri* DN36 was carried out. The genomic context of oxygenases was examined. The results indicate that *P. stutzeri* DN36 harbors a wide range of genes involved in the degradation of aromatic hydrocarbons and organization of catabolic genes are conserved among bacteria from *Pseudomonas* genus.

Beca Doctorado Nacional CONICYT 2017, Beca magíster Nacional CONICYT 2016-22162307 (RD), Proyecto FONDECYT 1151174 (MS), Proyecto Anillo GAMBIO ACT172128 (MS)

MA140

Cinética de degradación de la especie tiocianato mediada por bacterias autóctonas del área de influencia de la minera Veladero, San Juan, Argentina

Yohana Y. Dutra Alcoba¹, Vullo Diana L.¹, Ferreira María L.¹. ⁽¹⁾ Área de Química Ambiental, Instituto de Ciencias (ICI), Universidad Nacional de General Sarmiento, Los Polvorines, Bs. As., AR.

El cianuro (CN^-) es utilizado para solubilizar metales de interés comercial en procesos hidrometalúrgicos. La empresa minera instalada en Veladero, San Juan (Argentina), utiliza este método como proceso de extracción de oro, plata y cobre. Como producto de la interacción de CN^- con sulfuros presentes en los minerales se genera tiocianato (SCN^-), el cual puede afectar el desarrollo de especies acuáticas, incluso en bajas concentraciones de exposición crónica. Los objetivos del trabajo fueron identificar microorganismos autóctonos aislados de áreas cercanas a Veladero con mayor tolerancia a SCN^- y con requerimientos nutritivos mínimos, obtener la concentración mínima inhibitoria (CMI) de tiocianato y estudiar la cinética degradativa del SCN^- mediada por estas bacterias. La identificación de las cepas con mayor tolerancia a SCN^- se realizó mediante la extracción de ADN y posterior secuenciación del gen 16S-rARN. La CMI se determinó en medio líquido M9- SCN^- (g/L: 6 Na_2HPO_4 , 3 KH_2PO_4 , 1 NaCl, 0,01 CaCl_2 , 1,06 MgCl_2 , 0,07 FeCl_3 , 0,0017 MnCl_2 , 100 glucosa, 2- 40 KSCN), luego de 4 días a 20°C y 120 rpm. Se estudió la cinética degradativa a partir de M9-2,5 g/L KSCN. El crecimiento bacteriano se evaluó midiendo $\text{DO}_{600\text{nm}}$, la concentración de SCN^- remanente se cuantificó espectrofotométricamente a 466 nm por la formación del complejo $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ y se estudiaron los posibles productos de degradación NH_4^+ y SO_4^{2-} . Las bacterias fueron identificadas como *Pseudomonas mandelii* M1 y *Pseudomonas veronii* M3 con una CMI de 2,24 g/L y 14 g/L de SCN^- respectivamente. Al evaluar la concentración remanente de SCN^- en cultivos en lote, se observó un decaimiento abrupto en plena fase exponencial a las 46h para *P. mandelii* M1 con un 92% de degradación luego de las 71h. Para *P. veronii* M3 se detectó una disminución de SCN^- más gradual a las 31h y un 96% de degradación luego de 65h evidenciando el consumo de SCN^- como nutriente esencial en ambos casos. Los requerimientos mínimos de nutrientes, acompañados del rápido consumo de tiocianato harían de *Pseudomonas mandelii* M1 y *Pseudomonas veronii* M3 potenciales herramientas para la biorremediación de suelo y aguas en emprendimientos mineros con procesos de lixiviación con CN^- .

MA141

Influencia de la atrazina en el crecimiento micelial y producción de lacasa en hongos del Parque Nacional Iguazú, Paraná, Brasil

Esparza Samantha Beatríz N¹, Marcela Boroski², Rafaella Costa Bonugli-Santos³. ⁽¹⁾ Laboratorio Multidisciplinario del Jardín Universitario, Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y la Naturaleza, Universidad Federal de la Integración Latinoamericana - UNILA, Foz do Iguazu, BR. ⁽²⁾ Laboratorio de Cromatografía, Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y la Naturaleza, Universidad Federal de la Integración Latinoamericana- UNILA, Foz do Iguazu, BR. ⁽³⁾ Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y la Naturaleza, Universidad Federal de la Integración Latinoamericana- UNILA, Foz do Iguazu, BR.

La atrazina es un herbicida ampliamente utilizado en la agricultura para el control de malezas. Su aplicación indiscriminada, moderada persistencia ambiental y alta toxicidad, justifican la búsqueda de linajes microbianos para la biorremediación de ambientes contaminados por este agrotóxico. A pesar de que el Parque Nacional Iguazú (PNI), el mayor remanente del Bosque Atlántico, limita con áreas de uso intensivo de agrotóxicos y que las características de sus suelos pueden haber seleccionado microorganismos con potencial de biodegradación diferentes a los ya descritos, la diversidad microbiana del PNI es prácticamente desconocida. Así, este trabajo tiene como objetivo evaluar el potencial de degradación de atrazina por hongos de suelo del PNI, considerando la influencia del herbicida en su crecimiento micelial y producción de lacasa, para definir un método de selección eficiente. Los hongos crecieron en medio de cultivo MA2 sin y con suministro de atrazina (10 mg. L⁻¹). El crecimiento micelial fue determinado por peso seco, la actividad de la lacasa usando ABTS y el potencial de degradación medido por cromatografía GC-MS. En los tres tratamientos -sin ATZ (T1), con ATZ esterilizada en autoclave (T2) y con ATZ sin esterilizar (T3)-, la masa micelial de los hongos GW y BO no difiere; sin embargo, ambos producen el metabolito desetilatrazina (DEA) y la actividad enzimática de GW (T1=0,005; T2=0,046; T3=0,025) fue mayor en presencia de atrazina para todos los ensayos. Para GW posiblemente la atrazina induce la expresión de lacasa y, aunque la producción enzimática en presencia de atrazina esterilizada y sin esterilizar varió, se determinó que la esterilización no afecta a la degradación de atrazina, no interfiriendo en el proceso. Además, no existe relación entre la biomasa, formación de DEA y producción enzimática, resultado importante porque muchos trabajos usan la biomasa como método de selección de potenciales degradadores. En conclusión, GW y BO toleran y degradan la atrazina produciendo DEA, mientras que la producción de lacasa es mayor en respuesta a la atrazina. Investigaciones posteriores permitirán revelar el potencial de biodegradación de otros hongos del PNI en base a este experimento y evaluar el potencial de producción de enzimas ligninolíticas por BO.

Apoyo financiero: UNILA.

MA142

Estabilização da atividade da tanase de *Aspergillus fumigatus* CAS21 por secagem em spray dryer e caracterização dos extratos secos com diferentes adjuvantes

Cavalcanti Rayza Morganna F¹, Martinez Marcelo Luís L², Oliveira Wanderley P², Guimarães Luís Henrique S³.

⁽¹⁾ Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Ribeirão Preto, BR.

⁽²⁾ Laboratório de P & D em Processos Farmacêuticos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, BR. ⁽³⁾ Microbiologia e Biologia Celular, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, BR.

A tanase (tanino acil hidrolase - EC 3.1.1.20) é uma enzima que atua na hidrólise de taninos hidrolisáveis, liberando glicose e ácido gálico. Apesar do potencial de uso nas indústrias química, alimentícia e farmacêutica, seu uso comercial é limitado devido à perda da estabilidade enzimática no decorrer do processamento e armazenamento. A secagem por *spray drying* permite a obtenção de enzimas secas com maior estabilidade e durabilidade, baixo risco de contaminação e facilidade no manuseio. O presente estudo teve por objetivo avaliar a secagem em *spray dryer* da tanase de *Aspergillus fumigatus* CAS21 na presença de diferentes adjuvantes e determinar propriedades físico-químicas do produto seco. O extrato bruto obtido do cultivo de *A. fumigatus* CAS21 em meio mineral com 2% (m/v) de ácido tânico a 37°C, por 24h a 120rpm, foi submetido à secagem no *spray dryer* SD05 (Lab-Plant Reino Unido) na presença dos adjuvantes (10% m/v) lactose, maltodextrina, amido Capsul®, β-ciclodextrina e farinha de soja. Os produtos da secagem foram caracterizados pelo teor de umidade, atividade de água, atividade e estabilidade enzimática. O maior rendimento de secagem (53,5%) foi obtido quando usou o adjuvante lactose, seguido pelo uso do amido modificado (Capsul®-32,3%). O teor de umidade foi menor na presença de lactose (5,6%) e farinha de soja (5,8%), enquanto que as atividades de água variaram entre 0,249 e 0,361, valores adequados para garantia da qualidade físico-química e microbiológica do produto. As atividades enzimáticas foram preservadas durante a secagem, independentemente do tipo de adjuvante empregado. O produto obtido com β-ciclodextrina exibiu atividade enzimática (28,67 U/mL) em torno de 24,6% superior à do extrato bruto (23,01 U/mL). Com este adjuvante a tanase apresentou temperatura ótima na faixa de 40°C a 60°C e estabilidade térmica a 30°C e 40°C por 120 minutos. O pH ótimo da enzima seca foi entre 5,0 e 6,0, mantendo-se estável por 120 minutos nesses pHs. A atividade enzimática dos extratos secos foi preservada após 120 dias de armazenagem a 4°C. As características físico-químicas da enzima seca no *spray dryer* foram adequadas para manter a atividade enzimática por longo período de armazenamento, com potencial para futuras aplicações industriais.

FAPESP e ao CNPq.

MA143

Expresión heteróloga y caracterización de una endoxilanasas con baja termoestabilidad del hongo filamentoso *Cladosporium* sp. de origen antártico.

Carlos Gil-Durán¹, María Cristina Ravanal², Inmaculada Vaca³, Renato Chávez¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽³⁾ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

El xilano es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa y su degradación la realizan enzimas denominadas colectivamente xilanasas. Actualmente, se han purificado y caracterizado varias xilanasas de hongos mesófilos. Por el contrario, el conocimiento sobre xilanasas de hongos de ambientes fríos, en especial de la Antártica, es escaso. Previamente, nuestro grupo aisló un hongo filamentoso del género *Cladosporium* desde una muestra de una esponja marina Antártica. Este hongo se destacó por su actividad xilanásica extracelular a bajas temperaturas. Por tanto, el objetivo del presente trabajo fue expresar heterológicamente una endoxilanasas de *Cladosporium* sp., purificarla, y caracterizarla bioquímicamente. Mediante técnicas basadas en PCR, se obtuvo el cDNA de una endoxilanasas de *Cladosporium* sp. Este cDNA contiene un marco abierto de lectura de 1.047 pares de bases que codifica para una proteína de 348 aminoácidos con similitud moderada (60%) a otras glicosil hidrolasas de hongos de ambientes fríos. El cDNA obtenido se clonó en el vector de expresión pPICZ α y se expresó en *Pichia pastoris*. La enzima recombinante, denominada XynA, fue purificada a homogeneidad y caracterizada bioquímicamente. XynA posee una temperatura óptima de 50°C y pH óptimo 6,0. La enzima posee alta actividad sobre arabinoxilanos, y menor actividad sobre glucuronoxilanos. Desde esos sustratos, XynA libera oligosacáridos pero no xilosa, modo de acción clásico para las endoxilanasas. Por otro lado, XynA presentó una muy baja termoestabilidad, ya que después de 20 minutos a 40°C, pierde el 100% de su actividad. Según los datos actuales que existen en la literatura, XynA es la endoxilanasas de hongo filamentoso más termolábil descrita hasta ahora. Para explorar posibles causas estructurales de esta baja termoestabilidad, se realizó un modelo por homología de la proteína. La proteína tiene estructura tipo barril $\alpha 8/\beta 8$ y presenta un extremo N-terminal de mayor longitud, con características de un péptido intrínsecamente desordenado, el cual postulamos que es el responsable de la baja termoestabilidad de la enzima. Este es uno de los trabajos pioneros en la caracterización de endoxilanasas procedente de hongos de ambientes antárticos, contribuyendo a nuestro conocimiento sobre estas enzimas.

Proyecto INACH RG_03-14, DICYT-USACH, CONICYT-PFCHA/Doctorado Nacional/2014-63140056.

MA144

Antibacterial potential of *Caryocar brasiliense* peel extract

Moraes Francielle Costa¹, Ferreira Joubertth Vieira², Martins Zohan Katryell Sales³, Ferreira Marcos Guimarães², Coelho Eduardo Silva², Camara Marcos Bispo Pinheiro⁴, Crispim Samara Cinthya Lucena⁴, Rangel José Hilton Gomes⁴, Camelo Nivânia Lisboa⁵, Rosa Fernanda Costa¹. ⁽¹⁾ Department of Biomedicine and Nursing, Faculdade Estácio de São Luís, São Luís, BR. ⁽²⁾ Department of Biomedicine, Faculdade Estácio de São Luís, São Luís, BR. ⁽³⁾ Department of Biomedicine, Faculdade Estácio de São Luís, São Luís, BR. ⁽⁴⁾ Chemistry Department, Federal Institute of Maranhão, São Luís, BR. ⁽⁵⁾ Department of Nursing, Faculdade Estácio de São Luís, São Luís, BR.

The search for new alternatives for the treatment of infections caused by resistant bacteria is increasingly intense, resorting to the numerous plant species that may contain bioactive compounds with an antimicrobial effect. Among the known species, stands out the *Caryocar brasiliense*, known as pequi. Although the therapeutic knowledge of pequi and its derivatives is widespread among the population, there are still few studies demonstrating its scientifically antibacterial action. Therefore, the present study aimed to verify the extract's antibacterial potential of *Caryocar brasiliense* peel. The research was carried out using a hydroalcoholic extract (70%) of *Caryocar brasiliense* peel with a concentration of 26 µg/mL, given by DAQ -IFMA. The antibacterial potential was investigated using two methodologies, Agar Diffusion and Broth Microdilution in order to verify the presence or absence of inhibition halo and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bacterial concentration (MBC), respectively, against the following species: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603). The assays were performed in duplicate for both methodologies and three diametrically opposite measurements were obtained from the halos formed to calculate the mean described in the results. Considering the techniques employed in the research, it was observed that all strains evaluated were sensitive to the extract in question. The halos obtained in the Agar Diffusion test ranged from 10 to 15 mm, with the highest halo to *S. aureus* 15.16 mm, for *P. aeruginosa*, 14.66 mm, 10.66 mm for *E. coli* and 7.66 mm for *K. pneumoniae*. In the Broth Microdilution, it was observed that before *E. coli* and *K. pneumoniae*, the MIC was the same and MBC: 32.5 µg/mL. The lowest MIC values for *S. aureus* and *P. aeruginosa* were 16.25 µg/mL, although 32.5 µg/mL and 65 µg/mL, respectively, were required to present the bactericidal effect against these strains. It is concluded that the extract evaluated has antibacterial potential and can be a viable, sustainable and accessible alternative for use in the treatment of bacterial infections.

MA145

Caracterización de la biosíntesis y acumulación de luteína en la microalga MCH-35 aislada en el desierto costero de Antofagasta en condiciones indoor

Daniela Dominique Diaz¹, Carlos Riquelme². ⁽¹⁾ Laboratorio de Ecología Microbiana, Centro de Bioinnovación, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta. ⁽²⁾ Centro de Bioinnovación, Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL.

El acelerado aumento y envejecimiento de la población así como las enfermedades asociadas, se han convertido en una creciente preocupación en el mundo actual. Existiendo una demanda por el uso de alimentos funcionales que contengan compuestos nutraceuticos a partir de fuentes naturales y que además proporcionen beneficios importantes para la salud. Frente a esto, se han desarrollado numerosas investigaciones orientadas a la búsqueda de productos bioquímicos valiosos a partir de microorganismos fotosintéticos como las microalgas. Las ventajas del uso de las microalgas para estos fines biotecnológicos se deben principalmente a que son una fuente biológica barata, de alta tasa de crecimiento y disponible en toda época del año. Los pigmentos carotenoides son tetraterpenoides presentes ampliamente en organismos vivos. La luteína, es un oxicarotenoide que posee beneficios farmacéuticos sobre la salud humana debido a su alta capacidad antioxidante y juega además un papel crítico en la mantención normal de la visión. Al respecto, en el Centro de Bioinnovación de la Universidad de Antofagasta hemos aislado previamente una microalga clorófito MCH-35 endémica del desierto costero, de característica dulceacuícola pero adaptada a crecer en agua de mar, pigmentada bajo condiciones de estrés y productora de luteína. Considerando estos antecedentes, en este trabajo se realizaron: i) Análisis de identificación de la microalga MCH-35 aislada en el desierto costero de Antofagasta, ii) Estudio de las características y estado fotosintético de la microalga MCH-35 expuesta a tres condiciones de irradiancia (83, 285 y 810 $\mu\text{mol fotón}/\text{m}^2\text{s}$) en régimen continuo, iii) Identificación y caracterizar del perfil y producción de luteína por Cromatografía Líquida de alto rendimiento y espectrometría de masa (UHPLC-Q/Orbitrap/MS/MS), iv) Análisis de la actividad antioxidante de MCH-35 con el método DPPH a los días 0,6,8 y 10 de la curva de crecimiento expuesta a tres condiciones de irradiancia en régimen continuo. Nuestros resultados nos permiten confirmar que MCH-35 es una buena fuente de luteína alcanzando valores mayores a 0.6% (peso seco), posee actividad antioxidante y su producción es incrementada en la condición de menor irradiancia.

Proyecto Fondef ID14I10110.

MA146

Análisis transcriptómico de genes involucrados en las rutas de degradación de fenol en *Scedosporium apiospermum*

Laura Díaz², Martha Vives¹. ⁽¹⁾ Ciencias, Ciencias Biológicas, Universidad de Los Andes, Bogotá, CO. ⁽²⁾ Departamento de Ciencias Biológicas, Ciencias, Universidad de Los Andes.

S. apiospermum es un hongo filamentoso con la capacidad de degradar hidrocarburos, entre ellos el fenol. En 1998 Claußen y Schmidt propusieron dos rutas iniciales (periféricas) de degradación de fenol en el hongo donde principalmente actúan enzimas de tipo hidroxilasas y dioxigenasas. En el 2017 se reportó el genoma de *S. apiospermum* HDO1 y se lograron anotar genes relacionados con la fenol hidroxilasa y catecol 1,2-dioxigenasa. Para complementar la anotación hecha, este proyecto tuvo como objetivo principal identificar cambios transcripcionales de los genes que codifican para las enzimas involucradas en la degradación de fenol en *S. apiospermum* HDO1, con el fin de validar las rutas propuestas previamente y anotar otros genes relacionados a ellas. El diseño experimental consistió en el crecimiento del hongo en dos tratamientos; el primero, en presencia de fenol y el segundo en presencia de glucosa (control). Cada tratamiento se realizó con tres réplicas biológicas (seis muestras en total). El micelio crecido durante cuatro días en Medio Mínimo de Sales fue colectado y enviado para la extracción del RNA y su posterior secuenciación con RNA-seq, en la plataforma Illumina Hiseq-4000, librerías paired-end. Se realizó el análisis de expresión diferencial entre las dos condiciones con los programas HISAT2 y DESeq2 principalmente. La validación de los resultados se realizó cuantificando la expresión génica con Q-PCR. En cuanto a los resultados, la extracción de RNA fue óptima, el número de integridad del RNA (RIN) osciló entre 9.4 y 10, lo que aseguró una integridad del RNA adecuada para secuenciar. De la secuenciación se obtuvo un total de 459,162,847 lecturas (para las seis muestras), con un puntaje de calidad promedio de 38.9, lo que indicó una probabilidad de error baja en asignar incorrectamente una base en la secuenciación. Se lograron anotar genes diferencialmente expresados asociados a las enzimas fenol hidroxilasa; hidroquinona monooxigenasa; 1,2,4-trihidroxibenceno 1,2-dioxigenasa; catecol 1,2-dioxigenasa y meliacetato reductasa. Los resultados de este trabajo aportan información valiosa para la comprensión de los mecanismos implicados en la tolerancia y adaptación del hongo a contaminantes de hidrocarburos y permitirán evaluar el riesgo de la utilización de este microorganismo en escalas mayores.

Facultad de Ciencias Universidad de los Andes.

MA147

Optimization of culture medium variables using statistical designs for L-asparaginase production in submerged fermentation with wheat bran by a fungus isolated from Cerrado

Cardoso Samuel L¹, Souza Paula M¹, Martins Diegue H N¹, Freitas Marcela M¹, Eivaldo Ximenes², Adalberto Pessoa³, Magalhães Pérola O¹. ⁽¹⁾ Pharmacy, University of Brasília, Brasília, BR. ⁽²⁾ Biology Cellular, University of Brasília, Brasília, BR. ⁽³⁾ Pharmacy, University of São Paulo, São Paulo, BR.

L-asparaginase is an enzyme that catalyzes the hydrolysis reaction of L-asparagine in ammonium and aspartic acid. Asparaginase is indicated for the treatment of acute lymphoblastic leukemia. The use of biorefinery is well regarded as the best option to transform different wastes and complex systems into products with high added value. This work aims the optimization of L-asparaginase production using a wheat bran residue. A Plackett-Burman design was used to determine the effects of 11 variables in the production of L-asparaginase by fungus encoded 2DSST1 followed by a 24 full factorial design. The variables evaluated were the L-asparagine (X1), L-proline (X2), the wheat bran (X3), potato dextrose broth (X4), ammonium sulphate (X5), the temperature of incubation (X6), the time of fermentation (X7), the initial pH of the culture medium (X8), yeast extract (X9), sucrose (X10) and the glucose concentration (X11). Asparaginase assay was performed for the formation of β -aspartyl hydroxamate. The significant positive variables at a 95% confidence level (L-asparagine, L-proline, potato dextrose broth and sucrose) were evaluated at 2 levels (+1 and -1) with triplicates at the central point. 64 runs were performed and the maximum activity (2.33 UI/mL) was found at the factorial design central point. These results showed a low cost culture medium able to produce a therapeutic enzyme with possible applications in the food industry.

Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES); National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF) for financial support.



MA148

Bioleaching of cobalt from arsenides by extremely acidophilic iron oxidizers

Fabian Giebner¹, Laura Kaden¹, Oliver Wiche¹, Simone Schopf¹, **Michael Schlömann**¹. ⁽¹⁾ Institute for Biosciences, Chemistry and Physics, TU Bergakademie Freiberg, Freiberg, DE.

Acidophilic iron-oxidizing bacteria are known to be important for the bioleaching of sulfidic minerals which by Fe^{3+} are oxidized to water-soluble sulfates. The task of the iron oxidizers is to regenerate the Fe^{3+} by oxidation of the Fe^{2+} . Metals in ores may also occur in arsenic sulfides, or even in arsenides. Some arsenides contain the strategically relevant cobalt and occur in Europe in so-called BiCoNi formations. We therefore investigated whether a cobalt arsenide may be subject to bioleaching by an iron-oxidizing microbial community. The iron-oxidizing microbial community, designated BiCoNi4, was obtained by subcultivating in the presence of 4% of BiCoNi ore from Türk Schacht (close to Aue, Germany) a mixture of several iron-oxidizing cultures. Analyses of the 16 S rRNA gene showed that this culture largely consisted of *Acidithiobacillus* spp. The arsenide sample originating from Irthem (Morocco) was ground, gently washed with HCl, and was added at 1% solid load to cultures that had been growing with Fe^{2+} . In various parallel batches the cobalt yields were between 35% and 82% in 10 days, while in the controls and also with the pure cultures of *Acidithiobacillus ferrooxidans* DSM14882 and *Leptospirillum ferriphilum* DSM14647 the yields were below 12%. Interestingly, a leaching with 2% pulp density resulted in a Co concentration similar to the average of 1% pulp density. In combination with a rapid drop in the redox potential of the pre-grown cultures upon arsenide addition, it is hypothesised, that under the given conditions the Fe^{2+} reoxidation is rate-limiting. In order to enhance the bacterial iron oxidation, citric acid was supplemented, leading to 92% Co yield.

The work was supported by the Biohydrometallurgical Center Freiberg of the Dr.-Erich-Krüger foundation. We thank Dr. Jens Kirste and Adalbert Geiger of Sachsenerz for a sample of the BiCoNi ore.

MA149

Cultivo *in situ* revela una gran porción de bacterias beneficiosas para las plantas en la rizósfera de trigo (*Triticum aestivum*) cultivadas en un Andisol chileno

Jacqueline Acuña¹, Luis Marileo¹, Maria De La Luz Mora¹, Epstein Slava², Milko Jorquera¹. ⁽¹⁾ Ciencias Químicas de Recursos Naturales, Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, CL. ⁽²⁾ College of Science, Northeastern University, Boston, US.

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) son importantes en el crecimiento y salud de las plantas. Las PGPR y sus compuestos bioactivos han sido ampliamente estudiados por su potencial biotecnológico en la agricultura. Sin embargo, el aislamiento de PGPR se basa típicamente en el cultivo estándar que ha conducido a la obtención de una baja porción ($\leq 0.1\%$) de las rizobacterias presentes en la naturaleza. Este es un factor importante a considerar debido a que el aislamiento repetido de las mismas bacterias cultivables produce una diversidad limitada y una baja probabilidad de obtener nuevos compuestos bioactivos. En los últimos años, los enfoques de cultivo *in situ* (como iChip), han permitido el aislamiento y el estudio de una diversidad más amplia de bacterias ambientales. El objetivo de este estudio fue elaborar y utilizar una cámara de micropocillos (MC) basado en iChip para el aislamiento *in situ* de bacterias de la rizósfera de trigo. Muestras de 1 g de suelo rizosférico fueron diluidos con agua destilada (10⁻³) y mezcladas con agar (1,5%). La dilución de suelo rizosférico fue inoculada al interior del MC, dispuestas en la rizósfera de plántulas de trigo e incubadas durante 2 meses en condiciones de invernadero. El MC fue desmontado cada semana, los pocillos fueron removidos aleatoriamente y transferidos a placas de agar NM-1 y LB. Un total de 206 aislados se recuperaron desde el MC y fueron caracterizados mediante el gen 16S rRNA. Los phyla más dominantes fueron Proteobacteria (70.4%), Firmicutes (24%), Actinobacteria (4%) y Bacteroidetes (1.5%). A nivel de género, la mayoría de los aislados fueron *Bacillus* y *Pseudomonas* (45) seguidos por *Stenotrophomonas* (35), *Delftia* (15), mientras que cepas únicas de los géneros *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Bosea*, *Citrobacter*, *Flavobacterium*, *Lelliottia*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Variovorax* y *Xanthomonas* fueron recuperados. Basados en BLAST, el 82% de los aislamientos (169) no mostraron similitud significativa con cepas patogénicas de humanos y plantas; 40% y 42% de los aislados mostraron una gran similitud con PGPR y bacterias asociadas a ciclos biogeoquímicos, respectivamente. El uso del cultivo *in situ* es una estrategia atractiva para aislar una mayor diversidad de potenciales PGPR para la agricultura.

FONDECYT Iniciación N° 11160112 y FONDECYT Regular N° 1160302.



MA150

Efecto de ocho inhibidores de la metanogénesis ruminal sobre la fermentación y el crecimiento microbiano *in vitro*.

Fernanda Aedo¹, Ungerfeld Emilio M.¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Fermentación, Centro Regional Carillanca, Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA, Temuco, CL.

Existe interés en la inhibición de metanogénesis en el rumen, debido a su impacto ambiental y productivo. El objetivo de este estudio fue investigar los efectos de la inhibición de metanogénesis *in vitro* sobre el crecimiento microbiano. Se utilizaron ocho aditivos inhibidores de metanogénesis: 2-bromoetanosulfonato (BES), antraquinona (AQ), bromotriclorometano (BCM), cloroformo (CL), ácido propiólico (PA), etil-2-butinoato (E2B), aceite de lino (AL) y nitrato de sodio (NtS), además de un tratamiento control (C). Se realizaron incubaciones a 39°C por 72 horas en sistemas de fermentación discontinuos con contenido ruminal proveniente de dos vacas lecheras no lactantes y alimentadas con heno. Bajo CO₂, se añadió un 0,1% (v/v) de inóculo mixto a 130 mL de buffer y 800 mg de celulosa. AQ, PA y NtS resultaron en menor producción de gas que los demás tratamientos. Con excepción de AL, los aditivos inhibieron la metanogénesis. La AQ fue el único inhibidor que presentó menor potencial redox y mayor acumulación de hidrógeno que C. Los tratamientos de AQ, NtS y PA tuvieron menor concentración de ácidos grasos volátiles totales y mayor pH final que C. La proporción molar de acetato fue mayor en los tratamientos con PA y NtS que en C. Los tratamientos con E2B, AQ, NtS y PA tuvieron menor proporción molar de propionato comparados al C. Ningún tratamiento presentó diferencias con el C en proporción molar de butirato, concentración de amonio, y producción de nitrógeno y materia orgánica microbiana. A pesar de que la inhibición de la metanogénesis fue en general efectiva, no hubo consecuencias sobre el crecimiento microbiano bajo las condiciones de este experimento.

Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT), proyecto Fondecyt 1160764.



MA151

Análisis metagenómico de la diversidad bacteriana asociada a las esponjas *Smenospongia aurea* y *Scopalina ruetzleri*, aisladas del Golfo de México

Jose Felix Aguirre Garrido¹, Marcos López Pérez³, Hugo César Ramírez Saad², Humberto García Arellano³, Elibeth Anel González Martínez³, Luis Mario Hernández Soto³. ⁽¹⁾ Ciencias Ambientales, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma, Estado de México, MX. ⁽²⁾ Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Ciudad de México, MX. ⁽³⁾ Ciencias Ambientales, Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma, Estado de México, MX.

Las esponjas marinas son los organismos acuáticos sésiles más primitivos en el medio marino. Como parte de su ecología se encuentran constantemente interactuando con otros organismos o microorganismos. Entre las comunidades de microorganismos que establecen relación con las esponjas se encuentran las cianobacterias, bacterias, arqueas, microalgas y hongos, esta biodiversidad contribuye al buen funcionamiento del metabolismo y con el equilibrio de la salud en las esponjas. En el presente trabajo, mediante la técnica de electroforesis en gel con gradiente desnaturizante (DGGE) se estimó el perfil metagenómico de las comunidades bacterianas asociadas a las esponjas *Smenospongia aurea* y *Scopalina ruetzleri* obtenidas del Golfo de México, encontrándose que la estructura de estas comunidades es específica para cada una de las especies de esponjas. Por otro lado, se estimó la composición y estructura de las comunidades microbianas utilizando como marcador molecular la región variable V6-V8 del gen ribosomal 16S rRNA mediante secuenciación masiva de nueva generación con una media de lecturas de 20,000 secuencias. Para todas las muestras se obtuvieron valores de cobertura cercanos al 90%. El número promedio de OTU's fue de 227 y se estimaron los índices de diversidad y riqueza de Shannon, Chao y Inv Simpson. Los grupos dominantes en las comunidades bacterianas asociadas a la esponja del género *Smenospongia* pertenecen a los Rhodospirillales (18%) orden reportado en otras especies de esponjas como *Cinachyrella*, Acidimicrobiales (12%) actinobacteria que se ha encontrado en esponjas del género *Xestospongia* como un orden productor de algunos compuestos bioactivos. Para el género de esponja *Scopalina*, de manera particular, se encontró al orden Oceanospirillales (8%) que se ha reportado en la esponja carnívora del género *Cladorhiza*, al orden Flavobacteriales (7%) en donde se ha reportado en asociación con la esponja *Aplysina aerophoba* y al orden Chroococcales con un 5% de abundancia relativa, que se ha reportado en ambientes hipersalinos como una cianobacteria halotolerante. Con los estudios metagenómicos de nueva generación se ha demostrado que las dos esponjas en estudio tienen un efecto seleccionador de sus comunidades bacterianas.

MA152

Functional comparison of bacteria based on metabolic network reconstruction and analysis

Meziane Aite¹, Mauricio Latorre^{2,3,4}, Anne Siegel¹. ⁽¹⁾ INRIA, INRIA, University of Rennes, Rennes, FR. ⁽²⁾ Mathomics, Ingeniería, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ LBEG, INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Bioingeniería, Ingeniería, Universidad de O'Higgins, Rancagua, CL.

One way to study different bacteria is to reconstruct their respective metabolic network and then analyze and compare them. For this purpose, it is necessary to take into account all possible biases that may lead to incorrect analysis and interpretation. Indeed, different quality of genome annotation or distinct workflow used for the reconstruction of the different metabolic networks will lead to manipulate networks of variable quality whose comparison will certainly highlight false positives. We propose a fully automated workflow of genome comparison based on metabolic network reconstruction which minimizes bias related to the reconstruction process. Starting from annotated genomes, we use this annotation data to create a first metabolic network for each bacteria of interest. The annotation data will enable to associate a gene with one or more enzymatic reactions. At this stage, the quality of the networks created depends entirely on the quality of the annotation. In fact, a genome rich in annotation will allow to obtain more genes - reactions association and thus a more extensive network. To reduce this bias, we proceed to reciprocal blasts to search for orthologous genes between bacterial genomes. Thereby even if a genome is better annotated than another, the search for orthologues will propagate this annotation quality. In other words, the annotation of a gene will spread to its orthologues. To complete these first networks obtained we seek again for orthologous genes but this time with model organisms close to our bacteria of interest and whose metabolic network is of good quality and curated. Orthologous research supported by metabolic networks of quality will allow the recovery of gene - reaction associations that have been missed based on annotation only. The metabolic networks obtained at the end of this workflow can then be compared and the differences highlighted will be more likely to true characteristics. All this process requires standard inputs such as Genbank file and is fully automatized. The final output is a complete report detailing the specificities and the differences between each bacteria on a functional level such as pathway completion rate and enzymatic reactions which can be handled.

FONDECYT N°11150679, Center for Genome Regulation FONDAP 15090007, Basal grant of the Center for Mathematical Modeling UMI2807 UCHILE-CNRS N° PFB03 project, Formación de Redes Internacionales para Investigadores(as) en Etapa Inicial N° RED1170193.



MA153

Whole community gene expression profiles suggest distinct behavior of co-occurring strains in the human pregnancy microbiome

Daniela Aliaga Goltsman^{1,3}, Megan Kennedy⁵, Daniel DiGiulio^{2,3,4}, Anna Robaczewska^{3,4}, David Relman^{3,2,4}.

⁽¹⁾ Microbiology & Immunology, Stanford University School of Medicine, Stanford, US. ⁽²⁾ Medicine, Stanford University School of Medicine, Stanford, US. ⁽³⁾ March of Dimes Prematurity Research Center, Stanford University School of Medicine, Stanford, US. ⁽⁴⁾ Infectious Diseases Section, Veterans Affairs Palo Alto Health Care System, Palo Alto, US.

⁽⁵⁾ Pritzker School of Medicine, University of Chicago, Chicago, US.

Recent metagenomic and 16S rRNA gene amplicon studies suggest that bacterial strains in the human microbiome may have an impact on gestational health. However, these studies do not inform of the potential role of actively growing community members on gestational outcome. Due to the importance of *Gardnerella vaginalis* in women's health and the potential role of strains in pregnancy, the vaginal microbiome of a cohort of 21 pregnant women whose vaginal communities contained *G. vaginalis* were selected for an assembly-driven, metagenomic and metatranscriptomic-based longitudinal study. We recovered the genomes of multiple co-occurring strains of *G. vaginalis* in the vaginal microbiome of pregnant women, including four *G. vaginalis* strain genomes at >60% completion in one subject. RNA expression data indicate that the co-occurring *G. vaginalis* strains are expressing their genomes differently over time. Moreover, near-complete, co-occurring *G. vaginalis* strain genomes were recovered from the gut of the same subjects, and their genome expression differs from the expression of the vaginal strains, as well as over time, within subjects. Hundreds of putative phage scaffolds have been identified in the metagenomics datasets, including the complete genome of the abundant gut Crassphage, whose RNA expression was observed in gut samples at all time points sequenced. Findings further our knowledge of the ecology of actively growing community members in the human microbiome during pregnancy.

MA154

Relación entre abundancia y especificidad de líquenes del género *Peltigera* sobre el límite arbóreo en la Reserva Nacional Coyhaique

Katerin Almendras¹, Karla Veas¹, Margarita Carú¹, Julieta Orlando¹. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

Los líquenes son organismos simbióticos conformados por un hongo (micobionte) y un compañero fotosintético (fotobionte), el cual puede ser un alga verde (clorobionte) y/o una cianobacteria (cianobionte). Los estudios de modelos de liquenización han sugerido que uno de los factores claves en el establecimiento de la simbiosis es la compatibilidad genética entre los simbioses, factor denominado especificidad. La especificidad se define como el rango taxonómico de fotobiontes con los cuales un determinado micobionte se puede asociar. En este estudio se determinó la especificidad de líquenes del género *Peltigera* (micobionte: *Peltigera* sp.; cianobionte *Nostoc* sp.) en muestras provenientes del Cerro Cinchao en la Reserva Nacional Coyhaique. El sitio de muestreo se encuentra sobre el límite arbóreo a 1300 m.s.n.m; lugar en donde no se han realizado estudios al respecto. Las unidades taxonómicas operacionales (OTUs) de los micobiontes y cianobiontes se definieron analizando la diversidad genética de los genes ADNr 28S y ADNr 16S, respectivamente. En las 15 muestras recolectadas, se establecieron 5 OTUs de micobiontes (M1-M5) y 7 OTUs de cianobiontes (C1-C7). M1 correspondió a *P. ponojensis*, M2 a *P. retifoveata*, M3 a *P. frigida*, M4 al linaje de *P. canina* y M5 a *Peltigera* sp. Los micobiontes M1 (n=2), M2 (n=1) y M4 (n=4) se unieron a una sola OTU de cianobiontes, lo que indica una especificidad muy alta. Sin embargo, la relación entre M2 y su cianobionte es del tipo “uno es a uno”, a diferencia de M1 y M4, cuyos cianobiontes se unieron también a otros micobiontes. M3 (n=2) se relacionó a 2 OTUs de cianobiontes, mostrando también una especificidad relativamente alta; mientras que M5 fue el más abundante (n=6) y exhibió una especificidad baja, relacionándose con 4 OTUs de cianobiontes. M5 ha sido sugerido anteriormente por nuestro grupo como una nueva especie, todavía no descrita, y mostró una especificidad muy alta en el Parque Natural Karukinka representado por un solo ejemplar. Aunque se debe determinar la capacidad del micobionte para seleccionar entre los cianobiontes disponibles, con nuestros datos podemos suponer que el éxito de M5 en este ambiente podría estar relacionado con su baja especificidad.

CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2016-21160637, FONDECYT 1181510.

MA155

Comportamiento estacional de las poblaciones microbianas autóctonas y alóctonas en el refugio de vida silvestre Los Pantanos de Villa, Lima – Perú

Alvarado Débora E.¹, Soto Natalí Del Carmen², Paredes Beatriz V.², Samanez Joel A.³, Maribel Baylón⁴, Alvarez Guillermo O.⁵, Huamantínco Ana A.⁶. ⁽¹⁾ Microbiología y Parasitología, Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, PE. ⁽²⁾ Microbiología Molecular y Biotecnología, Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, PE. ⁽³⁾ Microbiología Acuática, Instituto del Mar del Perú, Callao, PE. ⁽⁴⁾ Ecología Marina, Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, PE. ⁽⁵⁾ Biología Acuática y Acuicultura, Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, PE. ⁽⁶⁾ Zoología, Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, PE.

El Refugio de vida silvestre Los Pantanos de Villa está ubicado en la ciudad de Lima, es uno de los humedales naturales costeros del Perú bajo protección legal. Este ecosistema salobre permite el anidamiento de aves migratorias y residentes así como el mantenimiento de flora y fauna nativa; se reconoce además su importancia educativa y turística. Esta investigación busca relacionar el impacto de los factores físico-químicos y biológicos sobre la microbiota autóctona y alóctona del ecosistema. Se recogieron muestras de agua en 7 puntos correspondientes a lagunas que conforman el humedal, durante 4 estaciones del año (2017-2018). Para el Recuento de halófilos se utilizó el medio de Sehgal y Gibbons (Schneegurt *et al.*, 2012), se incubó por dos semanas a temperatura ambiente. En el Recuento de Coliformes fecales y *E.coli* se utilizó la técnica *Multiple-Tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group. Fecal Coliform Procedure. Thermotolerant coliform test* (SMEWW-APHA-AWWA-WEF, 2012). Para el Recuento de heterótrofos se siguió la técnica *Heterotrophic Plate Count 9215* (SMEWW-APHA AWWA WEF, 2012), y en el de Enterococos se utilizó *Multiple-Tube Technique for Members of the Fecal Enterococcus/Streptococcus Group* (SMEWW-APHA-AWWA-WEF, 2009). Además se midió los siguientes parámetros físico-químicos: N(mg/L), P(mg/L), N amoniacal(mg/L), pH, Turbidez(NTU), TDS(ppt), Salinidad(ppt), T agua(C°), O2(%), O2(mg/L), CE(mS/cm); se determinó la correlación de estos factores con las poblaciones microbianas en estudio. La microbiota autóctona (Heterótrofos y Halófilos) responde a los cambios estacionales que llevan a fluctuaciones en los parámetros físico-químicos en los puntos de muestreo, en cambio la microbiota alóctona (Coliformes TermoTolerantes y *E. coli*) muestra variaciones que no responden a cambios estacionales; se analiza la correlación existente con parámetros físico-químicos. Cinco de las lagunas estudiadas (71.4%) exceden, en alguna de las estaciones, el límite permisible según la normatividad peruana; la relación Coliformes Termotolerantes / Enterococos Fecales pone de manifiesto una contaminación preponderantemente de origen humano en los lugares de muestreo. El ecosistema “Humedales de Villa” está fuertemente impactado por la actividad humana circundante lo que se expresa en el comportamiento de microbiota acuática introducida, sin embargo la microbiota nativa mantiene su población en relación a los factores ambientales propios del sistema.

Proyecto de Investigación Código B17100301 VRIP-UNMSM.



MA156

Variabilidad espacio y temporal del microbioma de la rizosfera en el fenómeno del “Desierto Florido” en el Desierto de Atacama

Juan Pablo Andres Araya¹, Máximo González², Massimiliano Cardinale³, Alexandra Stoll². ⁽¹⁾ Biología, Ciencias, Universidad De La Serena, La Serena, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Microbiología Aplicada, Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas, La Serena, CL. ⁽³⁾ Institute of Applied Microbiology, Justus-Liebig-University, Giessen, DE.

En Chile, la variabilidad espacio - temporal de las precipitaciones en el Desierto de Atacama contribuyen al fenómeno del “Desierto Florido”, en el cual, plantas como holobiontes responden rápidamente a la presencia de agua. Sin embargo, pocos estudios han sido realizados para determinar cómo este tipo de ambiente y el pulso de los recursos modulan la comunidad microbiana asociada a la rizosfera. Analizando el afecto del gradiente de precipitación Norte-Sur, además de un gradiente temporal dado por un año lluvioso y otro seco, nuestro trabajo determinó la abundancia, estructura de la comunidad y diversidad microbiana de la rizosfera (en hongos y bacterias) asociada a *Cistanthe longiscapa*, planta anual característica del fenómeno de Desierto florido. Donde, las muestras colectadas fueran analizadas mediante técnicas metagenómicas utilizando la plataforma Illumina Hiseq2500. Nuestros resultados muestran que, la estructura de la comunidad microbiana difiere entre sitios de un gradiente ambiental y que existe un fuerte efecto de la rizosfera. La diversidad de la comunidad de microbiana decrece hacia el norte, junto con la precipitación anual, además es afectada por los factores biogeográficos del sitio. En Quebrada Seca, sitio ubicado más al norte en el gradiente, no se detectó una comunidad de hongos específica de la rizosfera, caso contrario se encontró en bacterias donde se observó un alto número de géneros presentes significativamente en la rizosfera de este sitio. Por otra parte, no se encontró un “Core Microbiano” asociado a la rizosfera de la planta independiente del sitio. Inferimos que la comunidad rizósferica de *C. longiscapa* en cada sitio, se compone funcionalmente con aquellos microorganismos que benefician a la planta según las características ambientales específicas. Respecto al factor temporal, la comunidad microbiana es más específica en la rizosfera en un año lluvioso, debido a su baja diversidad en comparación al “Bulk Soil”. Estudios posteriores podrían evaluar la funcionalidad ecológica de la comunidad microbiana de la rizosfera y cómo podrían influir en el performance general de las plantas en el fenómeno del “Desierto Florido”.

FONDECYT 1131089, CONICYT R16A10003.

MA157

Efecto del bacteriófago Valp1 sobre el patógeno *Vibrio anguillarum*.

Guillermo Venegas¹, Manuel Arce¹, Mario Caruffo², Oriana Flores¹, Karla Paez¹, Carmen Gloria Feijoó³, Paola Navarrete², Roberto Bastías¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Vibrio anguillarum es una bacteria patógena para más de 50 especies de peces y moluscos. La evolución y abundancia de esta bacteria puede verse fuertemente afectada por la presencia de bacteriófagos capaces de infectarla. Este trabajo describe la caracterización de un nuevo bacteriófago temperado contra la cepa PF4 de *V. anguillarum* denominado Valp1. Este bacteriófago tiene un genoma de 43 kb y contiene 45 ORF. Entre estos, se destacan los genes *parA*, *parB*, *rtel* y genes codificantes para las proteínas primasa, proteína represora y anti terminadora Q, cuya presencia sugieren que el bacteriófago Valp1 correspondería a un bacteriófago temperado telomérico tipo N15. Una caracterización inicial muestra que la cepa P1.1 lisógena para este bacteriófago tiene una velocidad de crecimiento levemente menor que la cepa wt PF4, pero no presenta alteraciones en su motilidad o en su capacidad para formar biofilms. Al realizar un co-cultivo entre ambas cepas en proporciones 1:1 se observa que, después de 3 horas la cepa P1.1 se encuentra en una abundancia mayor que la cepa PF4, aunque esta última nunca es totalmente desplazada del co-cultivo. Al mismo tiempo, se observa que el bacteriófago Valp1 es liberado espontáneamente en el co-cultivo y aumenta su concentración 10 veces, lo que podría explicar la disminución en la concentración de PF4. Finalmente, utilizando un modelo de larvas de peces cebra (*Danio rerio*), se determinó que no existen diferencias en la virulencia entre la cepa wt de *V. anguillarum* PF4, y la cepa P1.1 lisogenizada con el fago Valp1 al comparar las curvas de supervivencia. Estos resultados sugieren que si bien el bacteriófago Valp1 facilitaría la persistencia de la cepa lisógena de *V. anguillarum*, en presencia de cepas no-lisógenas, no le otorga mayor virulencia. Este trabajo contribuye al entendimiento del rol de los bacteriófagos de *V. anguillarum* y su interacción con esta bacteria.

Fondecyt 11140412, 1181499, 1171199.

MA158

Inhibición de la síntesis de piocianina de *Pseudomonas aeruginosa* TGC04 por la presencia de indol y acetato

Ravilly Ray A. A¹, Bonifácio Tarcísio T. C.¹, Oliveira Bianca T.M.², Viana Andrwey A.G.², Jamarillo Lizeth Y. A.³, Vasconcelos Ulrich R. G.⁴. ⁽¹⁾ Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Biologia Celular e Molecular, University Federal of Paraíba, João Pessoa, BR. ⁽²⁾ Centro de Biotecnologia, Biotecnologia, University Federal of Paraíba, João Pessoa, BR. ⁽³⁾ Escola de Química, Engenharia Química, University Federal of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽⁴⁾ Centro de Biotecnologia, Farmácia, University Federal of Paraíba, João Pessoa, BR.

Al coexistir en ambientes acuáticos *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* sintetizan diferentes metabolitos, de forma que puedan mantener su permanencia de forma equilibrada. Considerando la versatilidad metabólica, puede sugerirse una ventaja de la *P. aeruginosa* sobre el restante de micro-organismos, especialmente sobre otras especies productoras de piocianina. Por otro lado, la síntesis de indol y acetato es una de las estrategias metabólicas desarrolladas por *E. coli* en condiciones estrés, como el caso de la competición por nutrientes. Considerando que alteraciones en el ambiente pueden favorecer alguna de las especies, este trabajo tuvo como objetivo verificar la influencia del indol y el acetato en la síntesis de piocianina por *P. aeruginosa* TGC04. Para esto, una suspensión de células fue inoculada en caldo King A conteniendo indol o acetato de sodio en tres diferentes concentraciones, 0.25-0.5-1.0 mM para el indol y 1.0-2.0-4.0 mM para el acetato, teniendo como experimento de control el crecimiento de *P. aeruginosa* TGC04 sin adición de estas substancias. Para todos los experimentos la incubación fue realizada por 72 horas a 30°C y con agitación de 150 rpm. La concentración de piocianina fue determinada por espectrofotometría en la absorbancia de 520 nm después su extracción con cloroformo. La producción de piocianina en el experimento control fue de 34.4±0.6 µg/mL. En la presencia de indol fue observada una disminución de la concentración del pigmento proporcional al aumento de las concentraciones evaluadas. Por otro lado, en las concentraciones de acetato correspondientes a 1.0 y 4.0 mM se observó reducción de la concentración de la piocianina producida de 52.3 y 54,4% respectivamente. Para la concentración de 2.0 mM la producción de piocianina fue 32.3±0.5 µg/mL, mostrándose similar a la obtenida en el control. De esta forma, puede sugerirse que la síntesis de piocianina por *P. aeruginosa* TGC04 no se ve afectada con la presencia de acetato en concentraciones alrededor de 2.0 mM. Estudios futuros esperan analizar la interacción conjunta de indol y acetato en la producción de piocianina e su efecto en la adhesión de *P. aeruginosa* en superficies.



MA159

Metagenomic analysis of the microbiota from São Francisco reservoir in the São Paulo zoological park

Deibs Barbosa¹, Moura Livia Maria Silva¹, Cristina Viana-Niero², De Oliveira Julio Cezar Franco², Da Silva Aline Maria¹, Setubal João Carlos¹. ⁽¹⁾ Department of Biochemistry, Institute of Chemistry, University of São Paulo. ⁽²⁾ Department of Microbiology, Immunology and Parasitology, Federal University of São Paulo, São Paulo, BR.

Background: Extend current knowledge about the microbial community in tropical freshwater bodies by applying a metagenomic/computational approach. We analysed the diversity variation of the microbial community in São Francisco Reservoir (SFR) in the São Paulo Zoological Park, as well as its metabolic potential and the relation with atmospheric phenomena along 12 months. **Methods:** Along 12 months we collected superficial water samples and extracted total DNA for 16S amplicon and shotgun sequencing. We analysed the relative abundance of identified organisms and co-occurrence. We recovered two novel genomes through assembly of the shotgun fragments. **Results:** PcoA and average silhouette width analyses indicated distribution of samples in two groups: the first containing Oct12, Nov12 and May13 to Sep13 samples and the second containing Dec12 to Apr13 samples. According to both 16S and shotgun data, Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes and Verrucomicrobia are the most abundant taxa, corresponding to at least 79% of classified reads in each sample. We recovered two novel near complete genomes, an unknown Betaproteobacteria and an unknown Actinobacteria. Genomic features and DNA fragments distribution along the sample period indicate that these organisms probably belong to the copiotrophic fraction from SFR microbial community. Finally, we performed a local similarity analysis to establish the statistical relevance of species co-occurrence during the period and used the data to construct three biological networks. **Conclusion:** Our analysis provides evidence of a highly diverse and variable community along the sampled period with many undescribed organisms. These results may contribute future studies of microbial communities from SFR and their metabolic potential.

MA160

Paecilomyces spp. como promotores del crecimiento en la cultura de maíz

Noemi Baron¹, Rigobelo Everlon Cid¹. ⁽¹⁾ Departamento de Producción Vegetal/ Laboratorio de Microbiología de Suelo, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Jaboticabal, BR.

La agricultura brasileña es el principal contribuyente para el crecimiento económico del país. El maíz es el segundo grano más cultivado en el Brasil y es utilizado en la alimentación humana y animal. Para satisfacer la demanda y aumentar la productividad se utilizan grandes cantidades de pesticidas y fertilizantes. Desde 2008, Brasil es el país que más usa pesticidas en el mundo, creando gran preocupación por la salud pública y ambiental, a pesar de traer beneficios para los cultivos, estos compuestos presentan alta toxicidad y son acumulativos. El uso de microorganismos como bioinoculantes, para promover el crecimiento de plantas y combatir plagas, es una alternativa cada vez más explorada. El género *Paecilomyces* contiene representantes con características potenciales para este uso, apuntando al desarrollo de una agricultura más productiva y ecológicamente correcta. En este estudio, se analizaron 30 cepas aisladas del suelo para determinar su capacidad de solubilizar fósforo (P) (fluorapatita) y producir fitohormona ácido indol acético (AIA). Siete cepas fueron seleccionadas y evaluadas en el cultivo de maíz en condiciones de invernadero durante 40 días. Las variables evaluadas al final del experimento fueron altura de la planta, materia seca de raíz, parte aérea y total, contenido de P en el suelo y contenido de P y nitrógeno (N) en la parte aérea y raíz. Dos cepas se destacaron: la cepa 65, fue la mejor productora de AIA (31,15 mg/g micelio) y mejoró en 15% la altura de la planta y la materia seca en relación con el control; la cepa 24, fue la mejor solubilizante de P (16.24 mg/g micelio) e incrementó significativamente el contenido de P en el suelo y en la planta, 66.7% y 13.8% por encima del control, respectivamente. Ambas cepas promovieron un aumento del 40% en el contenido de N en las raíces de la planta de maíz, demostrando que estos hongos son capaces de ayudar en la absorción de este nutriente esencial para este cultivo. Considerando la complementariedad de las cepas en sus capacidades para promover el crecimiento de las plantas de maíz resulta interesante evaluar el potencial de estos microorganismos a través de un consorcio.

Los autores desean agradecer a la FAPESP, proceso nº 2015 / 17505-3, por el apoyo financiero.

MA161

Identification of avian influenza viruses in Chile containing genes introduced through the Pacific and Atlantic flyways

Gonzalo P. Barriga^{9,1}, Rodrigo Tapia², Raveen Rathnasinghe⁹, Leonardo Almonacid⁹, Dusan Boric³, Tamara Garcia⁹, Nicole Sallaberry⁴, Michel Sallaberry⁵, Barbara Brito², Carmen Espoz⁶, Victor Neira², Fernando Torres⁷, Rafael A. Medina^{8,9}. ⁽¹⁾ Programa de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Medicina Preventiva, Veterinaria, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Microbiology, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Veterinaria, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽⁵⁾ Ciencias Biológicas, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁶⁾ Ciencias Biológicas, Universidad Santo Tomás, Santiago, CL. ⁽⁷⁾ Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Curauma, CL. ⁽⁸⁾ Microbiology, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York. ⁽⁹⁾ Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

Avian influenza viruses (AIVs) are associated with zoonotic events and are carried in nature by wild birds. Chile has unique geographical barriers, the Andes Mountains and Pacific Ocean, providing protection from major animal pathogens. However, migratory birds travel long distances, and have the potential to introduce pathogens such as AIVs. To evaluate the potential entry route of IAVs into Chile, we performed a directed wild bird surveillance study. We collected 2,569 shore bird and environmental samples from 6 locations (Arica, Sto Domingo, Valparaiso, Chillan, Valdivia y Punta Arenas) in Chile during 2014-2017. We detected a 7.5-14.1% range of positivity to AIV by qRT-PCR. The positive species identified were: Franklin's gull (*Leucophaeus pipixcan*), grey gull (*Leucophaeus modestus*) Black Skimmer (*Rynchops niger*), American Oystercatcher (*Haematopus palliatus*), Sanderling (*Calidris alba*) and Whimbrel (*Numenius hudsonicus*). We also took 131 swabs and blood samples from local wild ducks (Speckled Teal, *Anas flavirostris* and Yellow-billed Pintail, *Anas georgica*). While all the samples were qRT-PCR negative, these samples had a 51% seroprevalence, suggesting they were previously exposed to AIVs. We sequenced H13N2 AIVs from Franklin's and grey gulls, and viruses isolated from environmental samples, which were subtyped as H13N9, H5N9 and H12N5. Phylogenetic analysis showed that the H13Nx viruses clustered closely with gull H13N2 AIVs found in Chile in 2007-2014 and with other North American isolates, suggesting constant introductions from the north. Analysis of the internal segments from all isolates identified four internal segments closely related to South American and Eurasian lineages, suggesting that these viral constellations are related to introductions through the Pacific and Atlantic migratory flyways. Our results suggest that ecological niches contribute to the transmission and persistence of influenza viruses in Southern Chile and highlight gulls as potential "carriers" of reassortant viruses from North to South America.

MA162

Densidade de procariotos na rizosfera de leguminosas em solos, com diferentes proporções de rejeito de mineração.

Miranda Janaína B¹, Rodrigues Edmo M¹, Peixoto Paulo Henrique P¹, Rippel Larissa V¹, Simão Lucas V¹, Costa Fabíola S¹, Silva Matheus R¹, Resende Cristiano F¹, Cesar Dionéia E¹. ⁽¹⁾ Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, BR.

Em novembro de 2015, o rompimento da Barragem de Fundão em Mariana/MG- Brasil, resultou no maior acidente ambiental da história do país. Os rejeitos contendo altas concentrações de metais, baixa granulometria e ausência de matéria orgânica podem causar alterações nos ecossistemas atingidos. Este estudo teve como objetivo verificar se solos contendo diferentes proporções de rejeito de mineração, sem e com o cultivo de uma leguminosa (*Leucaena leucocephala*) podem provocar alterações na densidade de procariotos (Bactérias e Archaea). Rejeitos sedimentados deste acidente foram adicionados à solo para se obter diferentes concentrações (tratamentos (T) 0%, 25%, 50%, 75% e 100%) com cinco réplicas. Após 8 meses de cultivo da leguminosa foram coletadas amostras da região rizosférica, e as plantas foram medidas desde a base do caule até o meristema apical. Também foram coletadas amostras de solo sem cultivo da leguminosa nas mesmas concentrações do tratamento. As amostras de solo foram fixadas com paraformaldeído 2%, pesadas, sonicadas (3x a 60") e então centrifugadas (3x 500g por 5'). As 3 frações de sobrenadante foram unidas e filtradas em membranas de polícarbonato (0,2µm), coradas com DAPI e visualizadas em microscópio de epifluorescência, onde 10 campos aleatórios de cada amostra foram contados. A densidade média de procariotos nos solos rizoféricos variou de $7,13 \times 10^8$ células /g $\pm 2,65$ (T0%) a $0,70 \times 10^8$ células /g $\pm 0,16$ (T100%). Os tratamentos T0%, T25% e T50% não apresentaram diferença estatística entre si e apresentaram densidades maiores quando comparado aos tratamentos T75% e T100%. Amostras de solo sem cultivo de plantas apresentaram densidades entre $3,72 \times 10^8$ células /g $\pm 0,57$ (R0%) e $0,69 \times 10^8$ células /g $\pm 0,03$ (R100%), valores sempre menores quando comparados ao solo da região rizosférica. As medidas do comprimento das plantas variaram entre 119 cm $\pm 13,3$ (T0%) e 26,5 cm $\pm 5,24$ (T100%). Nossos resultados mostram que houve maior desenvolvimento de micro-organismos no solo com a planta e que a concentração de rejeitos interfere no crescimento da leguminosa e na densidade de procariotos. Esta variação na densidade de procariotos está relacionada à disponibilidade de matéria orgânica e de características físico-químicas no solo.

FAPEMIG-Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais.



MA163

La microbiota intestinal de virus y bacterias a nivel de género de niños hospitalizados por diarrea aguda, negativas para patógenos intestinales, mostró ser única para cada individuo

Adriana Becerra¹, Pavel Isa², Raúl F. Velázquez³ Arias Carlos Federico², Gutierrez-Escolano Ana Lorena⁴, Teresa Estrada-García¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-IPN (CINVESTAV-IPN), Ciudad de México, MX. ⁽²⁾ Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, MX. ⁽³⁾ Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México, MX. ⁽⁴⁾ Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-IPN (CINVESTAV-IPN), Ciudad de México, MX.

Un evento de diarrea depende de tres factores conocidos como la tríada ecológica: el hospedero, el agente etiológico y el ambiente. Particularmente la microbiota puede ser un factor determinante del hospedero para el establecimiento de un patógeno entérico y por ende causar un cuadro de diarrea. Actualmente, la microbiota puede ser identificada por diferentes métodos, entre estos los microarreglos son una alternativa tecnológica rápida y sensible para la detección de microorganismos hasta nivel de género. El objetivo de este trabajo, fue evaluar mediante un microarreglo la presencia de microorganismos en 20 muestras fecales de niños menores de 5 años, con diarrea aguda que requirieron hospitalización y que resultaron negativos a patógenos intestinales por métodos de diagnóstico tradicionales. Se utilizó el microarreglo de Axiom[®] para la identificación de la composición de la microbiota intestinal (virus, bacterias y parásitos) y para el análisis de los resultados se utilizó el Software de Applied Biosystems[™] Axiom[™]. El microarreglo identificó en el 100%, 80%, 70% y 40% de las muestras de heces los phyla bacterianos Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria y Bacteroidetes, respectivamente. Mientras que identifico un total de 70 virus y 39 bacterias de géneros diferentes, pero ningún parásito. Estos géneros de virus y bacterias corresponden a 17 y 24 familias, respectivamente y de estas: cuatro familias de virus (Adenoviridae, Astroviridae, Caliciviridae y Reoviridae) y dos de bacterias (Enterobacteriaceae y Peptostreptococcaceae) contienen géneros considerados agentes etiológicos de diarrea. Además, en los pacientes se identificaron bacteriófagos y virus de plantas o animales. La microbiota identificada a nivel de género entre los 20 pacientes fue distinta y característica, en algunos el número de géneros es limitado mientras que en otros es muy diverso, corroborando el concepto de que la microbiota es una huella digital de cada individuo.



MA164

Analysis *in silico* of glycosyl hydrolases extreme metagenomes of Colombia with importance in bioprospecting

Bolaños-Martínez Ivon Andrea¹, Tobar-Tosse Henry Fabian¹, Vélez Patricia Eugenia², Daniela Quibano², Luis Garreta³, Moreno Pedro Antonio⁴. ⁽¹⁾ Ciencias Básicas de la Salud, Ciencias de la Salud, Pontificia Universidad Javeriana-Cali, Cali, CO. ⁽²⁾ Biología, Ciencias Naturales Exactas y de la Educación, Universidad del Cauca, Popayán, CO. ⁽³⁾ Electrónica y Ciencias de la Computación, Ingeniería, Pontificia Universidad Javeriana- Cali, Cali, CO. ⁽⁴⁾ Escuela de Ingeniería de Sistemas y Computación, Ingeniería, Universidad del Valle, Cali, CO.

The microorganisms have a wide spectrum of functional genes that can have a high functional potential with application in the industry, and therefore, it is urgently necessary to take advantage of these potentialities and delve into the bioprospective knowledge of these. At present, different studies have applied the metagenomic approach to directly analyze the functional diversity of microbial communities from environmental samples, thus knowing all the genes that can be used in different industrial processes. One of the richest countries in biodiversity is Colombia that has a great variety of extreme environments that harbor a quantity of metabolically interesting microorganisms in bioprospecting. About 153 families of glycosyl hydrolases are known, which have a wide distribution in the Archaea, Eukaryotic and prokaryotic domains; these enzymes are used in different processes in the food industry and in the degradation of biomass for the production of biofuels. That's why this study focuses on the search for glycosyl hydrolases in the metagenomes of soil (High Andean Forest-HAF) and of acidic thermal waters (El coquito-CQT) taken from the server of the Colombian Center for Genomics and Bioinformatics of Extreme Environments GeBiX. It was predicted from the two metagenomes their ORFs using the Metagenemark algorithm. The peptides associated with these ORFs were searched in the Pfam database of protein families using the Blastp algorithm. Those related to the enzymes of glycosyl hydrolases families were taken and the frequencies of each family were calculated for each metagenome. This is a preliminary study that reports the presence of 51 families of glycosyl hydrolases in High Andean Forest the metagenome and 42 families in acidic thermal waters metagenome, of which 82% of the families are shared between the two metagenomes. This information represents the basis for future studies of functional screening and production of this type of extremozymes that may have unique characteristics applicable in industrial processes. This type of studies potentiates the value of the functional knowledge of the microbial communities associated with extreme ecosystems in the Colombian geography and for comparison with other extreme ecosystems of the planet.

MA165

Actividad anti-biofilm de la piocianina sobre *Candida albicans* ATCC 76485

Arruda Ray R. A.¹, Bonifácio Tarcísio T. C.¹, Oliveira Bianca T. M.², Jamarillo Lizeth Y. A.³, Vasconcelos Ulrich R. G.².

⁽¹⁾ Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, BR. ⁽²⁾ Departamento de Biotecnologia, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, BR.

⁽³⁾ Escola de Química, Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR.

La permanencia de diversos micro-organismos en determinados ambientes es garantizada por el establecimiento de comunidades en biofilm. Algunos grupos microbianos, como bacterias y levaduras pueden competir durante el proceso de adhesión en superficies, en las cuales se fijarán secretando diferentes metabolitos. Compuestos fenacínicos producidos por especies bacterianas pueden impedir la adhesión de micro-organismos susceptibles. Considerando lo anterior, el objetivo de este trabajo fue verificar la influencia de la piocianina, compuesto fenacínico de color azul, sintetizado por *Pseudomonas aeruginosa* TGC04, sobre la adhesión y colonización de *Candida albicans* ATCC 76485 en la superficie de cuerpos de prueba cerámicos. La piocianina fue producida por *P. aeruginosa* TGC04 usando caldo King A como medio de producción, con incubación a 30°C y agitación de 150 rpm por 48h. Posterior a este tiempo, el material celular fue retirado por filtración a través de membranas de 0,22 µm, obteniendo un extracto bruto de piocianina, cuya concentración fue determinada por espectrofotometría ($\lambda=520$ nm) posterior a la extracción con cloroformo. Para evaluar la formación de biofilm fueron utilizados cuerpos de prueba cerámicos de área 1cm², que fueron inmersos en un biorreactor de polipropileno conteniendo 10 mL de una solución 10 g/L de extracto de levadura, seguido de la esterilización fue realizada la adición del extracto bruto de piocianina para conseguir las concentraciones de 1, 5, 10, 20 µg/mL y fue realizada la inoculación con 1 mL de suspensión de *C. albicans* ATCC 76485 (10⁸ cel/mL) en ambiente estéril. El experimento control fue realizado sin adición de piocianina. Todos los experimentos fueron llevados a cabo a 30 °C por 120 h, posteriormente, el material adherido al cuerpo de prueba fue raspado y la cuantificación de *C. albicans* fue realizada por *Pour Plate* en medio SDA (Sabouraud Dextrosa Agar). Fue observada la formación de biofilm solo en el experimento correspondiente a la concentración de piocianina 1 µg/mL, con 2x10³ UFC/cm²/mL, siendo este resultado 60 veces inferior al obtenido en el experimento control (12x10⁴ UFC/cm²/mL). Estos resultados indican que concentraciones superiores a 1 µg/mL de piocianina inhiben la adhesión de *C. albicans* ATCC 76485.

MA166

Microorganismos no cultivables del filo *Chloroflexi* en diferentes sistemas de tratamiento de aguas residuales

Patricia Bovio¹, Angela Cabezas¹, Claudia Etchebehere¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Ecología Microbiana, Investigador, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, UY.

El filo *Chloroflexi* es reportado como uno de los grupos predominantes en sistemas de tratamiento de aguas residuales. Pero se sabe aún muy poco de este grupo ya que es uno de los filos con menor porcentaje de microorganismos cultivados. Los pocos aislamientos son fermentadores de carbohidratos, tienen lenta tasa de crecimiento y en su mayoría presentan morfología filamentosa. Debido a esta morfología, se ha sugerido su posible rol en la formación de gránulos y flóculos, fundamentales para el buen funcionamiento de los sistemas de tratamiento. Por otro lado, su sobrecrecimiento está relacionado con procesos de bulking pero aún no están claros los factores desencadenantes de su sobrecrecimiento. Llama la atención que estos microorganismos se encuentran en reactores que operan en muy diferentes condiciones como reactores metanogénicos, reactores aerobios y reactores anaerobios como anammox. No se conoce si existen diferentes grupos en el filo que prevalecen en cada tipo de reactor o si es un mismo grupo que es ubicuo. Se comparó la diversidad taxonómica y morfológica de organismos del filo *Chloroflexi* presente en diferentes sistemas de tratamiento de aguas residuales. Para esto, se tomó una muestra de biomasa de tres reactores diferentes: reactor metanogénico UASB (industria procesadora de malta, MO), reactor anammox (AMX) y reactor aerobio (tratamiento de residuos hospitalarios, RH). Se determinó la morfología del filo *Chloroflexi* mediante Hibridación *in situ* fluorescente (FISH) con sondas específicas. Se realizó secuenciación masiva del gen de ARNr de 16S con primers para el dominio Bacteria. En todas las muestras los organismos del filo *Chloroflexi* que hibridaron fueron filamentosos con diversidad de morfologías. Su abundancia relativa fue 27.5% para RH, 17.8% para AMX y 0.8% para MO. *Anaerolineae* fue la clase más abundante (51.8- 91.2%), seguida de SJA-15 (11%) y *Dehalococcoidia* (8%). Las OTUs predominantes fueron específicas de cada reactor, y aquellas afiliadas a la clase *Anaerolineae* formaron un cluster sin representantes cultivados. En todos los reactores el filo *Chloroflexi* presentó morfología filamentosa. La clase *Anaerolineae* fue la más abundante y la mayoría de sus organismos no tuvieron representantes cultivados. La comunidad de *Chloroflexi* fue específica de cada reactor.

Agradecimientos: Instituto de Investigaciones biológicas Clemente Estable. Agencia Nacional de Investigación e Innovación. Facultad de ciencias, Universidad de la República.

MA167

Effect of mercury bioremediation by *Cupriavidus metallidurans* strain MSR33 on soil agricultural communities involved in the nitrogen cycle in a rotary drum bioreactor

Guillermo Bravo¹, Paulina Vega¹, Juan Carlos Gentina², Michael Seeger². ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Depto. Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Escuela de Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL.

Nitrogen cycle microorganisms are essential in agricultural systems. Mercury causes negative effects on soil microorganisms. The aim of this report is to determine the effects of mercury and mercury soil bioremediation by *Cupriavidus metallidurans* strain MSR33 in a rotary drum bioreactor (RDB) on microbial communities involved in the nitrogen cycle. Agricultural soils were contaminated with mercury (II) 20 ppm and bioremediated by strain MSR33 in RDB. The effect on microbial of the nitrogen cycle was studied by qPCR. The genes *nifH* (nitrogenase reductase), *amoA* (bacterial ammonia monooxygenase) were used as markers for the abundance of nitrogen-fixing and nitrifying bacteria, respectively. The *zniA* and *merG* genes were used to follow strain MSR33 in soils. Mercury inhibited nitrogen-fixing and nitrifying bacterial communities in agricultural soils. Bioremediation by strain MSR33 increased significantly communities of nitrogen-fixing and nitrifying bacteria in the RDB. The strain MSR33 remained at high levels during and after soil bioremediation. Six mercury-tolerant strains were isolated from bioremediated soils. The isolates were identified as *Arthrobacter* sp. SB1a, *Bergeyella* sp. SB2a, *Bacillus* sp. SB1B, *Planomicrobium* sp. SB2b, *Brevundimonas* sp. SB3b and *Ochrobactrum* sp. SB4b. Strains SB1a, SB3b and SB4b possess the *merG* gene that is associated with the plasmid pTP6, suggesting the horizontal transfer of the plasmid pTP6 to native soil bacteria. Bioremediation by strain MSR33 of mercury-polluted soil in RDB is useful to recover microbial communities involved in the nitrogen cycle in agricultural soil.

Anillo GAMBIO CONICYT ACT172128, Conicyt PhD fellowship (GB, PVC), Ines 1402 MECESUP UTFSM 2016.

MA168

Caracterización de una cepa de *Pseudomonas alcaligenes* altamente resistente y bioacumuladora de arsénico, aislada desde un ambiente poliextremo del Altiplano Chileno

Romina Bugueño¹, Daniela Meneses¹, Diego Cornejo¹, Cristina Dorador¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta.

El Altiplano Chileno, específicamente sus humedales y lagunas presentan una alta variabilidad temporal y espacial, con una alta diversidad microbiana, los cuales se ven expuestos diariamente a condiciones ambientales extremas, tales como variación de temperatura, alta radiación UV, alta salinidad, presencia de metales pesados, entre otras. El Arsénico es un mineral tóxico asociado directamente a graves problemas de salud mundial, por lo que es una preocupación constante de estudio. El campo geotermal de El Tatio se encuentra naturalmente enriquecido con altas concentraciones de As en sedimentos y en agua, convirtiendo a los microorganismos que habitan estas zonas en modelos de estudio únicos para identificar genes de resistencia a éste y otros estresores externos, dando mayor entendimiento a los mecanismos de movilidad y biodisponibilidad del metaloide en el ecosistema. En este trabajo se busca identificar las características fisiológicas y moleculares de una cepa aislada desde la quebrada El Zoquete, humedal rico en Arsénico ubicado en la zona geotérmica de El Tatio, Región de Antofagasta, Chile con el fin de entender los límites extremos de crecimiento de bacterias altamente adaptadas a condiciones hostiles para la vida. En el sitio de estudio el pH fue de 6,4 y la salinidad de 0,32 g/L (NaCl). La cepa aislada se identificó mediante características morfológicas, bioquímicas y análisis filogenético del gen 16S ARNr y evaluación de las condiciones óptimas de crecimiento de la cepa bajo ciertas condiciones ambientales "límite". Se identificó la cepa como *Pseudomonas alcaligenes* (99% de identidad de secuencia con su relativo más cercano), que tiene una temperatura óptima de crecimiento de 35°C. Se observó crecimiento en medio adicionado con As en concentraciones hasta 20 mM/L, lo que le confiere una alta resistencia al metal en comparación con la cepa tipo más cercana. Estos resultados preliminares indican la presencia de genes de resistencia a As en la cepa aislada por lo que se evaluará la presencia del gen *ArsC* que codifica la proteína que participa en la reducción de arseniato (As V) a arsenito (As III) dentro del citoplasma, con los siguientes oligonucleótidos: F' AGTCCTGTTCATGTGYAC, R' TGGCGTSGAAYGCCG.

Financiamiento: FONDEF N°IT16M10041; CeBiB FB0001; Fondecyt 1181773, Beca Tesis de Pregrado Universidad de Antofagasta.



MA169

Diversidad de bacterias marinas cultivables asociadas a esponjas con y sin *biofouling* del Mar Caribe colombiano

Daniela Burgos¹, Catalina Arévalo¹. ⁽¹⁾ Biología - Comunicación y Comunidades Bacterianas CCB, Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, CO.

Las esponjas son organismos marinos sésiles que albergan en su superficie comunidades bacterianas de gran diversidad y en algunos casos, en presencia de organismos eucariotas se constituye el denominado *biofouling*. La primera etapa de colonización para la formación de la macroepibiosis sucede con la construcción de un *biofilm* bacteriano que es regulado, entre otros factores, por la secreción de sustancias propias del hospedero y por la presencia de otras especies bacterianas involucradas en el consorcio; seleccionando y/o modulando la colonización de ciertos organismos tanto eucariotas como procariotas. En el mar caribe colombiano se han encontrado esponjas con y sin crecimiento de *biofouling* en su superficie, permitiendo intuir que el consorcio bacteriano presente y diferencial para ambos casos puede estar involucrado en la selección de los organismos de la epibiosis y su respectiva modulación. Estudios de caracterización de comunidades bacterianas marinas y su comunicación celular han demostrado que una vez formado el *biofilm*, la secreción y difusión de moléculas señal por parte de las bacterias participantes están involucradas en procesos de atracción, asentamiento y maduración de larvas de cnidarios. El objetivo de esta investigación es caracterizar y comparar las especies bacterianas cultivables presentes en superficies de esponjas marinas del caribe colombiano con y sin *biofouling*. Para la caracterización molecular de los aislamientos bacterianos se realizó PCR y secuenciación del gen ribosomal 16S, seguido de una determinación taxonómica usando la herramienta bioinformática BLAST donde se eligieron secuencias con porcentajes de identidad superior al 97% que fueron usadas como identificación de los aislamientos y para estudios filogenéticos posteriores. Se lograron caracterizar 140 aislamientos bacterianos para ambos estados, en su mayoría bacilos Gram positivos. Existe mayor número de actinomicetos dentro del total de bacterias aisladas de esponjas sin *biofouling* con respecto al grupo de bacterias aisladas de esponjas con *biofouling*, donde se obtuvo un mayor número de bacterias Gram negativas.



MA170

Implication of the fungal-bacterial symbiosis in the sexual development and fitness of *Rhizopus microsporus*

Cabrera-Rangel José F.¹, Espino-Vázquez Astrid N.¹, Martínez-Vázquez Ma. A.¹, Cecilio Valadez-Cano¹, Partida-Martínez Laila P.¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Interacciones Microbianas, Unidad Irapuato, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Irapuato, MX.

The endosymbiosis is a hallmark in the evolution of eukaryotic cells. Microbiota can affect the physiology, morphology, development, and fitness of hosts; therefore, the assembly of these interactive species can be considered a functional ecological and evolutionary unit, that is, a holobiont. Intraspecific interaction between several *Rhizopus microsporus* strains and *Burkholderia rhizoxinica* has been recently postulated as model of fungal holobiont. In this system, endobacteria are responsible for the production of toxins that favor the pathogenicity of *Rhizopus*. These symbionts are also necessary for the asexual development of its host and are vertically transmitted through host spores. Recently, it has also been shown that endobacteria influence the sexual development of *R. microsporus*, affecting the amount of zygospores produced. However, it is uncertain if sexual compatibility across symbiotic and non-symbiotic strains exist, if resulting progeny is viable and how are bacteria inherited. We quantified the production, size and viability of zygospores from matings employing varied *R. microsporus* strains: some which host endobacteria, some in which endobacteria has been eliminated (cured) and naturally non-host fungi. In addition, we analyzed how bacteria segregated after sexual development using fluorescent-labelled bacteria and flow cytometry. We also compared the sexual loci of several host and non-host strains to identify genome differences that could be important for the sexual reproduction in *R. microsporus* species. Our results suggest that symbiosis of *R. microsporus* with *B. rhizoxinica* represents a barrier for the sexual reproduction in the species. Also, we found that segregation of bacteria is influenced by the mating type of the fungal partner. Collectively, these results support the notion that symbiosis with bacteria promote speciation within *R. microsporus*.

CINVESTAV - Posgrado en Ciencias en Biología Integrativa; CONACYT FOINS-2015-01-006.



MA171

Seasonal patterns of community structure as revealed by shotgun metagenomics in the Comau Fjord, Northern Patagonia (42 °S)

Mendez Katterinne N¹, Sergio Guajardo-Leiva², Beatríz Díez², **Eduardo Castro-Nallar**¹. ⁽¹⁾ Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

Microbes are fundamental drivers of ecosystems and their activities shape the biogeochemistry of the planet. We used shotgun metagenomics to characterize microbial communities along the Comau Fjord in Northern Patagonia. We analyze microbial abundance patterns at two depths, 5 and 20 m, in 12 sites in Winter and Summer totaling 48 samples with a sequencing depth ranging from 20 to 50 M reads. Comparison with the Tara Oceans dataset (200+ worldwide samples) indicates that Comau Fjord samples are rather unique forming a distinct cluster. Differential abundance analysis and canonical corresponding analysis revealed that many important genera follow strong seasonal variation patterns driven by organic nutrient gradients. SEED subsystem annotation showed that functional potential did not change drastically between seasons suggesting that functional components of the community are more resilient. Co-occurrence patterns suggest that ecological interactions are season-specific with strong positive and negative correlations in both seasons. Finally, we make available 100+ genomes extracted from meta genomes, constituting the largest reference genome set of the region. This study is the largest microbial ecology analysis of the Comau Fjord.

ECN was funded by “CONICYT-FONDECYT de iniciación en la investigación 11160905”.

MA172

Estudio de proteómica comparativa de tres cepas del género *Exiguobacterium* con diferentes niveles de resistencia a arsénico, aisladas del Salar de Huasco – Desierto de Atacama

Juan Castro-Severyn¹, Coral Pardo-Esté¹, Valentina Gariazzo¹, Carolina Cabezas¹, Martial Séveno², Mathilde Decourcelle², Franck Molina³, Daniel Aguayo⁴, Francisco Remonsellez⁵, Laurence Molina³, Saavedra Claudia P¹.

⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Molecular, Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽²⁾ Plateforme de Protéomique Fonctionnelle (FPP), CNRS Institute of Functional Genomics (IGF), UMR5203 INSERM U661., Montpellier, FR. ⁽³⁾ Plateforme de Protéomique Clinique (PPC), Sys2Diag CNRS/Alcediag CNRS UMR3145, Montpellier, CL. ⁽⁴⁾ Centro de Bioinformática y Biología Integrativa., Universidad Andrés Bello Santiago, Chile., Santiago, CL. ⁽⁵⁾ Laboratorio de Tecnología de Membranas, Biotecnología y Medio Ambiente, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL.

Exiguobacterium es un género de poliextremofilos cuya fisiología le permite desarrollarse en ambientes adversos. El Salar de Huasco es uno de estos ambientes debido a su altitud, presión atmosférica, radiación solar, variaciones en temperatura, pH, salinidad y presencia de compuestos tóxicos como arsénico. Sin embargo, los mecanismos fisiológicos y/o moleculares a través de los cuales estas bacterias son capaces de prosperar en estos ambientes no han sido totalmente descritos. Nuestro grupo aisló 18 cepas de este género con diversos niveles de resistencia a As(III) y As(V) a partir de 5 sitios distintos del Salar de Huasco. En este trabajo planteamos describir los patrones de expresión proteica de tres cepas en respuesta a concentraciones subletales de arsénico. *E. sp.* SH31 (CMI: As(III) 10mM y As(V): 100mM); *E. sp.* HOS7 (CMI: As(III) 20mM y As(V): 150mM) y *E. sp.* H1S21 (CMI: As(III) 1mM y As(V): 150mM). Las bacterias fueron crecidas en tres condiciones: control, As(III) y As(V), para obtener los sobrenadantes proteicos. La separación se realizó en geles de electroforesis 2D, estandarizando las siguientes condiciones: 10 µg de proteína, rango de pH 4-7 (*ReadyStrip™ IPG Strips - Bio-Rad*), geles 12% / 11cm, 8.000 Vhrs, tinción con AgNO₃. Los geles fueron escaneados y las imágenes (.TIF) fueron analizadas con el software *Progenesis SameSpots (Nonlinear Dynamics, UK)*. En total fueron detectados 999 *spots* y 194 de estos mostraron algún nivel de diferencia significativa (entre cepas o entre tratamientos), 40 de estos fueron seleccionados para identificar (*Mass Spectrometry*). *ArsA* (ATPasa de la bomba de expulsión de As(III)) se encontró fuertemente inducida en respuesta a arsénico en las tres cepas, al igual que la coenzima A disulfuro reductasa (*Cdr*). Interesantemente, la piridoxal fosfato sintetasa (*PdsX*) solo se encontró inducida en la cepa más resistente. Adicionalmente, la mayoría de las proteínas mostraron represión frente a As (*XapA*, *DhaL*, *GcvP*, *RpoN*, *RpoC*, *ArcC*). Esto nos permite describir las rutas biológicas que están siendo activadas y reprimidas por estas cepas en presencia de arsénico, prosperando así en sus nichos específicos.

FONDECYT Regular 1160315; Núcleo UNAB DI-3-17/N; Doctorado Nacional CONICYT 2015 #21151217.

MA173

Análisis de la diversidad de arqueas metenogénicas asociadas a suelo Ñadi mediante PCR-DGGE en la Región de Los Lagos, Chile

Hanuxa Celedón^{1,4}, José Dorner², Oscar Thiers³, Oscar Martínez⁴. ⁽¹⁾ Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile. ⁽²⁾ Instituto de Ingeniería Agraria y Suelo, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽³⁾ Instituto de Sociedad y Bosque, Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽⁴⁾ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL.

Los suelos Ñadi son de origen volcánico (Andisol) y se caracterizan por tener un alto contenido de materia orgánica (~30%) y la presencia de un horizonte plácico, que impide la infiltración del agua. Debido a esto último, estos suelos permanecen anegados gran parte del año, formando un hábitat propicio para los microorganismos anaerobios, entre estos, las arqueas metanogénicas (AM) las cuales cumplen un rol fundamental en el ciclo del carbono del suelo. Debido a que no existen estudios sobre diversidad de arqueas en suelos Ñadi, el objetivo de este estudio fue analizar la asociación entre la diversidad de AM con los parámetros físicos y químicos del suelo Ñadi en dos usos de suelo, pradera y bosque. La diversidad se evaluó mediante PCR-DGGE utilizando como diana el gen 16S rARN de las AM. Las propiedades físicas y químicas del suelo fueron evaluadas de acuerdo a los métodos recomendados para suelos chilenos. El análisis de la asociación entre la diversidad de AM con las propiedades físicas y químicas del suelo se hizo mediante correlación de Spearman y análisis de componentes principales (ACP). Los resultados de esta investigación muestran la presencia de AM en ambos usos de suelo Ñadi. Sin embargo, la distribución de las comunidades de AM entre los sitios de pradera y bosque no presentaron un patrón definido. Por otra parte, el análisis de Spearman no evidenció correlación significativa entre los índices de diversidad con los parámetros físicos y químicos del suelo. A pesar de ello, el ACP mostró la asociación de ciertos factores físicos (humedad, densidad aparente, densidad real, porosidad total, contenido de agua en saturación, capacidad de aire, agua disponible para las plantas, permeabilidad de aire) y químicos (pH y materia orgánica) con los índices de diversidad y equidad de las comunidades de AM, tanto en pradera como en bosque. Los resultados de esta investigación, evidenciaron la presencia de AM en los usos de suelo Ñadi sin un patrón definido de distribución. Por otro lado, el ACP muestra que los parámetros físicos del suelo tendrían más influencia sobre la diversidad de las AM que los parámetros químicos del suelo.

FONDECYT 1130546 a cargo del Dr. Dorner.



MA174

Lactic acid bacteria: a potential inoculum grown in whey for the biocontrol of hazelnut bacterial diseases

Mariannys Chávez¹, Sharon Viscardi², Cristian Meriño², Paola Durán³. ⁽¹⁾ BIOREN, Laboratorio de Investigaciones en Biocontrol, Doctorado en Recursos Naturales, Universidad de La Frontera. ⁽²⁾ BIOREN, Universidad de La Frontera, Temuco, CL. ⁽³⁾ BIOREN, Biocontrol Research Laboratory, Universidad de La Frontera, Temuco, CL.

Developing biological control based on microorganisms is a practice that is gaining more and more supporters due to its multiple advantages for crops and the environment, but this practice is limited by the high costs of culture media to be used at a pilot scale. On the other hand, the persistence and resistance of microorganisms used in biocontrol are restricted, because most of these come from a different ecological niche. In this work, we isolated, characterized and identified lactic acid bacteria (LAB) from the endosphere, phyllosphere and rhizosphere of hazelnut, taking into account that LAB can exert an effective biocontrol on negative pathogenic bacteria in plants and have the ability to degrade lactose (predominant sugar in whey). Therefore, whey (the main waste of the dairy industry) could serve as a matrix to native LAB growth. In this context, we also analyze whey by Chromatographic analysis (HPLC-IR) and we made a microbial isolates growth kinetic curve by spectrophotometry using Multiscan go (Thermoscientific) in order to evaluate LAB growth, later compared to general media (nutrient broth). In the first screening, putative LAB were identified by Random Amplifying Polymorphic DNA (RAPD). Then, bacteria were identified based on partial sequencing of 16 S rRNA gene. According to the results, 7 LAB strains were identified as lactic and 10 were putative LAB, all isolated from the rhizosphere, endosphere, and phyllosphere of hazelnut. Kinetics curves of microbial isolates showed that most of the strains increased their cell density by growing in whey compared to nutrient broth. Considering that HPLC showed high concentration of lactose (~60 g/L). This study is a first approach to consider LAB as a putative biocontrol of gram (-) bacteria that affect hazelnut because of the great potential of LAB, their use as native microorganisms, and their growth capacity in whey, in order to scale the microbial production to be used at field conditions.

Proyecto CORFO.

MA175

Green or blue? Describing the Antarctic proteorhodopsin photosystem

Jerónimo Cifuentes¹, Alcamán-Arias María Estrella^{1,2,3}, Tomás Alarcón-Schumacher¹, Beatriz Díez^{1,2}. ⁽¹⁾ Department of Molecular Genetics and Microbiology, Pontificia Universidad Católica de Chile. ⁽²⁾ Center for Climate and Resilience Research (CR)2, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Department of Oceanography, Universidad de Concepción, Concepción, CL.

Proteorhodopsin (PR) is a retinal-containing integral membrane protein that functions as a light-driven proton pump with the potential to generate energy for cell growth or maintenance. PR comprises two main families of proteins that absorb light at different wavelength; 525 nm (green) and 490 nm (blue), advantage that makes them able to exploit different spectra of the sunlight. This shift relies on a single amino acid (Glutamine for blue-PR, and Leucine or Methionine for green-PR) at position 105 that functions as a spectral tuning switch. The combination of presence, transcriptional activity and taxonomic affiliation of the PR gene were investigated for the first time in coastal Antarctic waters during the austral summer in Chile Bay (Greenwich Island, Antarctic). We also identify the functional domain of the PR describing the amino acids that participate in the proton pumping and spectral tuning of PR. Our results demonstrate that there is a bacterial community represented by alpha-, gamma-proteobacteria and Flavobacteriia that presents, and actively transcribe green-PR and blue-PR during day- and night-time. All the PR retrieved in Chile Bay have the most conserved proton pumping residues: Aspartic-Threonine-Glutamic acid. Moreover, all green-PR and blue-PR bacteria genes of the biosynthetic pathway of retinal cofactor (*crtY*, *crtI*, *crtB*, *crtE* and *blh*) were found in the PR-bearing bacteria like *Polaribacter*, *Candidatus Pelagibacter* and SAR92. We also found that the gene of the enzyme 15,15'-beta-carotene dioxygenase (*blh*), which is the last enzyme in the biosynthetic pathway who cleaves beta-carotene producing all-*trans*-retinal, was also transcribed during day- and night-time, but in less abundance than PR. This demonstrate that both, PR and the enzyme who catalyze the synthesis of the PR-cofactor, are actively transcribed in coastal Antarctic waters. Therefore, "(photo) heterotrophic" bacteria such as *Polaribacter*, *C. Pelagibacter* and SAR92 present both PR and the biosynthetic pathway of retinal, allowing these bacteria to use PR as a light-driven proton pump to obtain energy from different spectra of the sunlight in coastal Antarctic waters.

Programa de Cooperación Internacional PCI: Project DPI20140044, Centro de Ciencia del Clima y la Resiliencia (CR)2: Project FONDAP 15110009.



MA176

Efecto del coctel de bacteriófagos SalmoFree® en el microbioma de pollos de engorde

Viviana Clavijo¹, Morales Laura Tatiana¹, Alejandro Reyes¹, Martha Vives-Florez¹. ⁽¹⁾ Ciencias Biológicas, Ciencias, Universidad de Los Andes, Bogotá, CO.

La OMS considera que *Salmonella* es uno de los patógenos transmitido por alimentos de mayor importancia. La ingestión de alimento de origen avícola contaminado es la causa principal de las infecciones. Igualmente, se ha incrementado la incidencia de *Salmonella* MDR, complicando su tratamiento. Esta problemática ha estimulado la búsqueda de nuevas estrategias para el control de esta bacteria en la cadena avícola. Los bacteriófagos, actuando como parásitos específicos de bacterias, se consideran actualmente una de estas alternativas, proponiendo su uso para terapia y profilaxis en animales de granja. Por otro lado, se ha propuesto que los fagos tienen el potencial de alterar la función y estructura de la microbiota. Teniendo en cuenta que la microbiota juega un papel importante en la salud de los pollos de engorde, al tener un impacto positivo en el sistema inmune, desarrollo fisiológico, nutrición y producción, la manipulación de comunidades microbianas a través de la fagoterapia podría ser una alternativa para mejorar la salud del pollo, así como para controlar patógenos humanos y de animales. La Universidad de los Andes en mayo de 2017 obtuvo la patente del producto SalmoFree® el cual es un coctel de fagos activos contra un amplio rango de serotipos de *Salmonella*, tanto las de importancia a nivel avícola como a nivel de salud pública. El objetivo del presente proyecto es evidenciar si la fagoterapia en pollos de engorde actúa como un mecanismo modulador del microbioma del tracto gastrointestinal del animal. Para esto, a partir de un ensayo en una granja comercial de pollos de engorde, se tomaron muestras de ciego de pollos de los galpones tratados con SalmoFREE® y de pollos de los galpones control. Estas muestras fueron empleadas para hacer extracción de ADN total, para luego construir librerías de 16S rADN que fueron secuenciadas (illumina). El análisis bioinformático de estas secuencias permitió determinar la composición del microbioma de los pollos tratados con respecto al control y de esta manera evidenciar las diferencias a nivel de alfa y beta-diversidad entre los grupos de tratamiento.

El Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia (Colciencias). Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

MA177

Diversidade de genes e micro-organismos envolvidos no ciclo do nitrogênio em águas residuais de mineração

Constancio Milena T. Lima¹, Kishi Luciano Takeshi¹, Fernandes Camila Cesario¹, De Sousa Jackson Antônio Marcondes¹, Lemos Eliana Gertrudes De Macedo¹, Alves Lúcia Maria Carareto¹. ⁽¹⁾ Technology, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista UNESP-FCAV, Jaboticabal, BR.

O impacto causado pela atividade mineradora tem sido objeto de pesquisas nos últimos anos, mas poucos estudos têm se centrado sobre o potencial ecológico da microbiota aquática principalmente quanto a prospecção de genes de interesse biotecnológico, dentre esses, genes relacionados ao ciclo do nitrogênio. Águas residuais de mineração podem conter altas concentrações de nitrogênio, provenientes de substâncias químicas utilizadas em processos de enriquecimento ou da detonação de explosivos que contêm nitrogênio. Apesar de ser um macro nutriente importante em sistemas aquáticos, o nitrogênio, quando presente em grandes quantidades, também pode ser um potencial risco ambiental, podendo causar eutrofização da água. Abordagens independentes de cultivo, contribuem de forma importante para a compreensão da diversidade e distribuição de genes e micro-organismos responsáveis pela ciclagem e remoção do nitrogênio em ambientes aquáticos, que acontecem através do processo de nitrificação e desnitrificação. Neste estudo, identificamos micro-organismos e genes participantes do ciclo do nitrogênio em comunidades microbianas em amostras de água de uma Cava de mineração em uma região anteriormente utilizada para extração de minério de ferro no Centro de Biodiversidade (CeBio) da empresa VALE/SA, em Sabará/MG. A análise foi realizada com dados metagenômicos obtidos através do sequenciamento do DNA total utilizando a plataforma ION Proton e para a prospecção de genes, foi utilizado o banco de dados SEED, disponível no servidor de análises metagenômicas MG-RAST. Importantes gêneros de bactérias e arqueias relacionadas ao ciclo do nitrogênio foram identificados, como, por exemplo, *Cenarchaeum*, *Candidatus Nitrososphaera*, *Nitrosopumilus*, *Thermocladium*, *Rhizobium*, *Bacillus*, *Thiobacillus*, *Pseudomonas* e *Nitrosococcus*. Através do banco de dados SEED foi identificada a presença de vários genes envolvidos com a utilização de alantoína (6,3%), assimilação de amônia (58,5%), hidrólise de cianato (3,2%), desnitrificação (0,7%), amonificação de nitratos e nitritos (27,4%), síntese de óxido nítrico (3,2%) e estresse nitrosativo (0,6%). Estes resultados expandem os conhecimentos sobre a estrutura e capacidade funcional das comunidades microbianas quanto ao ciclo global do nitrogênio. Além disso, nossos resultados servem de base para o estudo de técnicas de remoção biológica do nitrogênio em águas residuais, tendo em vista os custos envolvidos, a complexidade do processo e a eficiência requerida.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP - VALE (Processo nº 2010/51316-0,2014/07592-3).

MA178

Incurción en el estudio de señalización por Quorum Sensing entre las poblaciones bacterianas que conforman un consorcio bacteriano degradador de fenantreno

Inés Velloso¹, Esteban Nieto¹, **Bibiana Coppotelli**¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales CINDEFI (UNLP; CCT-La Plata, CONICET), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, AR.

A través de la señalización mediada por quorum (QS) un consorcio bacteriano es capaz de generar un comportamiento cooperativo otorgándole a las poblaciones bacterianas una ventaja competitiva, lo que permitiría un nuevo enfoque para el desarrollo de la tecnología de biorremediación. Nos enfocamos en el estudio de la capacidad de producir Homoserino Lactonas (HSL; moléculas responsables de la comunicación intercelular) en las cepas *Burkholderia* sp. (Bk), *Klebsiella* sp. (B), *Pseudomonas* sp. (T y Bc-h), *Inquilinus limosus* (I) y *Sphingobium* sp. (AM), aisladas a partir de un consorcio natural degradador de fenantreno. En este trabajo se presenta el análisis de los genomas de las cepas aisladas en los que se identificaron *in silico* genes codificantes relacionados con la producción de HSL. Esto se correlacionó con la detección de HSL en cultivos utilizando cepas biosensoras de *Chromobacterium violaceum* y con la identificación de HSL con el uso de cromatografía en capa fina (TLC). El análisis de los genomas empleando el algoritmo BlastP frente a la base de datos de GenBank, mostró que la cepa AM es la única que cuenta con capacidad de sintetizar HSL tipo LuxI; que las cepas Bc, T y AM tienen los genes para generar una respuesta frente a la señal de HSL; y que la cepa T presenta un sistema capaz de inhibir la señalización por HSL. La cepa B es capaz de sintetizar autoinductores-2, un tipo de molécula señal interespecie. En el bioensayo utilizando las bacterias biosensoras *C. violaceum* CV026 y VIR07, se observó producción de violaceína (resultado positivo) en los cultivos de la cepa AM, la cepa Bk y en el co-cultivo de AM-Bk en fenantreno. En el ensayo por TLC para la HSL de la cepa AM se observó un R_f cercano al patrón de 7 carbonos. Estos resultados indicarían que existe una comunicación por QS entre las cepas que componen el consorcio, que podría modular su respuesta frente a la degradación de hidrocarburos policíclicos aromáticos.

Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2013-0103), CONICET, UNLP.

MA179

Genes implicados en ciclaje biogeoquímico en simbioses de esponjas Antárticas

Antonia Cristi¹, Mario Moreno-Pino¹, Nicole Trefault¹. ⁽¹⁾ GEMA Center for Genomics, Ecology & Environment, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, CL.

Las esponjas son miembros importantes de los ecosistemas marinos, cumpliendo roles a nivel de estructuración de ecosistemas y reciclando nutrientes a través del “*sponge-loop*”. Las esponjas albergan una cantidad considerable de microorganismos pertenecientes a los 3 dominios de la vida, llegando a ocupar el 40% del volumen de estos animales. Dichas comunidades asociadas participan activamente en el ciclaje de nutrientes a través de diversas rutas biogeoquímicas y de esta forma participan en el acoplamiento bentónico-pelágico. El estudio del microbioma de esponjas marinas ha sido realizado principalmente en ambientes tropicales y templados, sin embargo sabemos poco del rol funcional de dichos microorganismos en Antártica. En este trabajo, se realizaron análisis metagenómicos de las comunidades microbianas asociadas a las esponjas: *Myxilla* sp. y *Leucetta antartica*, colectadas desde Bahía Fildes, Antártica. Este estudio mostró la presencia de genes claves para el ciclaje de nitrógeno e.g. oxidación de amonio, desnitrificación y degradación de urea. Adicionalmente se verificó la presencia de algunos de estos genes y se estimó su abundancia dentro del microbioma de *Myxilla* sp. y *L. antartica*. Para esto se diseñaron primers específicos para los genes *amoA*, *nirK* y *ureC* usando las secuencias obtenidas desde los metagenomas de comunidades asociadas a dichas esponjas y desde la base de datos NCBI. Posteriormente se realizaron análisis por medio de qPCR, de forma de validar la presencia y estimar el número relativo de copias de dichos genes en ambas esponjas. En concordancia con los análisis metagenómicos, los resultados de PCR y qPCR confirmaron la presencia de los genes *amoC* y *nirK* en ambas esponjas, mientras que *ureC* fue detectado únicamente en *Myxilla* sp. Además se observó que *L. antartica* posee el doble de número de copias del gen *amoC* en relación a *Myxilla* sp. Estos resultados demuestran que a pesar de que ambas esponjas poseen genes para realizar la oxidación de amonio, este proceso se ve favorecido en el microbioma de *L. antartica*. En conjunto, estos datos destacan la participación del microbioma asociado a esponjas Antárticas en el ciclaje de nitrógeno y abre preguntas acerca del rol que estos organismos simbioses desempeñan en el ambiente antártico.

INACH DG_12-17, INACH RT_34_17.

MA180

Caracterização genômica de microrganismos nas galerias da usina hidrelétrica de Tucuruí

Pinheiro Isabel Cruz¹, Cuoco Cassia M¹, Thayana Walsh¹, Das Graças Diego Assis¹, Artur Luiz Da Silva¹. ⁽¹⁾ Centro de Genômica e Biologia de Sistemas, Universidade Federal do Pará, Belém, BR.

O Estado do Pará é um dos maiores geradores de energia hidrelétrica do Brasil e do mundo. Isso inclui a Usina Hidrelétrica de Tucuruí, considerada a maior do país e a quinta maior do globo. Os biofilmes são formados a partir de células livres ou agregados de matriz extracelular de outros biofilmes com células em seu interior que aderem algum substrato sólido. Entre seus benefícios, tendem a decompor a matéria orgânica morta, disponibilizando nutrientes inorgânicos que retornam às cadeias alimentares, além de serem aplicados na biorremediação. Entre os prejuízos, podem provocar corrosão que leva a entupimentos e incrustações. O concreto é considerado um material bastante biorreceptivo ao ataque microbiológico. O objetivo do trabalho foi isolar e caracterizar o genoma de microrganismos nas galerias da UHE de Tucuruí utilizando abordagem metagenômica. As galerias subterrâneas onde foram realizadas as coletas de material biológico encontram-se a -30,3 m de profundidade em relação à superfície. Neste local a umidade do ar é de 99% e a temperatura média de 31,8°C. Os microrganismos foram isolados e seu DNA foi extraído e sequenciado em plataforma Ion Torrent™ PGM™ com o Ion 318™ Chip Kit v2. As leituras obtidas foram submetidas ao programa SPAdes para correção de possíveis erros ocasionados pela plataforma. O processo de montagem foi realizado a partir do programa KmerGenie. As leituras obtidas dos sequenciamentos foram submetidas ao portal MG-RAST para controle de qualidade, análise de diversidade e anotação funcional. Os dados contem 1.648.284 sequências, totalizando 265.680.450 pares de base e tamanho médio de 161 bps. Das leituras funcionais preditas pelo banco de dados do KEGG, 56,92% se referem ao metabolismo, 17,68% são informações ambientais e 16,68% informações genéticas. Das leituras, 13,86% estão relacionadas ao metabolismo de carboidratos e 12,74% ao de aminoácidos. Firmicutes foram equivalentes a 99,49% dos filos apresentados, sendo 80,78% do gênero *Lysinibacillus* e 11,47% *Bacillus*. Foi possível constatar que a comunidade microbiana presente no biofilme de galerias da UHE de Tucuruí é dominada por Firmicutes, enquanto que a análise funcional destacou a abundância de genes ligados ao metabolismo de carboidratos.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

MA181

Presencia y diversidad de sistemas CRISPR-Cas en bacterias aisladas desde ambientes acuáticos extremos del norte de Chile

Shelsy Cuellar^{1,2}, **Drina Vejar**^{1,2,3}, **Gonzalo Icaza**^{1,2,3}, **Cristina Dorador**^{1,2,3}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽³⁾ Centre for Biotechnology & Bioengineering, (CeBiB) Santiago Chile, Santiago de Chile, CL.

Los sistemas CRISPR-Cas tienen un importante rol en la inmunidad adaptativa en ambientes naturales. Estos sistemas han sido detectados en el 50% de los genomas disponibles del dominio Bacteria y en un 87% de los genomas de Archaea (principalmente extremófilos) los cuales cumplen una función clave en las interacciones bacteria-virus en la naturaleza. Actualmente existe un gran interés por describir nuevos sistemas CRISPR-Cas debido a sus posibles aplicaciones biotecnológicas, principalmente como herramienta en la edición de genes para la prevención y tratamiento de enfermedades. Los ambientes (poli)extremos del norte de Chile son heterogéneos y presentan condiciones ambientales como: alta radiación solar (600-1100 W m⁻²), cambios extremos de temperatura durante el día (-10 a +25°C) y un amplio rango de salinidad (desde agua dulce a salmueras) en una misma cuenca, lo cual los hace un lugar ideal para estudiar nuevos microorganismos y sus novedades genéticas. Para estudiar la diversidad de sistemas CRISPR-Cas en muestras ambientales desde ambientes extremos, es necesario contar con una base genómica de referencia de bacterias cultivadas desde estos ecosistemas. Por esta razón, en este trabajo se analizaron 10 cepas previamente cultivadas en medio Nutrient Broth (Difco) y Marine Broth (Difco) a 25°C desde el Bofedal en Piacota y la Laguna Cotacotani, situadas en el Parque Nacional Lauca a 4500 m.s.n.m. Las cepas fueron identificadas mediante análisis de la secuencia del gen 16S rRNA y corresponden a *Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Rahnella*, *Psychrobacter*, *Rheinheimera*, *Comamonas*, *Roseicyclus*, *Hoeflea* y *Brevundimonas*. Actualmente se está analizando el genoma de estas bacterias para determinar la presencia y diversidad de sistemas CRISPR-Cas. Información preliminar señala que ellas presentarían sistemas CRISPR-Cas, en particular aquellos denominados CRISPR-Cas I-E e I-F. Es de esperar que esta nueva información permita ampliar el conocimiento respecto a la presencia de nuevos sistemas CRISPR-Cas en Bacteria y Archaea desde ambientes extremos, los cuales serían claves en el diseño de nuevas estrategias de edición de genes.

Fondecyt 1181773, CeBiB FB0001.

MA182

Associação benéfica de plantas aquáticas e bactéria promotora do crescimento vegetal resistente a cobre

Silva Jussara Tamires De Souza¹, Intorne Aline Chaves². ⁽¹⁾ Av. Alberto Lamego, 2000 - Parque Califórnia Campos dos Goytacazes - RJ CEP: 28013-602, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro- UENF, Campos dos Goytacazes, BR. ⁽²⁾ Direção de Ensino, Instituto Federal do Rio de Janeiro IFRJ, Niterói, BR.

A produção contínua de resíduos gerados por práticas antropogênicas leva a contaminação do ambiente aquático por metais como o cobre, que em alta concentração tem efeito nocivo para o ecossistema. A fitorremediação utilizando plantas aquáticas como *S. auriculata* tem se mostrado um método eficaz na remoção desses contaminantes, sendo potencializada pelo uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal. O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial para promoção do crescimento vegetal e biorremediação de cobre por bactérias benéficas associadas a *S. auriculata*. Inicialmente, realizou-se o isolamento das bactérias em meio DYGS. Avaliou-se a produção de compostos indólicos pelo do método de Salkowsky, fixação biológica de nitrogênio, utilizando-se os meios semisólidos JMV, NFB e JNFb e ensaio de Concentração Inibitória Mínima (CIM), adicionando-se cobre (1 a 9 mM) em meio DYGS sólido. O isolado que apresentou maior resistência foi inoculado na planta utilizando-se 500 mL de solução de Hoagland, 1 g de planta e tratamentos contendo Cobre e Cobre + isolado. Após 8 dias em casa de vegetação, foram avaliados: peso fresco, seco, teor de clorofila e eletrólitos. Foram isoladas 18 bactérias identificadas por sequenciamento do gene 16S rRNA: (1) *Agrobacterium tumefaciens* (1) *Bacillus megaterium* (1) *Bacillus toyonensis* (1) *Bacillus* sp. (1) *Pantoea* sp. (2) *Enterobacter* sp. (1) *Siccibacter colletis* (1) *Curtobacterium albidum* (2) *Curtobacterium* sp. (2) *Pseudomonas aeruginosa* (1) *Pseudomonas fulva* (1) *Pseudomonas mosselii* e (3) *Stenotrophomonas* sp. 12 isolados fixaram nitrogênio, 8 isolados produziram compostos indólicos. As bactérias mais resistentes a cobre foram 4 isolados sendo 1 utilizado nos ensaios de inoculação. As plantas inoculadas com a bactéria na presença do cobre apresentaram aumento significativo ($p \leq 0,05$) de peso fresco 51,67%. Peso seco 62,5%, teor de clorofila a 18,31% clorofila b 47,56% carotenóides 4,69%. Os eletrólitos aumentaram 83,24% na presença do cobre e na presença do cobre com bactéria esses foram reduzidos. Dessa forma, foi possível encontrar bactérias promotoras do crescimento vegetal e resistentes a cobre associadas com *S. auriculata*, e também obter um isolado candidato para tornar processos de biorremediação de efluentes mais eficientes.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF.

MA183

Fungos solubilizadores de fosfato em solos agricultáveis de diferentes regiões do Centro Oeste Brasileiro

Guilherme Debiazi Beloni¹, Bárbara De Motta Silva¹, Milton Ferreira Moraes¹, Daniela Tiago Da Silva Campos¹.

⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia do Solo, Faculdade de Agronomia e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, BR.

Os microrganismos solubilizadores de fosfato possuem a capacidade de transformar o P não lábil para a forma lábil disponível para as plantas, e possuem um grande potencial para serem utilizados em larga escala nas lavouras de soja e milho, bem como em outras. Este trabalho tem como objetivo quantificar o número de unidades formadoras de colônias de fungos solubilizadores de fosfato de solos coletados sob lavouras de soja na região centro oeste do Brasil, na safra 2016/17. Para isto, amostras de solos oriundas de diferentes locais de produção agrícola comercial foram coletadas na profundidade de 0-20 cm. Os solos foram coletados em Primavera do Leste, MT; Corumbá, GO; Barra do Garças, MT; Nova Xavantina, MT e São Gabriel do Oeste, MS. Em laboratório, o solo foi peneirado e realizou-se a diluição seriada das amostras, com o subsequente plaqueamento em meio de cultura para solubilizador de fosfato. As placas foram incubadas à 28 °C por 7 dias e a contagem das colônias dos fungos solubilizadores de fosfato foi feita manualmente, sendo a colônia do fungo solubilizador de fosfato caracterizada pela formação de um halo transparente ao redor da colônia. Os resultados demonstram que a maior quantidade de fungos foi encontrada no solo de Barra do Garças, MT, com $1,0 \times 10^4$ UFC mL⁻¹; seguido de Primavera do Leste, MT, com $1,1 \times 10^3$ UFC mL⁻¹; Nova Xavantina com $1,0 \times 10^3$ UFC mL⁻¹; Corumbá com $2,5 \times 10^2$ UFC mL⁻¹, Primavera do Leste amostra 2 com $2,0 \times 10^2$ UFC mL⁻¹, e o menor número de colônias foi no solo de São Gabriel do Oeste com $1,3 \times 10^2$ UFC mL⁻¹. O segundo passo do trabalho está sendo realizado, que é a avaliação da quantificação da solubilização dos isolados fúngicos. Utilizar microrganismos solubilizadores de fosfato auxilia em ganhos para a fertilidade do solo, podendo reduzir a quantidade de adubação fosfatada para culturas as comerciais, além de reduzir o custo de produção, evitando até mesmo a contaminação do lençol freático devido ao excesso deste elemento.

MA184

Resucitación de microorganismos de suelos hiperáridos del Norte de Chile

Cecilia Demergasso¹, Cinthya Tebes-Cayo¹, Julia Neilson², Escudero-González Lorena V¹, Alex Echeverría-Vega¹, Guillermo Chong-Díaz³, Raina Maier². ⁽¹⁾ Centro de Biotecnología, Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo Tecnológico, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Department of Soil Water and Environmental Science, University of Arizona, Tucson, US. ⁽³⁾ Departamento de Geología, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL.

La caracterización del microbioma de suelos del Desierto de Atacama ha demostrado una correlación significativa entre la humedad relativa y la diversidad y la abundancia de los filos microbianos que predominan en suelos. Por otro lado, se ha observado una disminución de la conectividad de la comunidad en la transición de suelos áridos a hiperáridos que podría comprometer la resiliencia de la comunidad. Una vez identificados los filos que componen el microbioma nos preguntamos si los microorganismos recuperados en el análisis de DNA están activos, en estado de dormancia, si son simplemente restos de microorganismos o están ahí debido a fenómenos de transporte. Para responder esta pregunta realizamos experiencias de resucitación en microcosmos, que se mantuvieron con un 5% de humedad, con muestras de suelos hiperáridos del transecto previamente estudiado entre 24.1 y 24.6° de latitud Sur y que cuenta con monitoreo ambiental continuo desde 2012. Las experiencias se hicieron en triplicado y se usó un control sin agregado de agua. Para evaluar el crecimiento se hizo recuento celular mediante Q-PCR con primers universales para Bacteria y Archaea, incorporando los controles respectivos. También se analizó la composición de la comunidad luego de la incubación mediante secuenciación de los genes 16S con Illumina-MiSeq y un protocolo diseñado para muestras con muy bajo contenido de DNA. Se complementó la aproximación utilizando cultivo sobre filtro, tinción DAPI y Q-PCR como una forma alternativa de estimar el crecimiento celular. Se analizó también el contenido de agua y de sales y la conductividad de los suelos de los tres sitios. El análisis estadístico de los datos permitió confirmar el crecimiento de células pertenecientes al Dominio Bacteria en dos de los tres microcosmos en presencia de humedad. La diversidad microbiana de estas muestras permite identificar las poblaciones que se activan en presencia de niveles de humedad semejantes a los alcanzados en eventos de precipitación en la zona, de acuerdo a los registros de la estación de monitoreo de los mismos sitios. La composición de sales de las muestras podría ser una de las causas del comportamiento diferencial de las mismas en el proceso de resucitación.

MEL N° 32002137.

MA185

Identificación de la microbiota total presente en muestras de pacientes con osteomielitis del pie diabético

Leonor Díaz Velis¹, Patricia Pozo¹, Alfonso Prieto², Francisco Salvador³, Martha Hengst⁴. ⁽¹⁾ Ciencias Farmacéuticas, Ciencias, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Medicina, Medicina y Odontología, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽³⁾ Dr. Leonardo Guzmán, Hospital Regional de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽⁴⁾ CEBIB-Centro de Biotecnología y Bioingeniería, Universidad de Chile, Antofagasta, CL.

La osteomielitis es una de las complicaciones más graves de la diabetes, corresponde a una inflamación ocasionada por la infección del hueso y la médula del hueso, como consecuencia del compromiso neuropático de los pies en úlceras del pie diabético. La osteomielitis del pie diabético (OPD) es una de las infecciones de partes blandas más frecuentes en pacientes diabéticos y el riesgo de amputación es 4 veces mayor respecto de aquellos en los que sólo se producen úlceras de tejidos blandos; por lo que el diagnóstico temprano y el tratamiento apropiado son necesarios para reducir las consecuencias de esta enfermedad. No obstante, la microbiota asociada a la OPD es en su mayoría desconocida. La OPD es de origen polimicrobiano y los microorganismos (MO) aislados con mayor frecuencia son *Staphylococcus aureus* (20% de los casos), *Streptococcus* sp. (10%), y en menor frecuencia las especies *Proteus* spp. (6,1%), *Pseudomonas aeruginosa* (3,7%), *Klebsiella* sp. (2,3%), y *Acinetobacter baumannii* (1,9%). Sin embargo, se cree que la abundancia de anaerobios está subestimada (<4%) y que existe una gran diversidad aún no detectada por métodos de cultivo convencionales, puesto que <1% de los microorganismos que colonizan el cuerpo humano no son cultivables. Más aún, el Hospital Regional de Antofagasta (HRA) ha realizado modificaciones empíricas en los protocolos de tratamiento establecidos por el MINSAL, mejorando la eficacia y reduciendo los tiempos de hospitalización, sugiriendo que los MO detectados no son los más relevantes en la definición del tratamiento antimicrobiano. En este trabajo se realizó la determinación de la microbiota total, cultivable y no cultivable, presente en muestras de hueso de pacientes diabéticos (Wagner 3 y 4) diagnosticados con osteomielitis. Para ello, a partir de muestras de hueso se caracterizó la microbiota total mediante secuenciación masiva del gen 16S ARNr con Illumina HiSeq. Los resultados obtenidos identifican microorganismos desconocidos hasta ahora y prevalentes en la infección, los cuales pueden constituir nuevos blancos terapéuticos para dirigir la terapia antimicrobiana en OPD y así disminuir la tasa de amputación en estos pacientes.

Proyecto Semilla 2017 – UCN.



MA186

Bacterias halófilas aisladas a partir de salinas y manatales salinos de origen continental en Cusco, Perú

Elorrieta Paola EJP¹, Quispe Ricalde Maria A², Pedro Romoacca³, Sierra José Luis¹, Ingrid Vera³, Pilar Foronda⁴, Enrique Martínez⁴, Basilio Valladares⁴. ⁽¹⁾ Escuela Profesional de Biología, Ciencias, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Cusco, PE. ⁽²⁾ Escuela Profesional de Biología, Ciencias, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Cusco, PE. ⁽³⁾ Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Ciencias de la Salud, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Cusco, PE. ⁽⁴⁾ Instituto Universitario de Enfermedades Tropicales y Salud Pública de Canarias, Universidad de La Laguna, Tenerife, ES.

Las bacterias halófilas son consideradas microorganismos que habitan de forma nativa ambientes salinos en donde la concentración de sales supera los 3.5% de NaCl y son incapaces de crecer sin la presencia de sal en su medio. En Cusco (Perú) son casi nulos los reportes de caracterización e identificación de estas bacterias, y por las condiciones geográficas de estos ambientes, como son los factores de salinidad, composición iónica, temperatura, pH y nutrientes influenciados por la altitud y el clima, cobran importancia en el ámbito, ecológico, biotecnológico y de diversidad microbiológica. Este estudio se enfoca en la identificación de bacterias halófilas en tres puntos geográficos diferentes del Departamento de Cusco, con el objetivo de identificar los géneros y especies que habitan estos ambientes salinos extremos, la técnica utilizada fue la secuenciación de las regiones hipervariables V1-V4 del gen ribosomal rRNA 16S. Como resultado de este análisis se describen por primera vez para estos ambientes salinos 9 géneros y 14 especies: *Oceanobacillus recens*, *Halobacillus karajensis*, *Chromohalobacter canadensis*, *Rhodovibrio salinarum*, *Salicola salis*, *Halomonas elongata*, *Halomonas caseinilytica*, *Halomonas taeanensis*, *Arhodomonas recens*, *Chromohalobacter salexigens*, *Chromohalobacter israelensis*, *Ralstonia mannitolilytica*, *Salinivibrio costicola subps. Alcaliphilus* y *Halomonas eurihalina*. Este es el aporte al conocimiento científico de la diversidad bacteriana para seguir apostando por el estudio de las mismas y su utilidad en los ámbitos mencionados líneas arriba.

PROYECTO “SECUENCIACIÓN DEL METAGENOMA DE AMBIENTES SALINOS DEL DEPARTAMENTO DEL CUSCO”, FONDECYT.

MA187

Bacterial community composition in drinking water sources of a Brazilian tourist city

Oliveira Anna G. G.¹, Dias Marcela F.⁴, Ferreira João F. G.¹, Lanna Maria C. S.², Fernandes Gabriel R.³, Nascimento Andréa M. A.⁴, Magalhães Paula P.¹, Farias Luiz M.¹. ⁽¹⁾ Department of Microbiology, ICB, UFMG, Belo Horizonte, BR. ⁽²⁾ Department of Biological Sciences, ICEB, UFOP, Ouro Preto, BR. ⁽³⁾ Bioinformatics Center, René Rachou Institute/ FIOCRUZ, Belo Horizonte, BR. ⁽⁴⁾ Department of General Biology, ICB, UFMG, Belo Horizonte, BR.

Surface freshwater and groundwater are often used as sources of drinking water and are important aquatic ecosystems that harbor a complex microbial diversity directly related to public health. Advances in molecular methods such as next generation sequencing (NGS) introduced new opportunities for water quality assessment through the analysis of waterborne microbial communities, in addition to the commonly evaluated indicators, providing new insights into the microbial ecology processes that influence the quality of freshwater. In this study, the bacterial community composition and its association with the quality of freshwater environments were investigated by 16S rDNA gene-based next-generation sequencing of drinking water from public and alternative surface water and groundwater sources from Ouro Preto, an important tourist city located in the Southeast Region of Brazil. The bacterial diversity was high in surface water sources independent of season and the composition of these communities was similar. However, in the groundwater sources, the diversity increased significantly in the rainy season. Taxonomic composition of drinking water samples exhibited a dominance of Proteobacteria phyla, Betaproteobacteria class, except for groundwater samples that exhibited a predominance of Firmicutes phyla, Bacilli class in the dry season. The studies on the relationship between quality water parameters and bacterial communities in drinking water sources showed that the classes Bacteroidia, Clostridia, Gammaproteobacteria and Flavobacteria and the genera *Bacteroides*, *Acinetobacter*, and *Clostridium* were strongly related to the organic pollution parameters. Bacilli, *Enterococcus* and *Bacillus* were associated with conditions observed in groundwater in the dry season, low pH and DO. South African Gold Mine, archaea representative, Nitrospira and Acidobacteria were associated with conditions detected in groundwater at the rainy season, low pH, arsenic, and nitrate. Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, and Cytophagia were positively related with surface water sources presenting adequate physicochemical parameters, such as pH and ORP. Several potential pathogens genera and fecal indicators were detected and confirmed the quality water parameters data demonstrating the potential risk posed by many water sources water, mainly alternative sources that are not submitted to adequate treatment.

CAPES, CNPq, FAPEMIG, and PRPq/UFMG.



MA188

Dispersión de potenciales bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) a lo largo de hifas fúngicas en compost y suelo rizosférico enmendado con compost

Susett Gonzalez¹, Marcia Astorga¹, Prabhakaran Renganathan¹, Lukas Wick², **Milko Alberto Jorquera**³. ⁽¹⁾ Programa de Doctorado en Ciencias de Recursos naturales, Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, CL.

⁽²⁾ Department of Environmental Microbiology, Helmholtz Centre for Environmental Research, Leipzig, DE.

⁽³⁾ Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, CL.

El compostaje es un proceso mediante el cual desechos orgánicos son transformados en fertilizantes orgánicos por la acción de microorganismos benéficos. Así, el compost es aplicado mundialmente a diferentes cultivos agrícolas. Sin embargo, las interacciones entre hongos y bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) en el compost y suelos rizosféricos han sido poco estudiadas. La dispersión bacteriana a lo largo de las hifas de hongos filamentosos ha demostrado ser importante en la bioremediación de suelos contaminados. Pero, el conocimiento sobre este fenómeno en los suelos agrícolas es muy limitado, a pesar de que los hongos podrían ser importantes en la dispersión y colonización de PGPR en la rizósfera. El objetivo de este estudio fue determinar la dispersión de rizobacterias a lo largo de las hifas fúngicas en el compost (C) y en suelos rizosféricos compostados (SRC). La estructura de la comunidad microbiana fue analizada mediante electroforesis en gel con gradiente desnaturante (PCR-DGGE); y un sistema de columnas para carreteras de hongos (FHCS) fue empleado para aislar y evaluar la dispersión bacteriana desde el C y el SRC hacia medios de cultivo (PDA) a lo largo del micelio fúngico. Los resultados de PCR-DGGE mostraron diferencias en la estructura de la comunidad microbiana difirió entre las muestras del C y del SRC. Los géneros bacterianos *Bacillus*, *Microbacterium* y *Pseudomonas* (comúnmente reportadas como PGPR) asociados a los géneros fúngicos *Aspergillus* y *Mucor* fueron aislados mediante el FHCS. Interesantemente, la dispersión de bacterias a lo largo del FHCS no fue observado en ausencia de hongos; mientras que la microscopía confirmó la presencia y la dispersión de células bacterianas en la capa de líquido asociada a las hifas de los hongos. Finalmente, cuatro parejas hongo-bacteria, capaces de mantener una asociación de dispersión positiva, fueron seleccionado para la posterior caracterización de sus potenciales rasgos PGPR.

Fondecyt Regular no. 1160302 y Beca Conicyt de Doctorado Nacional no. 21160935.

MA189

The increase in the respiratory rate is a mechanism to deal against chloride in the acidophilic *Leptospirillum ferriphilum* DSM14647

Javier Ignacio Rivera¹, Gloria Levican Jaque¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL.

In acidophilic microorganisms the chloride stress has a dual effect involving osmotic stress and acidification of the cytoplasm. The chloride toxicity is due to its capacity to cross the cell membrane, and thus generate disruption of the internal positive membrane potential, which allows an influx of protons and the subsequent intracellular pH decrease. A proteomic study in an acidophilic halotolerant microorganism showed an increase in levels of proteins for iron oxidation respect to its non-tolerant counterpart. This fact has been suggested to be involved in proton extrusion and intracellular pH regulation. In this work we have approached this hypothesis by comparison of tolerance, oxygen consumption and intracellular pH of adapted to grow in 180 mM NaCl and non-adapted cells of *L. ferriphilum* DSM14647. Tolerance to NaCl was estimated by measuring minimal inhibitory concentration at different pH values. Oxygen consumption of cells was measured by an optical system, and intracellular pH was determined by using the fluorescent probe pHrodo™. The results showed that in adapted cells, NaCl MICs increased twice respect to cells that were not adapted to NaCl at both pH 1.4 and 1.8. In similar way, the respiratory rate increased significantly from 1×10^{-9} to 2×10^{-9} [O₂·cell⁻¹·s⁻¹] in adapted cells respect to those not adapted when they were exposed to 100 mM NaCl at pH 1.8. In agreement with these results, the adapted cells could keep internal pH near to neutrality, while the not adapted cells were unable to keep pH balance when they were exposed to 100 mM NaCl at pH 1.8. These results suggest that the increase in respiratory rate could represent a mechanism for pH homeostasis and NaCl tolerance in acidophiles.

Conicyt (JR), Fondecyt 1170799.



MA190

Bacterias reductoras de cromo VI en aguas residuales de empresas curtidoras: aislamiento e identificación

Patricia Landázuri¹, **Nelsy Loango Chamorro**², Beatriz Restrepo Cortés¹. ⁽¹⁾ Grupo de Investigaciones en Enfermedades Cardiovasculares y Metabólicas, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad del Quindío, Armenia, CO. ⁽²⁾ Grupo de Investigación en Ciencias Básicas y Educación, Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías, Universidad del Quindío, Armenia, CO.

Los ambientes contaminados son habitados por una serie de microorganismos cuya evolución los ha habilitado para sobrevivir a estas condiciones estresantes, ellos degradan los compuestos tóxicos para su sobrevivencia. Las aguas residuales de las empresas curtidoras con frecuencia contienen metales pesados como el cromo VI que son altamente tóxicos para la salud humana y animal y en estas aguas sobreviven distintos microorganismos. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar bacterias resistentes a cromo VI de las aguas residuales de una planta de tratamiento de empresas curtidoras del departamento del Quindío. Las bacterias fueron aisladas por métodos tradicionales hasta obtener colonias puras. De los aislados bacterianos 32 fueron viables y metabólicamente activas, pero solamente 12 aislados fueron capaces de sobrevivir a concentraciones crecientes de cromo VI (100 a 500 ppm). Los aislados mostraron máximo crecimiento a las 12 horas a 37 °C y pH 7.0 en medio BHI (Brain Heart infusion) sin cromo, pero en el mismo medio con cromo las bacterias crecieron más lentamente (máximo 36 horas). Todos los aislados fueron capaces de reducir cromo VI (muy tóxico) a cromo III (menos tóxico). Todos los aislados fueron caracterizados bioquímicamente con el propósito de identificarlos; los resultados muestran que los aislados correspondían a *Klebsiella* sp. (7 aislados), *Serratia* sp. (1 aislado), *Veillonella* sp. (2 aislados), *Moraxella* sp. (1 aislado) y *Raoultella* sp. (1 aislado). Conclusiones: Las bacterias aisladas pueden ser explotadas para la bioremediación de cromo VI contenido en aguas residuales del sector curtiembres, por su resistencia al metal y su alto potencial descontaminante.

Agradecimientos: Sistema General de Regalías-Colombia. Gobernación del Quindío-Colombia; Universidad del Quindío. Empresas curtidoras de la María-Quindío.



MA191

Determinación de la diversidad de especies de hongos filamentosos asociados a la flora nativa y nativa endémica del Parque Nacional Bosque Fray Jorge, Chile

Lila Vanessa Olivares¹, Bárbara Marambio¹, Yanssuy Lagües¹, Verónica Plaza¹, Luis Castillo¹. ⁽¹⁾Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena, La Serena, CL.

A nivel mundial se han realizados diversas investigaciones para determinar la diversidad de los hongos que habitan en distintos hábitats, como por ejemplo en el suelo, en los océanos, así como en los bosques. Chile presenta una gran diversidad de flora endémica que se encuentra principalmente ubicada entre las regiones de Arica y Parinacota y Región de Coquimbo. Dentro de las regiones con mayor diversidad encontramos la Región de Coquimbo, donde se localiza el Parque Nacional Bosque Fray Jorge, que se caracteriza por presentar una precipitación media anual de 113 mm y una humedad relativa media de 85%, condiciones ideales para el crecimiento de hongos. El objetivo de este trabajo fue identificar y caracterizar la diversidad de especies de hongos filamentosos cultivables asociados a la flora nativa y nativa endémica del Parque. Para ello, se analizaron 16 especies de plantas por triplicado que pertenecen al bosque y matorral. La identificación del género de las cepas aisladas fue mediante la secuenciación de ITS. Un total de 40 cepas de hongos filamentosos fueron identificadas mediante esta técnica. Por otro lado, se evaluó la presencia de dos transposones Boty y Flipper en el genoma de todos los aislados; estudios anteriores realizados tanto en nuestro laboratorio como en otras investigaciones determinaron que estos transposones no son exclusivos de *Botrytis*, encontrándose también en otros hongos filamentosos. Además, se realizaron en todos ellos análisis fenotípicos para determinar la producción de esporas y esclerocios, sin embargo el test de virulencia sólo se realizó en las especies fitopatógenas. Es importante destacar que en este estudio se identificaron fitopatógenos como por ejemplo *Botrytis* sp, *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp asociados a la flora nativa y nativa endémica, así como controladores naturales como es *Trichoderma* sp. Finalmente la secuencia genética de ITS de 10 aislados no presentaron homología con la base de dato GenBank, sugiriendo que estas especies no han sido identificadas previamente. Mayor estudio es necesario para determinar si estas cepas desconocidas pertenecen a nuevas especies de hongos asociada a la vegetación nativa de Chile.

FIC-R BIP:30485880-0 y Beca Conicyt 22170412.

MA192

Microbiota intestinal levaduriforme de congrio colorado (*Genypterus chilensis*) y cojinoba (*Seriolella violacea*)

José Ruiz¹, Karla Páez¹, Mario Caruffo¹, Katherine Alveal², Marcia Oliva², Claudio Miranda^{2,3}, Katherine Castro², María Soledad Gutiérrez¹, Paulina López¹, Angélica Reyes-Jara¹, Alfonso Silva^{2,3}, Paola Navarrete¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, CL. ⁽³⁾ Investigador Asociado, Centro Acuapacífico.

Para reducir la dependencia de la salmonicultura y consolidar a Chile como un líder del sector acuícola, se han iniciado diferentes programas como el Programa de Diversificación de la Acuicultura Chilena, que incorporaron el cultivo de nuevas especies con alto potencial económico, como congrio colorado (*Genypterus chilensis*) y la cojinoba del norte (*Seriolella violacea*). La producción intensiva de estos peces implica la generación de un alto número de larvas y juveniles, etapas en las que se producen altas mortalidades, principalmente relacionadas a brotes de enfermedades infecciosas y deficiencias nutricionales. Dada la evidencia que la microbiota intestinal de peces modula la respuesta inmune, estimula la maduración intestinal y facilita la digestión de nutrientes, resulta de interés estudiar el rol de la microbiota presente en el contenido intestinal de estas nuevas especies productivas. El objetivo del presente estudio fue estudiar la microbiota intestinal levaduriforme de cojinoba y congrio colorado. Se recolectaron muestras del contenido intestinal de 38 ejemplares sanos de cojinoba ($1,09 \pm 0,2$ kg) y 10 de congrio ($2,07 \pm 1,15$ kg) provenientes de centros de cultivo de la IV Región. Las muestras se cultivaron en agar YPD suplementado con cloranfenicol (0,05%), a 28°C en aerobiosis por 5 días y se determinó el log₁₀ del recuento de UFC del contenido intestinal de cada ejemplar muestreado. Se confirmó la morfología levaduriforme de todas las colonias por microscopía óptica y se identificaron por secuenciación de la región ITS. Se detectó una mayor prevalencia de levaduras en las muestras de congrio, que en las de cojinoba. (50% v/s 15,8%; $p=0,03$). El recuento de levaduras en el contenido intestinal fue similar en ambas especies log₁₀ 1,65 UFC/mL (1-2,38) para cojinoba y log₁₀ 1 UFC/mL (1-1,25) para congrio ($p > 0,05$). Los análisis de secuenciación no mostraron diferencias significativas en la diversidad de especies levaduriformes identificadas ($p > 0,05$). Estos resultados sugieren que las levaduras forman parte de la microbiota intestinal de *G. chilensis* y *S. violacea*, siendo más prevalente en el congrio colorado. A partir de estos hallazgos se pueden realizar estudios para evaluar las propiedades biotecnológicas para su posible uso como probióticos en larvas de peces marinos.

Proyecto FONDEF ID17I10247, Proyecto FONDECYT 1181499. Agradecimientos a la Empresa Colorado S.A. por facilitar las muestras de peces.

MA193

Detección de cepas diarreogénicas de *Escherichia coli* en ovinos de Tierra del Fuego, Argentina

Ximena Blanco Crivelli¹, Sandra Vasquez Pinochet¹, Alicia Broglio², Petrina Juan F³, Vilma Disalvo⁴, Bonino María Paz¹, Adriana Bentancor¹. ⁽¹⁾ Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, CABA, AR. ⁽²⁾ Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, CONICET, CABA, AR. ⁽³⁾ Programa de Enfermedades Zoonóticas, Ministerio de Salud de Tierra del Fuego, Ushuaia, AR. ⁽⁴⁾ Laboratorio de Diagnóstico Tierra del Fuego, Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca-Asociación Rural Argentina, Rio Grande, AR.

El estudio de cepas diarreogénicas de *Escherichia coli* tienen interés como agentes zoonóticos, en particular por su impacto en la infancia. Entre los patovares, *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) es endémico en Argentina y responsable del síndrome urémico hemolítico (SUH) y *E. coli* enteropatógena (EPEC) constituye la segunda causa de muerte en niños menores a 5 años. Tierra del Fuego (TDF) tiene una de las mayores tasas de SUH de Argentina acompañado de elevadas tasas de diarreas. No hay información respecto al rol del ovino en la epidemiología de las diarreas y el SUH. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la presencia de STEC y EPEC en hisopados rectales de ovinos, en playa de faena, provenientes del área Argentina de Tierra del Fuego. Existen 3 playas de faena en TDF, 2 mixtas (ovino/bovino) municipales, localizadas en Ushuaia (Um) y en Rio Grande (RGm); y 1 ovina privada, en Río Grande (RGo). Se realizó un estudio epidemiológico transversal observacional (mayo 2017-mayo 2018) para la detección de cepas STEC y EPEC. Por cada animal se tomó una muestra y se realizaron pre-enriquecimiento en caldo tripteína soja (CTS) y CTS-cefixima-telurito, con posterior cultivo en AMC/SMAC y PCR para detectar los genes *stx1*, *stx2* y *eae* de la zona de crecimiento confluyente. Se analizaron 267 muestras y se estableció una prevalencia de STEC 31,08% (83/267), discriminada por origen 21/50 de RGm, 26/109 de RGo y 36/108 de Um. La prevalencia de EPEC fue del 7% (15/267), detectadas 8/50 de RGm, 3/109 de RGo y 4/108 de Um, respectivamente. Se observaron diferencias significativas ($p < 0,01$) en la prevalencia de portadores de STEC y EPEC en RG según playa de faena (RGm, respecto a RGo), y diferencias significativas ($p < 0,01$) de portadores de STEC según playa de faena mixta u ovina de TDF. La prevalencia de STEC y EPEC en ovinos supera la detectada en bovinos de TDF. Para justificar la dinámica epidemiológica de la región debe evaluarse el perfil de virulencia de los aislamientos, la presencia de otros reservorios, la contaminación de alimentos y la percepción de riesgos de la comunidad.

Beca Abraam Soonis, Ministerio de Salud, Argentina. UBACyT 20020150100159BA.

MA194

Sucetibilidade antifúngica de isolados ambientais de *Cryptococcus spp.* da região central de São Luis-Maranhão-Brasil

Moraes Ruana AF², Macedo Alessandra T², Miranda Rita CM², Silva Maria RC¹, Santos Julliana RA². ⁽¹⁾ Laboratório de Ciências do Ambiente (LACAM), Universidade Ceuma, São Luis, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMAM), Universidade Ceuma, São Luis, BR.

A criptococose é a micose sistêmica mais prevalente em termos de internação e a terceira infecção oportunista associada à Síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). É causada por duas principais espécies, *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii* que estão presentes em inúmeros nichos ambientais como solo, árvores, restos de vegetais, poeira doméstica, excretas de aves, mais precisamente em espécies de *Columba livia*. A fonte de infecção é ambiental e ocorre por inalação dos propágulos fúngicos presentes no ambiente. Após a inalação, as leveduras podem causar doença pulmonar multifocal e o fungo também apresenta neurotropismo podendo migrar para o sistema nervoso central, causando meningoencefalite. O objetivo deste estudo foi determinar a susceptibilidade antifúngica de isolados ambientais de *Cryptococcus spp.* da região central de São Luis-Maranhão-Brasil. Foram coletadas 4 amostras ambientais compostas de solo oriundas de 4 praças públicas da região central de São Luis, Maranhão. Utilizando a técnica de diluição seriada, as amostras foram cultivadas em Meio Ágar Sabouraud com clorafenicol e em Meio Ágar Níger. As colônias foram examinadas microscopicamente utilizando a coloração da tinta da China. A susceptibilidade aos antifúngicos foi determinada pela Concentração Inibitória Mínima (CIM), sendo testadas 4 drogas de uso clínico: Fluconazol, Voriconazol, Itraconazol e Anfotericina B. Das 4 amostras, 3 apresentaram colônias marrons com características sugestivas do gênero *Cryptococcus spp.*, através da utilização do meio de cultura diferencial Ágar Níger e da observação microscópica da cápsula, utilizando a coloração da tinta da China. A susceptibilidade antifúngica dos isolados de *Cryptococcus spp.* foi estabelecida através da determinação da CIM onde duas das três amostras ambientais de *Cryptococcus spp.* apresentaram resistência às drogas Fluconazol (CIM > 64 µg/mL), Voriconazol (CIM > 16 µg/mL) e Itraconazol (CIM > 16 µg/mL), enquanto as três foram sensíveis à anfotericina (CIM: 0,03 µg/mL). Os dados mostram a importância do isolamento ambiental e da avaliação da susceptibilidade antifúngica de isolados de *Cryptococcus spp.* em centros urbanos, tanto para esclarecer os riscos que essa levedura basidiomicótica pode oferecer à saúde humana, quanto para monitorar o desenvolvimento de resistência e possibilitar uma terapia mais adequada na criptococose.

FAPEMA; UniCEUMA.



MA195

Bacterial community structure of field and cultured thrombolites from Lake Sarmiento, Torres del Paine National Park of Chilean Patagonia

Jorge Osman¹, Pabla Viedma¹, Jorge Mendoza², Davor Cotoras¹. ⁽¹⁾ Bioquímica y Biología Molecular, Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Química, Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Microbialites are organo-sedimentary structures as consequence of the formation of minerals such as carbonates; silicates and sulphates structures through the metabolic activity of microorganisms and can be differentiated by their internal mesostructure into stromatolites (well-laminated) and thrombolites (unlaminated). The Lake Sarmiento in the Torres del Paine National Park of Chilean Patagonia is located in the south of Chile, is a sub-saline alkaline lake, which reveal the presence of living submerged and sub-fossil thrombolites. A submerged thrombolite was collected and one of the fragments was deposited in an experimental aquarium during 1.5 years. The bacterial biodiversity was examined using Illumina sequencing of PCR-amplified 16S V4 rDNA sequences from total extracted DNA and the thrombolite chemical structure by using XRD analyses. The results show that in the field and cultured samples, members belonging to the *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Planctomycetes* and *Bacteroidetes* phyla dominated the bacterial communities. It was also detected that the two studied samples are similar into their bacterial community composition. However, differences between the samples were detected at deeper levels (class, genus). Interestingly, no changes in the carbonate composition of the thrombolites were observed after culturing during 1.5 years. This study is the first in provides new insights into the bacterial community composition of the sampled thrombolite from this site, suggesting that thrombolites from the Lake Sarmiento are active and contain distinct bacterial communities than those from others worldwide microbialites areas.

FONDEF IDeA CA13I10019 (CONICYT).



MA196

The brain-gut-microbiome axis in Fragile X syndrome

Francisco Altimiras^{1,2}, Bernardo Gonzalez², Patricia Cogram³. ⁽¹⁾ Centro de Investigación y Desarrollo (TID Chile), Telefónica, Santiago, CL. ⁽²⁾ Centro de Bioingeniería, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad Adolfo Ibáñez, Santiago, CL. ⁽³⁾ Instituto de Ecología y Biodiversidad, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

The human microbiome is the internal ecosystem of microorganisms that live in and on the human body. The gut-related microbiome represents the area of the body with the greatest abundance and diversity of microorganisms. Several works have established that the gut-microbiome is essential for human health, contributing to metabolic functions, immune system and even to behaviour and nervous system. Fragile X syndrome (FXS) is a neurodevelopmental disorder characterized by hyperactivity, autistic traits, cognitive deficits in learning and memory, epilepsy and in some cases aggression. For the present study we use the *fmr1* gene knockout (*Fmr1* KO2) mutant mouse that reproduce the FXS phenotype. We firstly characterized the *Fmr1* KO2 behaviour phenotype and brain transcriptome and, secondly, we performed a taxonomic analysis of the *Fmr1* KO2 gut-microbiome. We found a decrease of Flexispira and Oscillospira genera, and an increase of Allobaculum, Akkermansia and Sutterella. Interestingly, an increase of the Sutterella genus has been previously reported in feces of children with autism and also detectable signatures specific for Down Syndrome. More interestingly, the abundance of this microorganism significantly correlated with the performance in the Aberrant Behavior Checklist (ABC) total score, a test widely use in people with FXS for IQ score. All together the findings of this work suggest the importance of the gut-microbiome association for a better understanding of the FXS pathology.



MA197

Bioprospecção de microrganismos do mangue para recuperação de áreas contaminadas por hidrocarbonetos de petróleo

Santos Amanda Ferreira¹, **Mendonça Rita Miranda**¹, **Melo Thais Castelo**¹. ⁽¹⁾ Microbiologia Ambiental, Universidade Ceuma, São Luis.

O mangue é um dos principais ecossistemas do planeta, tendo um papel importante desde a pré-história, devido sua riqueza em recursos naturais que podem ser aproveitados pelo homem como alimento, além do mais é criadouro natural e habitat para muitas espécies de animais. Contudo, é um dos ambientes mais ameaçados com o desenvolvimento das indústrias, sendo o destino final de muitos contaminante, entre eles os derivados do petróleo. Os derivados do petróleo causam danos difíceis de serem solucionados devido sua constituição química complexa. Este estudo objetiva a bioprospecção de microrganismos do mangue, com o propósito de saber o potencial biotecnológico desses microrganismos para ser utilizado no processo de biodegradação de hidrocarbonetos. Para que este objetivo fosse alcançado foi realizado o isolamento dos microrganismos segundo a técnica de Clark (1965) onde um volume de 1mL foi inoculado em meios de cultura seletivos diferenciais adicionados a antibióticos para evitar a proliferação de contaminantes. As placas foram incubadas a 27°C e a 37°C ± 2°C em condições de laboratório por no máximo 10 dias. Com os microrganismos isolados foi realizado o teste de seleção DCPIP (diclorofenol-indofenol), para avaliar a capacidade dos microrganismos em utilizar o substrato de hidrocarbonetos, observando a mudança de cor do DCPIP de azul (oxidado) para incolor (reduzido). Logo após, foi executado o teste para se determinar o índice de emulsificação, foi determinado com a finalidade de quantificar o biossurfactante produzido pelos isolados a serem utilizadas na biorremediação. A atividade de emulsificante foi medida adicionando 6 ml de óleo queimado de automóveis a 4 ml de amostra aquosa e levado ao vortex em alta velocidade por 2 min. As medições foram feitas 24 h depois. O índice de emulsão (E24) é a altura da camada de emulsão, dividida pela altura total, multiplicada por 100. Foram isolados 08 bactérias e três fungos, dos quais cinco microrganismos viraram o indicador com até 48 horas e as bactérias apresentaram uma melhor atividade emulsificadora mostrando 50% de índice de emulsificação. Os resultados apresentados acima evidenciam que esses microrganismos são de interesse biotecnológico e podem ser utilizados no processo de recuperação de áreas contaminadas por petróleo.

UniCeuma.



MA198

Projeto Micologia nas Escolas, Micoteca URM: promovendo a aprendizagem sobre fungos através de práticas lúdicas

Souza Susana Carvalho D¹, **Albuquerque Greicilene Maria Rodr**¹, Penna Luan Amim Olive¹, Nogueira Eliane Barbosa¹, Inácio Cícero Pinheiro¹, Souza-Motta Cristina Maria¹. ⁽¹⁾ Micologia, Centro de Biociencias, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR.

Os fungos estão presentes no cotidiano de todos os indivíduos e, por isso, faz-se necessário que este tema seja abordado de maneira mais efetiva durante a educação básica. Neste trabalho, é exposto e analisado, como práticas educativas lúdicas dentre elas atividades com quebra-cabeça e jogo da memória dos tipos de fungos; confecção de estruturas macroscópicas dos fungos com massinha de modelar em placas de Petri; experiência mostrando o processo de fermentação nos alimentos pelos fungos; dominó com as doenças fungicas e seus agentes podem contribuir para aquisição do conhecimento em escolas públicas e privadas do Recife, Pernambuco, Brasil. O Projeto Micologia nas Escolas, Micoteca URM (ISO 9001- 2015), desenvolvido por docentes e discente da Universidade Federal de Pernambuco, busca resgatar a interação entre academia e educação básica, utilizando-se de práticas lúdicas para ampliação das expectativas de aprendizagem do alunado, práticas essas como jogos e dinâmicas que promovam aprendizagem diferenciada, respeitando assim as diferentes formas de aquisição do conhecimento discutidas na pedagogia. Os colaboradores ao final de cada intervenção discutem sobre a importância das atividades práticas, analisam o feedback no discurso dos alunos, captando dessa forma as necessidades de ajustes no processo educativo. Diante da peculiaridade de cada indivíduo na aquisição dos saberes, o projeto se revela como uma alternativa inovadora, comprovada pelo índice de receptividade tanto pela equipe difusora, professores, técnicos e educandos, rompendo assim, com o uso métodos defasados de ensino.



MA199

Development of software for data management of microorganism Culture Collection of Food Science Department

Batista Luís Roberto¹, Evangelista Suzana Reis², Rocha Roney Alve¹. ⁽¹⁾ Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Universidade, Lavras, BR. ⁽²⁾ Biologia, Universidade Federal de Lavras, Universidade Federal de Lavras, Lavras, BR.

The microbiota present in several environments is being constantly isolated and studied. It is important that these microorganisms are preserved in Culture Collections (CC). CC are considered as an important resource for the development of research on biodiversity, taxonomy and biotechnology. Considering this importance was created the Microorganisms Culture Collection of Food Science Department (CCDCA/UFLA), Federal University of Lavras (Minas Gerais-Brazil), formalized on April 28, 2010. All lineage present in CC should be recorded. According to the Guide for Operation of Cultures Collections of the Brazilian Society of Microbiology the records must be preferably computerized and contain the following information geographical location, substrate or host, date of isolation, depositor, name of curator, preservation procedures used, culture media, optimal growth temperatures, biochemical characteristics data, among others. Considering the importance of recording information and in order to facilitate its access and organization was developed the software Database of Microorganisms of the Biological Resource Center (DMBRC) by CCDCA. The software enables the management of deposited microorganisms data, facilitating the organization and search of information. The DMBRC was written in Pascal (Lazarus Pascal) and designed for the operating system MS-Windows (64 bits), has a clean and friendly interface. The program allows the inclusion, exclusion, ordering, alteration and rapid searches (via SQL), to all information of deposited microorganisms. This way it has 3 windows, which correspond respectively to the register, consult the information registered and use of the deposited microorganisms. All these features allow the use of (DMBRC) as a technical tool of great importance for management, organization and fast access to data records. It allows researchers and curators great flexibility to record information, inspection, location and continuous and effective monitoring of deposited microorganisms in Microorganisms Culture Collection as well as in Biological Resource Centers.

The authors thank the Brazilian agencies: CNPq, CAPES e FAPEMIG.



MA200

Use of microbiology applied to water quality as an environmental education tool for high school students

Lyra Stephania Nascimento¹, Korres Adriana Marcia Nicolau¹, Carvalho Fernanda Magri ², Ribeiro Sheila Souza¹, Marcelo Simonelli². ⁽¹⁾ Engenharia Sanitária e Ambiental, Instituto Federal do Espírito Santo, Instituto Federal do Espírito Santo, Vitória, BR. ⁽²⁾ Ciências Biológicas, Instituto Federal do Espírito Santo, Instituto Federal do Espírito Santo, Vitória, BR.

The Reis Magos river represents great economic and social relevance for the people of Nova Almeida (Espírito Santo, Brazil), being used for fishing, irrigation, recreational purposes and for water abstraction for human consumption. However, it is still matter of concern regarding its environmental vulnerability and water quality. This work reports practical activities performed by means of speech and workshops offered by teachers of Instituto Federal do Espírito Santo (Ifes), Campus Vitória for students of the High School Antônio José Peixoto Miguel (Nova Almeida, ES). The purpose of these activities was to raise awareness about the importance of the river and its conservation, as well as to familiarize them with the main laboratory practices used in microbiological analyzes which determine the quality of the water. A talk, using multimedia resources, was made for ten scholarship students at Nova Almeida High School, explaining the main characteristics of the river, its importance for the region and the theoretical background about the significance of microbiological parameters of the water quality, especially of the bacteria of the coliforms group. Social and health problems generated by the contamination of water by domestic effluents were also discussed in a dynamic and interactive way, considering the river characteristics, its surrounding and the students experiences and opinions. The students visited the Microbiology laboratory of Ifes to familiarize themselves with the equipments and learn about aseptic and safety practices. The methodology of the chromogenic substrate used in the project was explained for the group adopting controlled and safe measures. Microscopy observations of the microorganism present in the water collected on the river were performed in order to show its biodiversity and the importance of its monitoring for the conservation of public health. The results obtained from the detailed water analysis of the Reis Magos river are being passed on to the students to interpret them and draw their own conclusions, which will be discussed later with the whole team of researchers involved in this project. They will also share the results with other colleagues through presentations at school and are visibly more attentive to the rivers conditions and conservation.

MA201

Interacción planta-microorganismo: el efecto de la actividad desaminasa del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) sobre el desarrollo de hortalizas bajo condiciones de estrés abiótico

Jonathan Fortt^{1,2}, Maximo Gonzalez², Alexandra Stoll², Teodoro Coba De La Peña². ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena, La Serena, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Microbiología Aplicada, Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas, La Serena, CL.

El déficit hídrico y la salinidad de los suelos, afectan el rendimiento agrícola a nivel mundial. En plantas, el estrés abiótico aumenta la concentración de etileno, afectando negativamente su desarrollo. Una estrategia para mejorar el crecimiento vegetal bajo estas condiciones es utilizar rizobacterias promotoras del crecimiento (PGPR) que presenten actividad ACC desaminasa, estas bacterias usan ACC (precursor de etileno) como fuente de nitrógeno y podrían ser una herramienta para optimizar el uso del agua en agricultura de zonas áridas y semiáridas. La lechuga (*Lactuca sativa*), es la hortaliza de mayor importancia en la Región de Coquimbo, Chile, alcanzando un 25% de la superficie cultivada y actualmente la región presenta problemas hídricos severos, afectando la productividad de este cultivo. Nuestro objetivo fue evaluar el efecto de bacterias con actividad ACC desaminasa en la tolerancia al estrés abiótico en lechuga, identificando cepas capaces de disminuir el estrés, caracterizando su efecto en la síntesis y/o señalización de etileno en plantas de lechuga. Para ello, 256 aislados bacterianos fueron obtenidos de suelos cultivables de la Región, de los cuales 20 presentaron actividad ACC desaminasa, siendo utilizadas posteriormente en ensayos de interacción planta-bacteria. Ensayos de estrés salino *in vitro* se realizaron para determinar el efecto de bacterias con actividad ACC desaminasa en la planta. 5 cepas potenciaron la germinación en semillas de lechuga expuestas hasta 150 mM de NaCl, 2 cepas mejoraron considerablemente el desarrollo radicular en *Arabidopsis* y 5 cepas mejoraron 4 veces el desarrollo radicular respecto al control bajo condiciones salinas de 80 mM de NaCl. Con la finalidad de determinar el efecto de la cepa *in vivo*, un ensayo en invernadero con condiciones de 100% (control) y 75% de caudal fue realizado. Peso fresco y seco, contenido de clorofila y prolina fueron determinados en tres estados de desarrollo. Además, mediante qPCR genes involucrados en la vía de síntesis y señalización del etileno fueron estudiados (*ACO1*, *ACS1/6* y *SOS1/2*). Nuestro trabajo significa un inicio para lograr una estrategia que permita maximizar la eficiencia del uso del agua y mantener un rendimiento óptimo en zonas afectadas por déficit hídrico o salinidad.

Proyecto FIC-R BIP 30403034-0 y proyecto CONICYT R16A10003.



MA202

Student protagonism in exposition about fungi during institutional environment week

Korres Adriana Marcia Nic¹, Tonon Brenda Santos¹, Ramos Anne Caroline N¹, Rodrigues Laila Meira¹, Mendanha Thais Lomar¹, Pinto Ana Caroline Da Silva¹, Serafim Andressa Modolo¹, Barboza Lorrana Inácia¹, Oliveira Vitor Luiz Silva Bran¹, Bringhenti Jacqueline Rogéria¹. ⁽¹⁾ Engenharia Sanitária e Ambiental, Ifes, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo - Ifes, Vitória, BR.

Applied Microbiology is a technical discipline of Sanitary and Environmental Engineering undergraduate course which allows students to develop laboratory, technical, and scientific skills. The main groups of microorganisms are discussed in their morphological, physiological, environmental, and sanitary aspects. The Environmental Week, held annually at Campus Vitória of Federal Institute of Technology (Ifes) is responsible for integrating the courses with Community by discussion of environmental issues, banners expositions, and short films produced by students. This work reports the participation of students of Applied Microbiology discipline during the Environmental Week with the exhibition about the Fungi in different aspects. The group attending the discipline in the period of 2017/1 was challenged to present some aspect of Microbiology to the Community. It was important to align a topic studied with the theme of the Environment Week “Connecting people to the Atlantic Forest”, to present something practical and useful for visitors. Thus, the general theme “Fungi” was chosen due to its general importance. The eight students team was divided in four pairs responsible for four subtopics: general characteristics of fungi, mycorrhiza, bioindicators agents, and pests biological control. Posters, some fungi, food with fungi colonies (bread, papaya, and pepper moldy), as well as fermented foods (yoghurt, beer, and shoyu sauce) were exposed in an exhibition booth (1mx2m) and explained to the visitors. Simultaneously, videos were presented, with scenes depicting the fungal life cycle and some of its applications, aiming to attract more attention from the public. The exposure was held in two days, in total of 16 h, for a public around 300 people, and brought a positive impact on the students since it led to improvement of the content studied and the development of didactic techniques to teach the proposed theme to the Ifes’ community, composed of people from different areas. The setting of the stand and the presentation turn possible the exercise and improvement of intellectual and interpersonal skills, and student protagonism was stimulated. The activity brought greater visibility to the course and the field of action of the Environmental and Sanitary Engineer and is a way to propagate the knowledge.

MA203

Bacterias: la historia más pequeña jamás contada

Paola Scavone¹, Vanesa Amarelle², Daniela Arredondo¹, Gastón Azziz², Victoria Braña², Valentina Carrasco², Susana Deus Alvarez¹, Sofia Fernández¹, María José González¹, Gabriela Heijo², Karen Malán², Gabriela Martínez De La Escalera¹, María Morel², Nicolás Peruzzo³, Alejandro Rodríguez Juele³, Ana Umpiérrez¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. ⁽²⁾ Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, UY. ⁽³⁾ Bandas Educativas, Montevideo, UY.

A través de la historia, las bacterias han sido consideradas entidades con connotaciones negativas principalmente por su asociación con las enfermedades de humanos y animales. Sin embargo, la mayoría de las bacterias son esenciales para la vida en la Tierra. Están presentes en nuestra vida cotidiana y son una fuente inagotable de recursos. Convencidos de la importancia que tiene la educación de la ciencia en los niños, un grupo de jóvenes investigadores de la División de Ciencias Microbiológicas del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable nos embarcamos en este proyecto de promoción y popularización de la microbiología. Nuestro objetivo es acercar la microbiología a la población en general y en particular a los niños en edad escolar. La iniciativa se centró en la generación de un comic que explica el fascinante mundo de las bacterias pero de una forma entretenida y didáctica. Junto con Nicolás Peruzzo y Alejandro Rodríguez Juele, ilustradores y guionistas de Bandas Educativas, nuestro equipo ha trabajado arduamente para crear este cómic que compartimos con ustedes. Además de ser una historia entretenida, el cómic puede ser empleado como herramienta en la educación escolar formal ya que los conceptos científicos desarrollados mantienen su rigurosidad. Los personajes principales “Coco y Fran”, dos bacterias que viven en Ciudad Bacteria, tendrán esta gran aventura que comienza con una visita escolar al Museo Histórico Bacteriano. En el mismo llegan a la sección dedicada a “La Gran Desinfección”, un cataclismo en el que murió el 99.9% de las bacterias de Ciudad Bacteria. Este cataclismo aconteció hace millones de bacteriaños siendo poco probable que vuelva a ocurrir. Sin embargo, el limpiador del museo les advierte que un evento similar podría ocurrir en cualquier momento. Uno de los sobrevivientes del último cataclismo, Ancianobacteria, podría tener los conocimientos para evitar tal suceso. Coco y Fran se embarcan en una travesía en la búsqueda de Ancianobacteria, que los llevará a través de la microbiota intestinal, el agua y el suelo, donde conocerán distintos microorganismos que habitan estos nichos y de los cuales aprenderán. Coco y Fran vivirán momentos de alta tensión, incertidumbre y mucho divertimento.

PCTI-X-2016_1_131608.

MA204

Uso de preservativos e vulnerabilidade às ISTs na população em situação de rua, na região central de São Paulo

Pereira Aline Marques¹, Miyashiro-Ferreira Ana Paula¹, De Souza Demario Zacarias¹, Da Silva Eliane Aparecida¹, Soares-Muniz Claudia Cristina¹, **Joselma Siqueira-Siva¹**. ⁽¹⁾ Diretoria da Saúde, Enfermagem, Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo.

O censo 2015 indica que 7.335 pessoas estão em situação de rua. São precários a sua alimentação e higiene, e, sem uma moradia adequada, estão expostas a diversas vicissitudes, como as ISTs. Para prevenir as ISTs, o Programa de DST/AIDS da capital disponibiliza preservativos nos terminais de ônibus e centros de referência para a população. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar o perfil da população em situação de rua quanto ao uso de preservativo (camisinha). Foi realizada uma pesquisa de campo exploratória, transversal e quantitativa, com dados coletados de população em situação de rua, na região central de São Paulo. Submeteu-se à entrevista semiestruturada a população dos sexos masculino e feminino, com idade maior ou igual a 18 anos, sem distúrbios psiquiátricos. Foram coletados dados sociodemográficos e do uso de preservativo masculino de entrevistas de 44 participantes (37 homens e 07 mulheres), os quais apontam que a) 27% são de homens de 40 a 49 anos, e 13,6% são de mulheres de 30 a 49 anos; b) 45% são pardos e 57% são pardas; c) 71% são solteiros e 75% são solteiras; d) 30% de homens e mulheres possuem ensino fundamental; e) 37,8% dos homens e 14,2 % das mulheres vivem em situação de rua há mais de 5 anos; f) 27,7% dos homens procedem da região Nordeste e 42,8% das mulheres procedem da região Sul; g) 40% de homens e mulheres entre 30-49 anos usam preservativo; h) menos de 15% de homens e mulheres até 29 anos usam preservativo; i) 30% de homens e menos de 30% de mulheres que completaram o ensino fundamental usam preservativo; j) menos de 20% de homens e mulheres cursaram até a 4ª série; k) menos de 30 % de homens e mulheres casados usam preservativo, enquanto mais de 70% de solteiros relatam o uso. Expostas aos agentes infecciosos, as pessoas em situação de rua são vulneráveis às ISTs. Portanto, medidas de educação em saúde de conscientização sobre o *Treponema pallidum*, o VHB e o HIV podem reduzir significativamente os riscos e danos no cotidiano dessas pessoas.

Universidade Nove de Julho (Uninove).

MA205

Fatores psicossociais associados a não adesão ao tratamento anti-retroviral (TARV) em paciente que vive com HIV/Aids

Rodriguez Nayara A. A¹, Cândido Bruna G.¹, Santos Lucas C. ², Fonseca Ana Carolina V.², Pierro Luiz M. C¹, **Marinheiro Juliana C.**¹. ⁽¹⁾ Diretoria de Saúde III, Medicina, Universidade Nove de Julho, Mauá, BR. ⁽²⁾ Clínica Médica, Hospital de Clínicas Radamés Nardini, Mauá, BR.

A infecção pelo vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) esta associada a um quadro de profunda imunossupressão, levando o paciente a uma suscetibilidade na aquisição de infecções oportunistas, neoplasias secundárias e manifestações neurológicas, que podem levá-lo a óbito. Os medicamentos antirretrovirais (ARV) impedem a multiplicação do vírus no organismo, ajudando a evitar o enfraquecimento do sistema imunológico. O uso regular dos ARV é fundamental para aumentar o tempo e a qualidade de vida dos pacientes. O uso dos medicamentos em doses inadequadas ou de forma irregular acelera o processo de seleção de cepas virais resistentes, ameaçando a efetividade do tratamento no plano individual e levando a sua disseminação no plano coletivo. Este trabalho tem como objetivo relatar o caso de paciente do sexo feminino, 40 anos, HIV positiva há 11 anos, admitida no Hospital de Clínicas Dr. Radamés Nardini, em Mauá, SP, Brasil, em março de 2018. Paciente apresentava queixa inicial de mal estar, dispnéia e convulsões. No atendimento relatava ter realizado a TARV durante anos porém, suspendeu seu uso há cerca de um ano, após sofrer uma desilusão amorosa. Paciente relatou ainda ser usuária de drogas ilícitas (maconha e cocaína) e, ser etilista e tabagista. Avaliação psicológica observou que a paciente apresentava-se consciente, orientada, receptiva ao contato, demonstrando estar entristecida e chorosa. Ao exame clínico observou-se febre, emagrecimento, linfonodomegalia, dor, distensão abdominal e ascite moderada. Diagnóstico de tuberculose pulmonar foi confirmado por exames laboratoriais. Paciente recebeu tratamento medicamentoso recomendado para Tuberculose, e deu prosseguimento na TARV, apresentando melhora progressiva do quadro clínico. Diversos trabalhos associam sintomas depressivos e uso de drogas como fatores de risco importantes para não adesão ao tratamento antiretroviral. Pacientes com sintomas depressivos chegam a ser considerados três vezes mais propensos à não adesão ao regime terapêutico. Objetivando uma maior adesão dos pacientes à TARV, é de extrema importância um plano bem estruturado de atenção biopsicossocial, enfatizando a integração entre os aspectos biológicos, psicológicos e sociais na promoção do tratamento. O paciente deve receber uma orientação minuciosa acerca da terapia medicamentosa, porém, o acompanhamento psicológico, durante todo o processo, esta intimamente relacionado ao sucesso da terapia.

Universidade Nove de Julho - Diretoria de Saúde III.



MA206

Estado de conocimiento, actitudes y prácticas asociadas al uso de una herramienta bibliográfica web para el aprendizaje de la microbiología ambiental en estudiantes de una Universidad de Lima, Perú

Miguel Mogollón¹. ⁽¹⁾Ingeniería Ambiental, Facultad de Ingeniería, Universidad Privada del Norte, Lima, PE.

Background: Las innovaciones tecnológicas del S. XXI, la fructuosa producción científica y la globalización representan un reto en la docencia universitaria en términos de adaptación y uso de nuevas herramientas educativas que aporten al desarrollo integral del estudiante. El método de casos es una estrategia que en los últimos años ha ido cobrando popularidad debido al impacto que genera a través del desarrollo de niveles superiores de la taxonomía de Bloom, tales como la aplicación, análisis y evaluación. ScienceDaily® es un sitio web que reúne notas científicas de actualidad en temas de ciencia, salud, tecnología y medio ambiente; las cuales tienen como origen comunicaciones de universidades internacionales y artículos publicados en revistas indizadas. **Methods:** En el presente estudio se aplicó una encuesta a 35 estudiantes que cursaban el curso de microbiología ambiental. La herramienta estuvo dividida en cuatro secciones que involucraban información general, conocimientos sobre literatura científica en microbiología, además de actitudes y prácticas referentes a la herramienta web ScienceDaily®. **Results:** Los evaluados presentaron una media de edad de 21.6 años, de los cuales el 88.9% llevaba por primera vez un curso de microbiología. Referente a conocimientos, el 66.7% reconoce a las revistas indizadas como una fuente bibliográfica segura, el 85.2% ha revisado al menos un artículo científico en inglés con temática de microbiología y publicado en revistas de alto impacto, y el 92.6% no conocía el recurso ScienceDaily® previo al curso. En cuanto a actitudes, todos los encuestados consideran que la microbiología tiene un rol trascendental en las ciencias ambientales, además de la necesidad de la actualización del conocimiento; el 92.3% valora de forma positiva el recurso web como una herramienta didáctica para el aprendizaje de la microbiología ambiental, e indican que las notas motivan su interés por el curso. En práctica, el 48.1% revisa frecuentemente las notas web con la finalidad de actualizar y profundizar sus conocimientos. **Conclusion:** El recurso virtual ScienceDaily® representa una estrategia educativa que facilita la enseñanza de la microbiología ambiental a través de su aplicación por método de casos.



MA207

Small noncoding RNAs induced under iron starvation in *Yersinia ruckeri*

Acuña Lillian G.¹, Barros María José¹, Juan Fuentes¹, Calderón Iván L.¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genética y Patogénesis Bacteriana, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Yersinia ruckeri is a Gram-negative, rod-shaped and facultative anaerobe bacterium responsible for enteric redmouth disease, a serious septicemic disease that affects mainly salmonids. This bacterium causes significant economic losses in countries where the salmon aquaculture is a major economic activity such as Chile. In *Y. ruckeri* pathogenesis, the availability of iron appears as a signal tightly linked with many virulence factors (e.g. metalloproteases, siderophores, among others) and their homeostasis is essential for successful colonization and invasion by many microbial pathogens and therefore they must to activate different strategies to acquire and optimize the use of this limited element inside host. Among these systems, sRNAs represent an useful tool for regulating gene expression due to their low energetic cost and rapid synthesis, particularly when quick responses are needed. RyhB is a sRNA previously characterized in *E. coli* that is induced under iron starvation to redirect cellular iron use by preventing new re-synthesis of non-essential iron-containing enzymes and enhancing production of siderophores. Currently about 300 non-coding RNAs have been identified in *Yersinia* but the functional roles of most of them are still unknown. Recently our group has sequenced the genome of a *Y. ruckeri* strain isolated from a salmon farm located in the X region of Chile. By *in silico* analysis we identified the presence of two homolog sRNAs of RyhB in the genome of the *Y. ruckeri* strain (Ysr146.1 and Ysr146.2). Further, we identified in these sRNAs the presence of a Rho-independent sequence terminator and the absence of an open reading frame. We performed the validation of both sRNAs by a qRT-PCR and Northern blot analysis, confirming that both non-coding RNAs are expressed, at different extent, when bacteria are cultured under iron starvation. In addition, we constructed the *Y. ruckeri* RyhB mutant strains, which exhibit a significant delay in growth, are defective in biofilm formation and are more sensible to oxidative stress.

FONDECYT POSTDOCTORADO 3180633, FONDECYT REGULAR 1171655.

MA208

La proteína chaperona Hfq de *Yersinia ruckeri* participa en la modulación de la fisiología y virulencia bacteriana

Barros María José¹, Acuña Lillian G.¹, Mauricio Galaz¹, Diego Peñaloza¹, Fernando Gil¹, Fuentes Juan A¹, Calderón Iván L.¹ ⁽¹⁾ Laboratorio de Genética y Patogénesis Bacteriana, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Yersinia ruckeri es una enterobacteria Gram negativo anaerobia facultativa causante de la enfermedad de la boca roja (ERM) en salmónidos. La capacidad de *Y. ruckeri* de sobrevivir en el ambiente extra e intrahospedero refleja la habilidad que posee esta bacteria para adaptarse a diversas condiciones de estrés. Entre los mecanismos desarrollados por las bacterias para modular la expresión génica frente a condiciones de estrés, están los RNAs pequeños no codificantes (sRNAs) que activan o bloquean la traducción mediante apareamiento de bases con mRNAs blancos, con participación de la proteína chaperona Hfq. Debido al rol estabilizador de Hfq con múltiples sRNAs, esta proteína es considerada un factor pleiotrópico en muchas bacterias Gram negativo. Recientemente nuestro grupo secuenció el genoma de una cepa virulenta de *Y. ruckeri* aislada de una salmonera de la X región de Chile. Con el objetivo de identificar y caracterizar la funcionalidad de Hfq en la fisiología y virulencia de *Y. ruckeri*, se realizó inicialmente un análisis de alineamiento BLAST que evidenció una secuencia con un 90% de homología con el gen *hfq* de *Escherichia coli*. Luego, mediante análisis de expresión por PCR en tiempo real (qRT-PCR), se validó la expresión de *hfq* en *Y. ruckeri*. Con el propósito de determinar si Hfq es requerida para modular la fisiología y/o la virulencia de la bacteria, se generó una cepa mutante deficiente en *hfq* (Δhfq) mediante una técnica de recombinación homóloga. Posteriores análisis con cultivos extracelulares evidenciaron que la cepa Δhfq presenta deficiencias en motilidad, formación de biopelículas y viabilidad frente a estrés por deficiencia de hierro y oxidativo, en comparación con la cepa silvestre. Por otra parte, ensayos de infección *in vitro* con una línea celular de peces demostraron que la cepa Δhfq presenta un fenotipo de invasión reducido en comparación con la cepa silvestre. Finalmente, un análisis de expresión y estabilidad del sRNA RyhB demostró menores niveles de éste en la cepa Δhfq . En base a los resultados obtenidos se puede concluir que Hfq es requerida para modular *in vitro* tanto la fisiología como la virulencia de *Y. ruckeri*.

FONDECYT POSTDOCTORADO 3180633, FONDECYT REGULAR 1171655.

MA209

Efecto protector de proantocianidinas dietarias sobre las alteraciones inducidas por una dieta hiperproteica en la composición de la microbiota y la producción cecal de metabolitos bacterianos de proteínas en ratas

María José Cires¹, Paola Navarrete², Edgar Pastene³, Catalina Carrasco-Pozo¹, Patricio Muñoz¹, Rodrigo Valenzuela¹, Daniel Medina⁴, Daniel Garrido⁴, Martin Beaumont⁵, Mireille Andriamihaja⁵, Annaïg Lan⁵, François Blachier⁵, Fabien Magne⁶, Martin Gotteland^{1,2}. ⁽¹⁾ Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Laboratorio de Farmacognosia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Concepción, CL. ⁽⁴⁾ Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Escuela de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽⁵⁾ Nutrition Physiology and Ingestive Behavior, AgroParisTech, Université Paris Saclay, Paris, FR. ⁽⁶⁾ Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Las dietas hiperproteicas (HP) aportan el doble de la energía en forma de proteína que las dietas normoproteicas (NP), y su consumo aumenta la cantidad de proteínas no digeridas que llega al colon. En el colon, las proteínas no digeridas pueden modular la composición de la microbiota intestinal (MI), estimulando el crecimiento de ciertas poblaciones microbianas capaces de hidrolizarlas. Su hidrólisis libera aminoácidos, los que a su vez son fermentados produciendo ácidos grasos volátiles (AGV) y otros metabolitos potencialmente tóxicos como amonio (NH_4^+) y sulfuro de hidrógeno (H_2S). Por otra parte, las proantocianidinas (PACs) son polímeros de flavan-3-oles que, al no absorberse en el intestino delgado, se acumulan en el colon donde modulan la composición de la MI y generan metabolitos beneficiosos para los colonocitos y a nivel periférico. **Hipótesis:** Un extracto polifenólico de palta (EPP) rico en PACs previene la alteración de la MI inducida por una dieta hiperproteica y reduce la producción de metabolitos bacterianos de origen proteico. **Metodología:** En ratas alimentadas por 4 semanas con una dieta HP o NP, suplementada o no con EPP, se determinaron: i) los cambios en la concentración cecal de NH_4^+ , H_2S y AGV ramificados y no ramificados, y ii) los cambios en la composición de la microbiota cecal mediante secuenciación masiva. **Resultados:** Comparado con NP, HP no afectó la ganancia de peso de los animales, pero incrementó el peso de sus riñones. Indujo una mayor concentración fecal de NH_4^+ y H_2S , lo cual fue atenuado por el EPP, y de AGV ramificados. Respecto a la MI, HP aumentó la abundancia de *Bacteroides*, *Dorea* y *Lactobacillus*, lo cual fue prevenido en parte por el EPP, y disminuyó *Prevotella*. En la condición HP + EPP se observó una disminución en la abundancia de *Desulfovibrio*, *Allobaculum* y *Anaerovibrio*, y un aumento de *Bacteroides*, *Prevotella* y *Ruminococcus*. **Conclusión:** La mayor presencia de proteínas en el colon afecta la composición de la microbiota y aumenta la producción de metabolitos bacterianos potencialmente tóxicos. Estos cambios son atenuados por la administración de EPP.

Fondecyt N°1120290, Ecos-Conicyt N°C12S01, Fondecyt de Iniciación N°11130232, Beca de Doctorado Nacional N°21120806 y Beca Fondecyt Postdoctoral N°3160525 de Conicyt Chile.

MA210

La bacteria marina *Alcaligenes aquatilis* QD168 presenta estrés oxidativo durante la degradación de benceno

Roberto Durán¹, Laura Rodríguez¹, Valentina Méndez¹, Michael Seeger¹. ⁽¹⁾ Departamento de Química, Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL.

En el catabolismo aerobio de compuestos aromáticos las reacciones de oxigenación (*e.g.*, mono- o di-oxigenación) permiten la activación y apertura del anillo aromático. El catabolismo aerobio de compuestos aromáticos en bacterias ha sido extensamente caracterizado. *Alcaligenes aquatilis* QD168 es una bacteria marina hidrocarbonoclastica aislada desde un sedimento contaminado con petróleo crudo desde la Bahía de Quintero, Región de Valparaíso. La cepa QD168 es capaz de crecer utilizando varios compuestos aromáticos como benceno y tolueno como única fuente de carbono. El objetivo de este estudio fue determinar la respuesta de estrés oxidativo de *A. aquatilis* QD168 durante la exposición a agentes oxidantes (H_2O_2 , paraquat (PQ)), y durante la degradación de benceno. Se estudió la sensibilidad y sobrevivencia de la cepa QD168 a los agentes oxidantes, determinando una concentración subletal de 100 μ M de H_2O_2 y 50 mM de PQ. Se determinó el daño a membrana celular y proteínas mediante cuantificación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y grupos carbonilos. Se observó oxidación de membrana y proteínas posterior a la exposición a agentes oxidantes, y durante el crecimiento en benceno. Estudios de expresión génica durante el crecimiento en benceno mostraron un aumento (>2 veces) de los reguladores *oxyR1*, *oxyR2* y *soxR2*, la enzima alquil hidroperóxido reductasa (*ahpC1*, *ahpC2*) y la isoenzima fumarasa tipo II (*fumC*). El crecimiento en benceno en fase exponencial temprana mostró un aumento en la expresión de los genes de estrés oxidativo *ahpC1*, *ahpC2*, *oxyR1*, *oxyR2* en comparación a la fase exponencial tardía, a excepción del regulador transcripcional *soxR2*. Estos resultados indican daño a macromoléculas y aumento de estrés oxidativo durante el crecimiento de *A. aquatilis* QD168 en benceno. Además, sugieren que la respuesta fisiológica a estrés oxidativo de la cepa QD168 estaría modulada por los reguladores OxyR y SoxR. La bacteria marina *Alcaligenes aquatilis* QD168 posee una amplia respuesta adaptativa de estrés oxidativo ante contaminantes ambientales, lo que potencia su aplicación en procesos de biorremediación de ambientes marinos y salinos contaminados con hidrocarburos.

Agradecimientos: CONICYT MSc fellowship (2016-22162307 RD), CONICYT PhD fellowship (LR) FONDECYT 1151174 (MS) and Anillo GAMBIO ACT 172128 (MS, VM, RD).

MA211

El sRNA *IsrG* de *Salmonella Typhimurium* modula la proliferación bacteriana regulando negativamente la expresión del gen *fic* bajo condiciones de estrés por frío

Mauricio Galaz¹, Acuña Lillian G.¹, Barros María José¹, Diego Peñaloza¹, Fernando Gil¹, Fuentes Juan A¹, Calderón Iván L.¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genética y Patogénesis Bacteriana, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Salmonella Typhimurium es un patógeno responsable de cuadros de gastroenteritis en humanos y tiene además la capacidad de persistir en pacientes inmunodeprimidos, convirtiéndolos en portadores crónicos asintomáticos de la bacteria. Una baja en la tasa de crecimiento bacteriano y la transición a un estado de dormancia metabólico es el resultado no solo del establecimiento de un estado persistente en un proceso infeccioso, sino que también es una respuesta adaptativa frente a condiciones de estrés ambiental tales como la exposición de la bacteria a bajas temperaturas. En este sentido los RNAs pequeños no codificantes (sRNAs) son reguladores de la expresión génica que juegan un rol crucial en la modulación de procesos fisiológicos, permitiendo la adaptación bacteriana a diversas condiciones de estrés. Mediante apareamiento de bases del sRNA con un mRNA blanco, se puede regular negativamente la expresión génica. Se ha visto que la expresión del sRNA *IsrG* de *S. Typhimurium* es inducida bajo condiciones de estrés por frío, así como también cuando la bacteria infecta fibroblastos, un modelo celular donde la bacteria permanece en un estado dormante no proliferativo. En nuestro laboratorio quisimos profundizar en el rol de este sRNA sobre la proliferación bacteriana y mediante análisis bioinformáticos predictivos establecimos como un posible mRNA blanco al gen *fic*, cuya proteína está involucrada en división celular. Se generó la cepa mutante carente del gen *isrG* mediante recombinación homóloga y luego mediante análisis fenotípicos se pudo establecer que esta cepa mutante carente del sRNA *IsrG* presenta un crecimiento deficiente a 16 °C. Por otra parte, en un análisis de expresión del gen *fic* mediante RT-PCR en tiempo real (qRT-PCR), se determinó que la expresión de este gen aumenta significativamente a 16 °C en la cepa mutante *isrG*, contrario a lo observado en la cepa silvestre. Finalmente, al sobreexpresar el sRNA *IsrG* en un vector apropiado, se observó que la expresión del gen *fic* disminuye significativamente. En base a estos resultados, concluimos que el sRNA *IsrG* regula negativamente la expresión del gen *fic* cuando la bacteria es sometida a estrés por frío, permitiendo así modular la proliferación celular de *S. Typhimurium* bajo dichas condiciones.

FONDECYT REGULAR 1171655.

MA212

La subunidad G α 1 de una proteína G heterotrimérica interviene en la regulación del desarrollo biológico y la producción de pigmento y xilanasas en *Talaromyces purpurogenus*

Ramon Ovidio García-Rico¹, Yessica Paola Jaimes-Flórez¹, Carlos Gil-Durán², Abdiel Del Cid², Inmaculada Vaca³, Renato Chávez². ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Pamplona, Pamplona, CO. ⁽²⁾ Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago De Chile, Santiago de Chile, CL. ⁽³⁾ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago de Chile, CL.

Se ha reportado que la transducción de señales mediada por GTPasas heterotriméricas se encuentra involucrada en la regulación de diferentes procesos del desarrollo biológico en hongos filamentosos. *Talaromyces purpurogenus* es un hongo filamentoso que produce pigmentos que pueden ser usados como colorantes naturales, además de enzimas tales como xilanasas y celulasas. Con el fin de verificar el papel de la subunidad alfa de una proteína G heterotrimérica (G α 1) en *T. purpurogenus*, se procedió a transformarlo con el alelo de activación constitutiva *pga1G42* procedente de *Penicillium chrysogenum* (actualmente *P. rubens*). Los ensayos con los transformantes mostraron que la presencia del alelo ocasionó un significativo incremento en la tasa de extensión apical del hongo en medio de cultivo sólido, produciendo en la colonia, crecida en YGC, un aspecto similar al fenotipo “fluffy” descrito en *Aspergillus nidulans*. Este significativo efecto estimulador del crecimiento también fue observado en medio de cultivo líquido. Al analizar la producción conidial en medio sólido, los transformantes mostraron una fuerte disminución en el número de conidios producidos, en todos los medios de cultivo ensayados. De otra parte, en comparación con la cepa nativa, los transformantes presentaron una mayor sensibilidad al estrés hipertónico inducido por NaCl y KCl. Finalmente, en condiciones de fermentación, la producción de xilanasas se vió notoriamente disminuida en los transformantes, mientras que la producción de pigmento fue completamente reprimida. Lo anterior nos permite inferir que la mencionada subunidad alfa (G α 1) en *T. purpurogenus* afecta de manera positiva el crecimiento vegetativo del hongo, tanto en cultivo aéreo como sumergido; mientras que regula negativamente la esporulación, la resistencia al estrés hipertónico, la producción de pigmento y de xilanasas.

Agradecimientos: DICYT-USACH. Grupo GIMBIO-Universidad de Pamplona.



MA213

Modified *Streptomyces venezuelae* as a potential host for heterologous expression of secondary metabolites gene clusters

Brenda Gómez¹, Sergio Sánchez¹. ⁽¹⁾ Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Homologous or heterologous hosts are necessary for expression of secondary metabolites (SM) clusters identified by genomic mining approaches. Blocking the SM biosynthetic routes of these microorganisms is a main approach to produce the desired hosts. Ownership by private entities prevents academic use of such hosts and limits their application for new metabolites discovery and production. In this work we have encompassed development of a new host dedicated to produce Actinobacteria-derived molecules. *Streptomyces venezuelae* WT (ATCC 10712) was used for this purpose since, compared to other Actinobacteria, exhibits rapid growth, liquid medium sporulation and low-density mycelia. Bioinformatic and bibliographical analysis showed that *S. venezuelae* WT contains 30 clusters for SM production with diverse activities. Among them, chloramphenicol is the main bioactive compound synthesized. We have successfully reproduced the chloramphenicol production conditions in our *S. venezuelae* WT strain. This result was supported by TLC and bioautography tests, which showed the presence of a compound in the supernatant extracts exhibiting the same chloramphenicol behavior in terms of polarity and activity. The presence of this metabolite was corroborated by HPLC-MS. The growth rate of this strain in glucose - isoleucine medium (GI) was also described. For host strain construction, we sought the interruption of the synthetic route of chloramphenicol, by targeting the *cmIH* gene, of which its function is unknown until now, but which seems to be essential for the synthesis of the metabolite. Using the cosmid pAH91, that contains the entire cluster of antibiotic production, we replaced the desired gene by PCR targeting, with a spectinomycin resistance cassette from the plasmid pIJ778. The mutants have been corroborated by PCR and sequencing, and their inability to produce chloramphenicol, was checked by HPLC-MS. This strain will be tested as host bacteria to produce molecules with potential pharmacological activity, from SM clusters of endophytic Actinobacteria isolated from Mexican medicinal plants that use similar synthetic routes as chloramphenicol.

PAPIIT IN202216.

MA214

Adaptações metabólicas de cepas de *Fonsecaea pedrosoi* com uso de triciclazol

Alessandra Koehler¹, Corbellini Valeriano Antonio², Scroferneker Maria Lúcia¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽²⁾ Departamento de Química e Física, Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, BR.

Os fungos dematiáceos da espécie *Fonsecaea pedrosoi* são um dos agentes etiológicos da cromoblastomicose. Seu fator de virulência é a melanina di-hidroxinaftaleno (DHN), cujo inibidor de sua síntese é o triciclazol (5-metil-1,2,4-triazol[3,4]benzotiazol). O objetivo deste trabalho foi avaliar as adaptações metabólicas de *F. pedrosoi* com uso de triciclazol através da Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Doze isolados da coleção do Laboratório de Fungos Patogênicos, Departamento de Microbiologia, ICBS, UFRGS foram cultivados por 14 dias a 30°C em placas de Petri contendo ágar Sabouraud. Para cada isolado foram cultivadas duas placas com 4 µg.mL⁻¹ ou 16 µg.mL⁻¹ de triciclazol. Os espectros foram adquiridos através de Reflexão Total Atenuada utilizando fragmentos das culturas em ágar desidratado. Para cada isolado foram obtidos quintuplicatas de espectros de 4000 a 650 cm⁻¹. O conjunto de dados foi pré-processado e normalizado pela amplitude. Utilizou-se o software Pirouette® para realizar a Análise de Componentes Principais (PCA) e a Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) utilizando a 1ª derivada e uma correção ortogonal de sinal. Estas análises foram realizadas para verificar se através dos espectros seria possível separar as classes (crescimento com 4 ou 16 µg.mL⁻¹), mostrando se existem adaptações metabólicas de *F. pedrosoi* com exposição ao triciclazol. A PCA não permitiu a diferenciação das classes devido a informações irrelevantes nos espectros (*background*). Já com PLS-DA, utilizando apenas um componente, o erro mínimo de previsão de classe foi cerca de 0.001, com limite de Bayes entre as classes próximo de 0.5 e 100% de acurácia na identificação dos cultivos em 4 ou 16 µg.mL⁻¹. Os resultados mostram que as adaptações metabólicas são reprodutíveis, porém discretas, e as regiões dos espectros que mais contribuíram para a diferenciação foram as bandas de 989 cm⁻¹ e 1086 cm⁻¹ (açúcares); 1508 cm⁻¹ (proteínas) e 1617 cm⁻¹ (ligações insaturadas de carbono; evidenciam a formação de precursores de melanina-DHN). Conclui-se que existem adaptações metabólicas de *F. pedrosoi* com exposição ao triciclazol e que estas podem ser avaliadas através de FTIR, o que é relevante para o desenvolvimento de técnicas para fazer correlações com modelos de virulência e patogenicidade destes fungos.

MA215

Produção de pigmento vermelho por *Amycolatopsis* sp. UFPEDA 3422

Lima Glauca Manoella Souza¹, Silva Amanda Maria¹, Queiroz Xavier Arthur Travassos¹, Sobral Marcela Araújo¹, Ana Maria Souto-Maior¹, Cruz Filho Iranildo José¹, Araújo Janete Magali¹. ⁽¹⁾ Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR.

A produção de pigmentos por micro-organismo tem se tornado uma alternativa importante para a indústria de corantes. O gênero *Amycolatopsis*, pertencente ao filo actinobactérias, apresenta grande diversidade de colorações, ainda pouco elucidadas pela literatura, desse modo o objetivo deste trabalho é avaliar a produção de pigmentos por *Amycolatopsis* sp. UFPEDA 3422. O micro-organismo foi cultivado durante 5 dias nos meios de cultura sólidos, ISP-2, ISP-3, ISP-4, GAA, CAA, HT e ALA para observação das características de produção do pigmento, micromorfologia e macromorfologia. A maior produção de pigmentos foi evidenciada no meio HT e 400 sendo estas condições utilizadas nos ensaios fermentativos. Para a fermentação, foi feito um pré-inóculo do micro-organismo durante 48h em ISP-2 líquido, deste foi retirado 10% do volume para realização da fermentação conduzida sob agitação a 150 rpm, 37° C, durante 96 horas, avaliando-se a cada 24 h a produção de biomassa e concentração de pigmento. A biomassa úmida foi pesada e a ela adicionado acetato de etila (3:1 v/p) para extração do pigmento, este foi analisado por espectro de luz UV no comprimento de 200 a 900 nm sendo sua concentração expressa em unidades de absorbância. A concentração máxima de biomassa obtida foi de 51,6 g/L com 72h no meio 400 e 33,4 g/L com 96 horas no meio HT, a temperatura não apresentou interferência na produção de pigmento e o pH se manteve constante. Na análise espectrofotométrica foram evidenciados picos nos comprimentos de 470 nm e 540 nm, sendo a produção máxima do pigmento 45,9 UA 470nm e 34,9 UA 540 nm no tempo correspondente a 48 h a 37 °C no meio HT, e 13,1 UA 470 nm e 8,4 UA 540 nm no meio 400. O meio de cultivo que apresentou melhores resultados para a produção de pigmentos foi o meio HT, em 48h a 37 °C sendo a concentração de pigmentos produzida superior em relação aos dados encontrados na literatura. Assim, *Amycolatopsis* sp representa uma importante alternativa a produção de pigmentos naturais, sendo necessários maiores estudos sobre as aplicações deste em seguimentos biotecnológicos.

Propesq-UFPE.



MA216

Mathematical modelling of metal homeostasis interplay between iron and copper

Martín Ríos¹, Alejandro Maass¹, Mauricio Latorre^{1,2,3}. ⁽¹⁾ Mathomics, Ingeniería, Universidad de Chile, Santiago, CL.
⁽²⁾ LBEG, INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Bioingeniería, Ingeniería, Universidad de O'Higgins, Rancagua, CL.

Living organisms have developed complex mechanisms of adaptation to respond to different environmental stimuli. This set of mechanisms are usually defined as Homeostasis. During the last years, mathematical models of specific homeostatic systems were developed to study a response to a particular stimulus. However, multiple stimuli response models based on an interplay among different homeostatic systems seem to be rarely studied. Based on experimental data from the metal homeostatic system of *Enterococcus faecalis*, here we present a metal interplay mathematical model, composed by ordinary differential equations, capable to describe the homeostatic and transcriptional response of the bacterium under different condition of metal exposure. Our results on the long-term homeostatic behavior of the model allow to think that some of the complexity in the dynamics of the response of *E. faecalis* strongly depends on mechanisms related to metal efflux, uptake and transcriptional regulation. This approach opens the possibility of constructing reliable predictive models which would be a decisive contribution to system biology as well as other applications on bioengineering.

FONDECYT N°11150679, Center for Genome Regulation FONDAP 15090007, Basal grant of the Center for Mathematical Modeling UMI2807 UCHILE-CNRS N° PFB03 project, Redes Internacionales para Investigadores(as) en Etapa Inicial N° REDI170193, Fondecyt national PhD fellowship CONICYT.



MA217

Identification of a gene cluster related to degradation of malodorous compound skatole in a *Rhodococcus* sp. isolated from a pulp-mill wastewater plant

Raul Donoso¹, Danilo Pérez-Pantoja¹. ⁽¹⁾ Programa Institucional de Fomento a la I+D+i (PIDi), Universidad Tecnológica Metropolitana, Santiago, CL.

Skatole is one of most important contributors to the malodor emanation resulting from anaerobic microbial metabolism of animal wastes, being considered a pollutant due to its persistence. Remarkably, despite of its environmental impact little is known about the biochemistry and genetics of skatole biodegradation. In this study, we obtained a pure culture of a bacterium able to use skatole as sole carbon and energy source that was isolated from a pulp-mill wastewater plant using an enrichment technique. The bacterium was designated as strain R1 and identified as a *Rhodococcus* sp. based on 16S rRNA sequencing. Genomic DNA was extracted from *Rhodococcus* sp. R1 and sequenced using Illumina technology. Then, obtained reads were assembled using *de novo* assembler SPADES and the draft assembly was annotated. Comparative genomics of strain R1 with other close-related *Rhodococcus* strains but unable to degrade skatole allow us to identify a distinct degrading cluster including genes coding for an aromatic dioxygenase system and other enzymes related to hydrolytic turnover of heterocyclic amines. This gene cluster showed an increased expression when the strain was grown in skatole as revealed by qPCR analyses, most probably indicating their involvement in degradation of this heterocyclic compound. These results could help to generate a strategy for remediation of malodor related to skatole generation by animal wastes in agroindustry.

Proyecto CONICYT Anillos de Investigación en Ciencia y Tecnología - ACT172128.

MA218

Prevalence of genes related to aggregative adherence fimbriae (AAFs) among *Escherichia coli* strains carrying the anti-aggregation transporter (*aatA*) gene

Freire Cláudia A.¹, Rodrigues Beatriz O.¹, Elias Waldir P.¹, **Abe Cecilia M.**¹. ⁽¹⁾ Divisão de Desenvolvimento Científico, Laboratório de Bacteriologia, Instituto Butantan, São Paulo, BR.

Background: *Escherichia coli* are a major cause of bacterial intestinal infection worldwide. In a previous epidemiological study performed in Salvador-BA, diarrheagenic *E. coli* (DEC) strains isolated from fecal samples were analyzed regarding the presence of different genes related to virulence factors and classified into one of the six DEC categories described. Among 1,020 strains studied (cases), 113 DEC strains were characterized as enteroaggregative *E. coli* (EAEC) by the presence of *aatA* gene (dispersin transporter protein). EAEC is a heterogeneous group primarily characterized by its aggregative adherence (AA) pattern when interacting with epithelial cells (HeLa or HEp-2). Toxins and AA fimbrial structures (AAF/I to AAF/V) can also characterize EAEC. The present study aims to verify the AA phenotype in HeLa cells and analyze the prevalence of the genes related to AAF/I-V fimbriae among 113 EAEC (*aatA*+) strains. **Methods:** Bacterial strains were submitted to adherence assays using HeLa cells cultivated *in vitro* and the search for genes related to AAF/I-V were performed by single (*agg5A*) and multiplex (*aggA*, *aafA*, *agg3A*, *agg4A* and *agg3/4C*) PCR assays. **Results:** Among the 113 *aatA*+ strains, 99 (87.6%) presented AA, 12 (10.6%) were non-adherent, 1 (0.9%) presented localized adherence (LA), and 1 (0.9%) presented a chain-like AA (CLAA) pattern. PCR assays indicated that 78/99 (78.8%) *aatA*+/AA strains presented genes related to at least one variant of AAF: (21%) AAF/I, (14%) AAF/II, (12%) AAF/III, (12%) AAF/IV and (13%) AAF/V. Two possible AAF hybrid strains were also found: AAF/III+V (*agg3A;agg5A;agg3/4C*) and AAF/IV+V (*agg4A;agg5A;agg3/4C*). AAF/III+V-encoding strains were recently described in literature. In the present work, we also found a strain simultaneously harboring AAF/IV+V. **Conclusions:** These results show that AAF hybrid strains are also present in EAEC strains isolated in our environment. These strains that simultaneously present genes of different AAF variants will be interesting models to study AAF expression, its relevance to the AA phenotype and consequent pathogenicity. AA strains lacking the AAF gene markers studied also suggest that other unknown fimbriae might be involved in EAEC adhesion. Together, these findings may unveil new EAEC strategies to exploit, colonize and persist in the human gut.

PAP-SES and FAPESP.

MA219

Pic secreted by *Escherichia coli* is an important virulence factor for survival of the bacterium on bloodstream leading animals to sepsis and death

Dutra Itaynara Lobato², Nascimento Johnny Ramos², Lima Yago Abreu², Vale André A. M.², Assunção Raissa Guará¹, Alves Patrícia C. S.², Trovão Liana Oliveira², Silva Maria Rosa³, Elias Waldir Pereira⁴, Silva Lucilene Amorim², Maciel Márcia C. G.², Sousa Eduardo Martins¹, Nascimento Flávia R. F.², **Abreu Afonso Gomes¹**. ⁽¹⁾ Microbiologia, CEUMA, CEUMA University, São Luís, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Imunofisiologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, BR. ⁽³⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, BR. ⁽⁴⁾ Laboratório de Bacteriologia, Instituto Butantan, São Paulo, BR.

Some *Escherichia coli* strains are important pathogens responsible for a variety of diseases, and albeit using distinct mechanisms of pathogenesis, have in common the production of Pic, a protein involved in colonization. The aim of this study was to investigate the action of Pic in a murine model of sepsis. Six to eight-week-old female Swiss mice were intraperitoneally inoculated with Pic-producing *E. coli* (F5), F5 Δ pic mutant or apyrogenic water (control). Animal survival was monitored for 5 days (n= 6 animals/group) and a subset of mice (n= 6 animals/group) was euthanized after 12 h for sample acquire from blood, peritoneal lavage and organs. The parameters evaluated were cellularity from blood, peritoneal cavity and organs; inflammatory mediators production; quantity of colony forming units (CFUs); immunophenotyping of cells from spleen and peritoneum; and histopathology of organs. Intraperitoneal inoculation of Pic-producing bacteria induced 100% death within 24 h, different from the other groups where no death was observed. The CFU count of bacteria in the organs was significantly higher in F5 than other groups. Besides, only F5 was viable on bloodstream. Hematological analysis showed a decrease of total leukocytes, mainly lymphocytes. NO and cytokines (IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-12, IL-10 and MCP-1) were detected in serum, as well as on peritoneal lavage (excepting IL-12) of F5 group in significantly higher levels than other groups. Immunophenotyping of spleen and peritoneum cells revealed that there was a low expression of co-receptors on lymphocytes and macrophages in F5 group, indicating that the activation and function of these were compromised. Therefore, these results evidenced that Pic represents an important virulence factor, allowing the survival of the bacterium on bloodstream and several organs, as well as inducing a high production of pro-inflammatory mediators by the host, leading to a sepsis and death.

Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA).

MA220

β -glucan receptor identification in the fungal environmental functional host *Acanthamoeba castellanii*

De Oliveira Gabriel Afonso¹, Gonçalves Diego De Souza², Leandro Honorato³, Leonardo Nimrichter⁴, Bruno Pontes⁵, Guimarães Allan Jefferson². ⁽¹⁾ Instituto de Biologia - (IB), Biological Sciences, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Microbiology, Universidade Federal Fluminense, Niteroi, BR. ⁽³⁾ Instituto de Microbiologia Paulo de Goes, Biological Sciences, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽⁴⁾ Instituto de Microbiologia Paulo de Goes, Microbiology, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽⁵⁾ Instituto de Ciências Biomédicas, Biomedical Sciences, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR.

Introduction. *Acanthamoeba castellanii* (*Ac*) are ubiquitously distributed in nature and is an accidental host of pathogenic fungal agents that cause mycoses. Studies suggest that the fungal-*Ac* interactions are potentially responsible for the environmental selective pressure on these agents resulting in preserved or increased virulence of fungal organisms, which in turn enables them to colonize vertebrate hosts. Fungal cell wall is mainly composed by polysaccharides such as chitin, β -glucan, mannans and mannoproteins. Therefore, β -glucan is far the main component in dry weight. Herein, we describe for the first time the presence of an amoeba receptor capable of binding β -glucan. **Methods.** We used the commercially available polysaccharides curdlan (β -1,3-glucan) and laminarin (β -1,3- and β -1,6-glucan) in combination with a dectin-Fc fusion protein and detection reagents such as an anti-mouse-IgG-Alexa 488 to evaluate how these molecules could bind to *Ac* and macrophage surfaces, by flow cytometry. Binding of surface biotinylated extracts of *Ac* and macrophages to the above polysaccharides were also evaluated by ELISA using a streptavidine-alkaline phosphatase conjugate to describe the presence of a β -glucan receptor on the amoeba surface. Polysaccharides interactions to amoeba were also evaluated by optical Tweezers, using beads coated with the aforementioned polysaccharides and BSA and dextran (α -1,4- and α -1,6-glucan polysaccharides) as negative controls. **Results.** *Ac* stimulated with laminarin displayed a 376% fluorescence intensity (MFI) increase related to control, whereas RAW had a 468% increase. Accordingly, curdlan stimulation of *Ac* and RAW displayed a 276% and 914% increase, respectively. By ELISA, *Ac* and RAW biotinylated extracts had similar reactivity to curdlan and laminarin, whereas CHO extracts had no binding. Optical tweezers evaluation revealed that beads coated with curdlan and laminarin displayed higher adhesion forces to the amoeba surface, with characteristic times of 43s to curdlan and 47s to laminarin, and absence of interactions of BSA and dextran coated beads. **Conclusions.** The data provided in this study indicates the participation of a potential β -glucan *Ac* receptor as new possible player on fungal recognition by amoeba. Additional assays are required for the identification and characterization of this β -glucan receptor and elucidation of the nature of this protein.

FAPERJ.

MA221

Adipose tissue as target of *Mycobacterium leprae* infection

Sabrina Alves¹, Motta Verônica Guimarães¹, Lima Karoline Dos Anjos², Demaria Thainá Magalhães³, Atella Georgia Correa², Mauro Sola-Penna³, Rosa Patricia Sammarco⁴, Pessolani Maria Cristina Vidal¹, Lara Flavio Alves¹. ⁽¹⁾ Cellular Microbiology Laboratory, Oswaldo Cruz Institute - FIOCRUZ, Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Biochemistry of Lipids and Lipoproteins Laboratory, Medical Biochemistry Institute, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽³⁾ Enzymology and Metabolism Control Laboratory, Faculty of Pharmacy, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽⁴⁾ Lauro de Souza Lima Institute, Lauro de Souza Lima Institute, São Paulo, BR.

Leprosy is an infectious and chronic disease that promotes neurologic and systemic damage caused by the agent predilection, *Mycobacterium leprae*, to Schwann cells and macrophages. Although curable, this pathology still persists in some countries and remains an important public health problem in Brazil, one of the countries with the highest number of new case detection. The importance of lipid metabolism for intracellular bacillus survival has already been described. However, adipocytes, that are specialized cells for lipid storage, have not been investigated as target of *M. leprae* infection until now. In this work we analysed the involvement of adipose cells as a site for *M. leprae* infection and persistence. Murine fibroblasts 3T3-L1 were differentiated to adipocytes in DMEM high glucose medium containing 10% fetal calf serum, 0.5mM 3-isobutyl-methylxanthine, 1µM dexamethasone, 2µM rosiglitazone and 0.3UI/mL of insulin. After day 3, the medium was replaced by DMEM-10% FCS containing only 2µM rosiglitazone and 0.3UI/mL insulin until day 10 and used for *M. leprae* infection. The cells cultures were stained with Oil Red O to analyse lipid droplets mobilization in infected cells by microscopy. Infected adipocytes cultures were incubated with radioactive lipids (HDL-H³ and Fatty Acid-H³) to investigate the lipid metabolism in these cells. Adipose tissue infection in leprosy patient biopsy was confirmed by immunohistochemistry using fluorescent *M. leprae* and Bodipy for adipocytes staining. To investigate lipolytic enzymes expression, we used real time PCR. Early results show that *M. leprae* infection induces lipid droplets mobilization, but this lipolytic effect does not release glycerol implying that this occurs to intracellular energetic metabolism maintenance. *In vivo* experiments demonstrate metabolic changes using mouse model of adipose tissue infection. We also confirmed the presence of *M. leprae* in multibacillary patients adipose tissue, indicating that this tissue is a potential target during infection *in vivo*. This work suggests that adipose tissue can act as a site of *M. leprae* infection not identified until now, contributing to further elucidate the complex pathological mechanisms involved in leprosy.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

MA222

Role of lipid A hydroxylation levels in *Salmonella* Enteritidis virulence in the murine host

Fernando Amaya¹, Paulina Fernández¹, Héctor Garcías-Papayani¹, Felipe Velásquez¹, Chris Bowden², Jyotsana Gupta², Marissa Talamantes², Lydia Bogomolnaya², Helene Andrews-Polymenis², Carlos Santiviago¹, Sergio Álvarez¹.

⁽¹⁾ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Department of Microbial Pathogenesis and Immunology, College of Medicine, Health Science Center, Texas A&M University, Bryan, Texas, US.

Lipid A is the main bioactive component of lipopolysaccharide, acting as a strong inducer of the immune response. The lipid A structure is modified by many pathogenic bacteria in order to avoid the immunological defenses of the host. Unlike several of these modifications, the lipid A hydroxylation has not been fully characterized. In *Salmonella* Typhimurium, this modification is catalyzed by LpxO, whose absence causes attenuation both *in vitro* and *in vivo*. Accordingly, in *Klebsiella pneumoniae* the hydroxylation of lipid A decreases its immunogenicity in murine macrophages. In this work, we studied the influence of lipid A hydroxylation in the interaction of *Salmonella* Enteritidis with murine macrophages *in vitro* and its virulence *in vivo*. To this end, we constructed a Δ lpxO mutant of *S. Enteritidis* NCTC13349 and the corresponding *trans*-complemented strain. The hydroxylation of lipid A was determined by mass spectrometry. In addition, the invasion, intracellular survival and inflammatory response was assessed in RAW264.7 murine macrophages, and *in vivo* virulence was evaluated by oral infections of C57BL/6 mice. According to our observations, the wild-type strain produced both hydroxylated and non-hydroxylated lipid A. In contrast, the Δ lpxO mutant only produced non-hydroxylated lipid A and displayed an increased invasion, but a reduced intracellular survival in RAW264.7 macrophages in comparison to the wild-type strain. On the other hand, this mutant stimulated higher levels of IL-6 secretion by RAW264.7 macrophages in comparison to the wild-type strain. In contrast, the *trans*-complemented mutant only produced hydroxylated lipid A, and presented a wild-type invasive phenotype; however, this strain kept the survival defect of the Δ lpxO mutant. In orally inoculated mice, the bacterial loads of the Δ lpxO and the *trans*-complemented mutants in the intestine and internal organs of infected mice were lower than those of the wild-type strain. Overall, our results indicate that an adequate level of lipid A hydroxylation is required for *S. Enteritidis* to escape phagocytosis and to survive intracellularly in murine macrophages, promoting the intestinal and systemic colonization of the murine host.

This work was funded by FONDECYT grants 1130225, 1140754 and 1171844, and CONICYT fellowships 21140692 and 22151395, and a travel fellowship from Departamento de Postgrado y Postítulo, Vicerrectoría de Asuntos Académicos, Universidad de Chile.

MA223

Estudio preliminar del efecto de SseK1 en la célula hospedadora

Fernando Baisón-Olmo^{1,2}, Francisco Ramos-Morales². ⁽¹⁾ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Genética, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Sevilla, ES.

Salmonella enterica es una bacteria patógena Gram negativa que causa enfermedades como la gastroenteritis y la fiebre tifoidea en diversos animales. *S. enterica* posee dos sistemas de secreción de tipo III (T3SSs) que están relacionados con la virulencia y que son codificados en las islas de patogenicidad SPI-1 y SPI-2, respectivamente. A través de estos T3SSs *S. enterica* inyecta proteínas, conocidas como efectores, al interior de la célula hospedadora interfiriendo con determinadas vías de transducción de señales haciendo posible su internalización así como su supervivencia y proliferación intracelular en vacuolas especializadas. Entre los más de 50 efectores conocidos encontramos a SseK1, el cual actúa como sustrato de ambos T3SSs. SseK1 posee actividad N-acetilglucosamina transferasa e interfiere con la activación de NF- κ B mediada por TNF- α . Estudios de índice de competitividad en ratones han mostrado un descenso de la virulencia del mutante Δ sseK1 respecto al silvestre. Además la expresión de este efector está regulada positivamente por el sistema de dos componentes PhoQ/PhoP. El objetivo de este trabajo es conocer las interacciones del efector SseK1 con proteínas eucariontes y su efecto a nivel de expresión génica del hospedador. Hemos realizado un estudio preliminar de los posibles efectos biológicos del efector SseK1 en la célula hospedadora mediante dos tipos de análisis: (i) Escrutinio con el sistema del doble híbrido en levaduras para encontrar proteínas capaces de interactuar con SseK1. (ii) Análisis transcriptómico de células epiteliales humanas HeLa para conocer los efectos de la expresión estable de SseK1 mediante transfección y de su translocación durante una infección con *S. enterica* serovar Typhimurium. El sistema del doble híbrido en levaduras sugiere la interacción de SseK1 con proteínas humanas implicadas en procesos de nucleación de la tubulina (TBCB), regulación de la transcripción (ZBTB16), organización de la cromatina (H3F3B, H3F3A, HIRIP3 Y CENPA) y reparación del ADN (Ku70/XRCC6). Por su parte el análisis transcriptómico mostró una expresión diferencial de al menos 32 genes humanos en presencia de SseK1. Es necesario el diseño de experimentos que nos permitan comprobar las interacciones de SseK1 con otras proteínas así como la búsqueda de fenotipos observables en las células transfectadas con SseK1.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos SAF2010-15015 y SAF2013-46229-R del Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España y por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional.

MA224

SepA é uma SPATE de *Shigella flexneri* e *Escherichia coli* enteroagregativa com atividade citotóxica *in vitro*

Andrade Fernanda B.¹, Roberto Nepomuceno², Silva Cristiane C.F.³, Portaro Fernanda V³, Jazmín Huerta-Cantillo⁴, Fernando Navarro-Garcia⁴, Piazza Roxane M.F.², Elias Waldir P.². ⁽¹⁾ Laboratório de Bacteriologia, Biologia, Instituto Butantan, São Paulo, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Bacteriologia, Instituto Butantan, São Paulo, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Imunoquímica, Instituto Butantan, São Paulo, BR. ⁽⁴⁾ Biología Celular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de Mexico, MX.

Introdução: SepA (*Shigella* extracellular protein A) é um potencial fator de virulência de *Shigella flexneri* e *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC), pertencente à família das SPATEs (*Serine Protease Autotransporter Proteins of Enterobacteriaceae*). Em *S. flexneri*, SepA participa da destruição do tecido epitelial, porém sem apresentar efeito citotóxico em células HEp-2; efeito esse não avaliado em outras linhagens celulares. **Objetivo:** Avaliar o efeito e tráfego intracelular de SepA em diferentes linhagens celulares cultivadas. **Métodos:** SepA nativa foi purificada em uma coluna de afinidade *HiTrap Benzamide*, a partir do sobrenadante de cultura de *S. flexneri* 5a (M90T), e utilizada para obtenção de anticorpo policlonal. A atividade de serino-protease foi avaliada por substrato fluorescente e pelo uso do PMSF. As linhagens celulares HeLa, Y-1, Caco-2, HT-29, HEp-2 e Vero foram incubadas com 20 µg/mL de SepA por 5, 10, 18 e 30 h. Após, as preparações foram fixadas com metanol e coradas com May-Grünwald e Giemsa. Nos ensaios de citotoxicidade e de ligação à membrana, utilizou-se HeLa, HT-29, MDCK e HEp-2, incubadas por 10 h com 20 µg/mL de SepA. Para a visualização dos filamentos de actina foi utilizado *Rhodamine-phalloidin*, TOPRO-3 para os núcleos e *anti-rabbit biotinylated-DTAF* ligado a anti-SepA para SepA. **Resultados e Conclusões:** Foram obtidos 50 µg/mL de SepA e sua atividade de serino protease foi confirmada pela clivagem do substrato Abz-FRSSR-EDDnp (5 µM) e inibição total por PMSF (3 mM). Nos ensaios utilizando células Caco-2 ou Vero não foram observados efeitos citotóxicos. Por outro lado, após 10 h de incubação as células HeLa apresentaram danos morfológicos e diminuição na confluência. As células Y-1 apresentaram danos após 18 h e, aparentemente, maior diminuição na confluência. Após 10 h houve danos celulares em HT-29, porém esse efeito foi mais evidente após 18 h. Nos ensaios de citotoxicidade com HeLa e HT-29, foram observados danos celulares após 5 h e a proteína foi visualizada associada à membrana celular. SepA não se ligou às células MDCK mas, apesar de não causar danos, se ligou à membrana de HEp-2. Conclui-se que SepA apresenta efeito citotóxico, mesmo sendo uma SPATE de classe II ou imunomoduladora.

Fundação de Amparo a Pesquisa de São Paulo (FAPESP).



MA225

Role of Type III Secretion System 2 in the ability of *Vibrio parahaemolyticus* to evade predation and survive within *Dictyostelium discoideum*

Bravo Verónica G¹, Sabag Andrea V², Santiviago Carlos A², Blondel Carlos J¹. ⁽¹⁾ Instituto de Cs. Biomedicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmaceuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Several recent studies have provided evidence that bacterial predation by free-living protozoa is a key factor driving the evolution and emergence of human pathogens in the environment. The marine bacterium *Vibrio parahaemolyticus* is currently the leading cause of seafood-borne gastroenteritis in the world and evidence suggests that acquisition of a new protein secretion system (T3SS2) is involved in both its pathogenic potential as well as its survival in the marine environment. Furthermore, this T3SS2 has been identified in other vibrio species suggesting that it has been spreading in the ocean through horizontal gene transfer. Evidence so far points towards a coincidental evolution of T3SS2 to target both amoeba and human cells. Despite the importance of free-living protist in the evolution of bacterial virulence, there are limited and contradictory reports on the interaction of *V. parahaemolyticus* with amoeba and the role of the T3SS2 in this process. In order to understand the role of the T3SS2 of *V. parahaemolyticus* in its interaction with the free-living amoebae *Dictyostelium discoideum*, we evaluated the intracellular survival of both the wild type *V. parahaemolyticus* strain and an isogenic mutant strain that cannot produce a functional T3SS2. By enumerating intracellular bacterial numbers and by time-lapse fluorescence microscopy, we confirmed that wild type *V. parahaemolyticus* was able to survive inside *D. discoideum* for up to 3 hours post infection. Furthermore, the intracellular numbers displayed by the T3SS2 mutant were lower as compared to the wild type strain over time. Thus, our findings suggest that the T3SS2 plays an important role in the ability of *V. parahaemolyticus* to evade amoeba predation and to survive within this protozoan. Nevertheless, many questions still remain regarding the real nature of the interaction of *V. parahaemolyticus* with free living amoeba and the role of T3SS2 in this interaction, as well as the functional overlap between T3SS2 effector proteins that target amoeba.

Fondecyt 11160901, 1171844, REDI170269, HHMI IRS 55008749.



MA226

Wild-type *Listeria monocytogenes* from Brazil induces cell death and production of IFN through STING dependent and cGAS dependent or independent pathways

Camargo Anderson Carlos¹, Adelle McFarland², Woodward Joshua John², Nero Luis Augusto¹. ⁽¹⁾ Departamento de Medicina Veterinária, Veterinária, Universidade Federal de Vicosa, Vicosa, BR. ⁽²⁾ Department of Microbiology, Medicine, University of Washington, Seattle, US.

Listeria monocytogenes is a foodborne pathogen able to multiply in a variety of host cells after escape of the phagocytic vacuole and gain the host cell cytosol, despite of host defense responses. Upon infection, *L. monocytogenes* can be detected by pattern recognition receptors (PRRs); ligand recognitions can trigger production of type I interferons (IFN) and inflammasome activation. Here we have examined the ability of 59 *L. monocytogenes* isolates obtained in Brazil to multiply into macrophages, to induce cell death and to activate IFN production. No trends were observed regarding intracellular doubling times in immortalized bone marrow-derived macrophages (iBMDMs) by comparing sources and serotypes. Two isolates, 2137 and 2140 (serotype 1/2a), recovered from human in 1983 and 1978, respectively, did not grown in iBMDMs indicating a spontaneous loss of virulence. Isolates from environment, beef and clinical sources (serotypes 1/2a, 1/2b, 1/2c and 4b) induced cell death in iBMDMs through the activation of caspase-1. Some isolates also induced high amount of IFN production in infected iBMDMs. Further tests carried out using primary macrophages revealed that production of IFN was always STING dependent while some isolates stimulated IFN production in a way partially cGAS dependent or fully cGAS independent. This work evaluated the interactions of foodborne pathogen *L. monocytogenes* with host cells, demonstrated that wild-type strains from Brazil induced pyroptosis, and revealed that activation of STING and cGAS pathways play a role for IFN production by infected macrophages.

This material is based upon work supported by CNPq, CAPES, FAPEMIG, the NSF-GRFP, NIH, and Pew Scholars Program in the Biomedical Sciences.

MA227

Efecto de la salinidad en la virulencia de *Piscirickettsia salmonis* en la respuesta inmune de *Salmo salar*

Carlos Cartes^{1,2}, Denise Hausmann^{1,2,3}, Fernando Lagos¹, Camila Solis¹, Jaime Figueroa^{1,2}. ⁽¹⁾ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral De Chile, Valdivia, CL. ⁽²⁾ Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Centro FONDAF. ⁽³⁾ Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás, Valdivia, CL.

Piscirickettsiosis es una de las enfermedades más perjudiciales para la salmicultura en Chile, provocando grandes pérdidas económicas. El agente etiológico es *Piscirickettsia salmonis*, bacteria Gram negativa, intracelular facultativa. Por ello, es relevante conocer los factores que afectan la patogenicidad de distintas cepas de esta bacteria sobre los salmónidos. Se ha visto que la salinidad tiene un efecto en el crecimiento de *P. salmonis*, permitiendo que esta se desarrolle de distinta manera, existiendo concentraciones óptimas para su crecimiento. En este trabajo se buscó probar el efecto de la salinidad del agua (5 y 20% NaCl) en la infección de este patógeno con análisis de efectos en la mortalidad y en respuesta inmune en *Salmo salar*. Se utilizó el riñón anterior del salmón, órgano que interviene en el mecanismo de respuesta inmune en los peces, para analizar la expresión de genes de la familia TLR (toll-like receptor), específicamente TLR1, TLR5m, TLR9 y TLR13. Estos receptores transmembrana forman parte de la respuesta inmune innata, y reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Por tanto, estos genes aparecen como blancos adecuados para evaluar el grado de patogenicidad de distintas cepas de *P. salmonis*. Para ello, se estudió las cepas AUS 005 y AUS 111, para realizar infecciones *in vivo* de salmones Parr SO de ~90 g bajo dos salinidades distintas (5% y 20%). Tras realizar el desafío, se cuantificó la mortalidad acumulada y se evaluó los niveles de transcritos (qPCR) de los TLRs indicados a 5, 10, 15, 20, 25, 37, 44 y 48 días post infección (dpi). Los resultados evidencian que existe mortalidad diferencial según niveles de salinidad y cepa utilizada, evidenciando adaptabilidad de una de ellas a esta condición. Por su parte, los cambios en los niveles de transcritos de los TLRs, se correlacionan con las curvas de mortalidad y del mismo modo evidencian expresión diferencial acorde a las cepas usadas y a las condiciones de salinidad del ensayo.

Proyecto FONDAF INCAR, 15110027.



MA228

Capacidad replicativa diferencial de aislados colombianos de virus dengue (DENV) de los cuatro serotipos

Nadia Castañeda¹, Hernando Gutiérrez¹, Jaime Castellanos¹. ⁽¹⁾ Grupo de Virología, Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad El Bosque, Bogotá, CO.

Dengue y dengue grave son causadas por virus dengue (DENV) de cualquiera de los cuatro serotipos (DENV1-DENV4). En Colombia, dengue es un problema de salud pública y el alto número de casos genera costos económicos significativos para el sistema de salud nacional. Las características biológicas de la cepa viral podrían definir la severidad por dengue y causar múltiples complicaciones clínicas en el paciente. No se conocen las diferencias en el comportamiento biológico de los diferentes serotipos de DENV co-circulantes en Colombia. Nos propusimos caracterizar y comparar la capacidad replicativa de cepas colombianas de DENV de los cuatro serotipos. Se utilizaron 12 aislados virales, obtenidos de sueros de pacientes colombianos diagnosticados con dengue. Los sueros fueron inoculados en células de mosquito *Aedes albopictus* C6/36-HT y las cepas obtenidas por aislamiento viral, fueron adaptadas por cuatro pasajes sucesivos en células C6/36-HT. El serotipo de cada cepa fue confirmado por PCR y el genotipo fue identificado por secuenciación. La capacidad replicativa viral de cada cepa, fue evaluada en las líneas celulares C6/36-HT y hepatocitos Huh7 infectados con DENV a un MOI de 0,5. Se analizaron los niveles de RNA viral usando RT-PCR cuantitativa y se cuantificó la progenie viral por determinación del título viral en ensayos de plaqueo. El porcentaje de infección de cada cepa viral, fue evaluado por citometría de flujo en células Huh7 a las 72 hpi. Los resultados fueron analizados mediante una prueba X2, bajo un nivel de significancia de $p \leq 0.05$. Los resultados mostraron que las cepas de DENV-4 y DENV-3 tienen mayor capacidad replicativa que las cepas de DENV-1 y DENV-2, con una evidente mayor producción de progenie viral. Las cepas de DENV-4 infectaron más del 60% de los hepatocitos humanos mientras que solo el 20% de las células fueron infectadas con cepas de DENV-1 y DENV-2. El efecto citopático diferencial de las cepas de los cuatro serotipos fue confirmado por el ensayo de actividad metabólica MTT, que evidenció una disminución en la viabilidad celular de células infectadas con cepas de DENV-4. Nosotros concluimos que cepas colombianas de DENV presentan un perfil replicativo específico del serotipo.

Universidad El Bosque, Vicerrectoría de Investigaciones, Convocatoria Interna PCI-2015-832.7

MA229

Caracterización del perfil de citoquinas sistémicas en ganado con Equinocosis quística y co-infección con fasciolosis

Felipe Corrêa¹, Christian Andrés Hidalgo¹, Caroll Stoore¹, Mauricio Jiménez¹, Ismael Pereira¹, Rodolfo Paredes¹.

⁽¹⁾ Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Durante la Equinocosis quística (EQ), la interacción del sistema inmune entre el parásito y el hospedero es compleja, abarcando mecanismos inmunes efectivos en eliminar al parásito desarrollados por el hospedero, los que por el contrario, son modulados por el parásito. Sin embargo, no existen reportes que describan el perfil de citoquinas en animales con diferentes estados de fertilidad de EQ y la co-infección con fasciolosis (FAS). Se recolectaron muestras sanguíneas de 38 bovinos previo a ser faenados y clasificados en 6 categorías: Sanos, EQ fértil, EQ infértil, EQ infértil + FAS, EQ quistes <1cm, FAS. Se determinó la concentración sérica de IFN- γ , IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12 e IL-18 a través de un análisis MULTIPLEX (Millipore™). La concentración media de IL-4 en animales FAS fue de 0.55 ng/mL, lo que es significativamente mayor que el resto de los grupos. La concentración media de IL-6 en animales EQ infértil + FAS resultó ser 0.21 ng/mL, mientras que el resto de los grupos fue inferior. Por el contrario, la concentración de IFN- γ en FAS (0.99 ng/mL) y EQ infértil + FAS (0.97 ng/mL) resultó ser ligeramente mayor con respecto al resto de los grupos. La concentración de IL-1 en FAS fue de 0.04 ng/mL, similar al resto de los grupos estudiados. Estos resultados sugieren que el estado de fertilidad de quistes hidatídicos y la co-infección con fasciolosis modulan el perfil de citoquinas sistémicas de bovinos infectados con Equinocosis quística.

FONDECYT 1161475, Universidad Andrés Bello DI-1398-16/I, Universidad Andrés Bello DI-1249-16/R.G.



MA230

High-throughput microdrop system for microbial infection, drug administration and conventionalization experiments in zebrafish larvae

De La Paz Javiera F.^{1,2,3}, Miranda Camila A.¹, Javiera Ortíz-Severin¹, Allende Miguel², Chávez Francisco P.¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología de Sistemas, Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratorio Zebrafish for Innovation and Research, Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Laboratorio Bioensayos, Danio Biotechnologies SpA, Santiago, CL.

Zebrafish (*Danio rerio*) is a suitable vertebrate host model to study pathogen-host interactions, immunity and drugs discovery. Zebrafish transparency, small size, and the absence of a mature adaptive immune system in embryonic and early larval stages, allows the use of this host model for high-throughput infection and drug screening assays. Excellent tools for in vivo cell imaging in combination with advanced tools for genomic and large-scale mutant analysis has expand its use in broad biomedical research areas such as immune-related diseases -including inflammatory and infectious diseases-, cancer, and the impact of commensal microbes on immunity and resistance against pathogens. Different research groups have been working to implement simple and reliable protocols using this animal model, using mostly microinjection techniques, especially in the case of pathogen infection and xenograft assays for human cancer. Two frequent technical limitations using zebrafish for in vivo assays for drug screenings, are: (1) the limited sample volume available for performing multiple assays and (2) the high amount of time required to perform microinjection assays in a large set of individuals. These factors prevent high-throughput analysis or using chemical compounds and natural extracts that can be either too expensive or difficult to obtain. To overcome these technical problems, we have designed a microdrop immersion assay that allows the exposure of 3 zebrafish embryos and/or larvae in 40 μ L of volume without affecting the animal viability during the assay. Our approach was validated in antivirulence screening using immersion assays with *Edwardsiella tarda* as fish pathogen and in conventionalization assays of commensal bacteria using zebrafish germ-free larvae. Summarizing, here we have described a novel microdrop immersion system suitable for infection, drug administration and microbial conventionalization experiments in zebrafish larvae.

Centro FONDAP de Regulación del Genoma (15090007), Santiago, Chile. Servicios Biológicos Danio Biotechnologies, SpA. Santiago, Chile.

MA231

Análise “*in vitro*” e “*in silico*” de uma cepa de *Escherichia coli* patogênica extraintestinal (ExPEC), isolada de infecção de corrente sanguínea de paciente com gastroenterite infecciosa

Ana Carolina De Mello Santos¹, Silva Rosa Maria¹, Enéas Carvalho², Gomes Tânia Aparecida Tardelli¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Disciplina de Microbiologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, BR. ⁽²⁾ Centro de Biotecnologia, Instituto Butantan, São Paulo, BR.

Escherichia coli é um dos principais agentes etiológicos de infecções de corrente sanguínea (ICS) pelo mundo. A cepa EC121 foi isolada da corrente sanguínea de uma paciente portadora de linfoma que apresentava quadro de gastroenterite infecciosa. A análise inicial da cepa demonstrou que ela pertencia ao filogrupo B1 e possuía apenas cinco genes associados à virulência (*hra*, *ompA*, *ompT*, *cvaC*, *sitA* e *iroN*), dentre os 30 pesquisados e mais frequentes em ExPEC. Devido a essas características, o presente trabalho objetivou verificar o real potencial patogênico da cepa EC121, bem como verificar a ocorrência de genes dos patótipos de *E. coli* diarreio gênicas (DEC) nesse isolado. Para isso, foram realizados ensaios fenotípicos de adesão a superfícies abióticas, formação de biofilmes, adesão a linhagens celulares HeLa e Caco-2 (polarizada e diferenciada), resistência à ação bactericida do soro e sequenciamento de nova geração, na plataforma Illumina. A cepa EC121 apresentou diversas características que corroboram com sua virulência, indicando que ela é um patógeno verdadeiro. A cepa EC121 aderiu e formou biofilme em superfícies abióticas (vidro e plástico), foi aderente às duas linhagens celulares testadas, e mostrou-se resistente à ação lítica do sistema complemento. A análise parcial do genoma “*in silico*” revelou que a cepa EC121 pertence ao sorotipo O154:H25 e ao ST101 (Warwick) e possui genes que codificam diversas adesinas associadas às DEC, como HCP, LPF, curli, ECP, CS1, entre outras adesinas potenciais. Além disso, EC121 é portadora de alguns genes de virulência associados à patogênese de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp., bem como de outros genes que codificam, invasinas, sistemas de captação de ferro, genes envolvidos com o escape e sobrevivência em macrófagos e modulação do sistema imunológico. As evidências fenotípicas e genotípicas demonstram que a cepa EC121 é um patógeno verdadeiro, possivelmente envolvido com o quadro de gastroenterite apresentado pelo seu hospedeiro. Estudos estão sendo realizados no sentido de avaliar a expressão dos genes detectados e confirmar o caráter híbrido da cepa EC121, comprovando seu potencial patogênico tanto intestinal quanto extraintestinal.

CAPES – PNPd, CNPq.

MA232

Diversidad de hongos endófitos en *Paspalum* y su efecto sobre el comportamiento agronómico de la planta

Mara Depetris¹, Carlos Acuña², Susana Gutiérrez³, Silvina Felitti⁴. ⁽¹⁾ Biodiversidad Vegetal y Microbiana, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Zavalla, AR. ⁽²⁾ Forrajicultura, Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, AR. ⁽³⁾ Fitopatología, Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, AR. ⁽⁴⁾ Biodiversidad Vegetal y Microbiana, Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Zavalla, AR.

Los hongos endófitos forman con sus hospedantes relaciones complejas, confiriendo beneficios mutuos. El objetivo del estudio fue determinar hongos endófitos en *Paspalum*, clasificarlos y evaluar su efecto sobre el crecimiento. Se recolectaron plantas de *Paspalum notatum* en Riachuelo (Corrientes) y *P. dilatatum* en Zavalla (Santa Fe), en campos bajo pastoreo. Para el aislamiento fúngico se realizó una triple esterilización de porciones vegetales sembradas en cajas de Petri con medio PDA (Agar-Papa-Dextrosa), incubadas 30 días a 28°C en oscuridad. Identificamos los aislamientos morfológicamente siguiendo claves taxonómicas y molecularmente mediante extracción de ADN y amplificación de la región ITS. El software Phylogeny permitió comparar con secuencias de bases de datos públicas, construyéndose un dendrograma que confirmó las clasificaciones morfológicas realizadas. Identificamos 8 géneros siendo el más frecuente *Bipolaris*, a los que siguieron *Aspergillus*, *Acremonium*, *Alternaria*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Cladosporium*. Fueron clasificadas como sin endofito 74/120 plantas. Se evaluó el efecto sobre el crecimiento vegetal mediante un ensayo en invernadero con *Trichoderma amazonicum* y *Acremonium kiliense*; siendo el género más frecuente con potencial antagonista en *P. notatum* y *P. dilatatum* respectivamente. El diseño fue en bloques completos al azar con 3 repeticiones. Las semillas fueron liberadas de endófitos (e-) por esterilización superficial y germinadas asépticamente en placas de Petri, conteniendo arena con agua estéril en cámara de luz. La mitad de las plántulas e- fueron inoculadas con porciones miceliales crecidas en PDA, permitiendo ingresar por aberturas naturales. Seis días después aplicamos un homogenizado fúngico sobre las hojas para optimizar las inoculaciones. Ocho plántulas inoculadas por aislamiento se transfirieron a macetas con tierra y perlita estériles, regadas a capacidad de campo. Para evitar la contaminación cruzada, cada tratamiento fue separado con papel film. Después de 6 semanas, se determinaron parámetros de crecimiento. Como resultados, el nº de macollos, de hojas desplegadas y contenido de clorofila dieron diferencias significativas ($p < 0,05$) en *P. notatum* en presencia de *Trichoderma amazonicum*. En presencia de *A. kiliense*, *P. dilatatum* presentó diferencias significativas para longitud de hoja, nº de macollos, materia seca de raíz y aérea. Como conclusión, los endófitos fúngicos tienen efectos sobre el crecimiento vegetal de *Paspalum*.

MA233

Investigação da presença e expressão de genes codificadores de toxina Shiga-like em cepas de *Corynebacterium diphtheriae*

Cucinelli Andreza Do Espirito Santo¹, Cappelli Elisabete Alves¹, Santos Louisy Sanches Dos¹, Antunes Camila Azevedo², Dulanthi Weerasekera², Santos Cíntia Silva Dos¹, Souza Cassius De¹, Liliane Simpson-Louredo³, Silva Cecilia Maria Ferreira¹, Faria Yuri Vieira¹, Viana Vanilda Gonçalves¹, Lacerda Geisica Lugão¹, Gomes Débora Leandro Rama⁴, Andreas Burkovski², Saliba Alessandra Mattos¹, Raphael Hirata Júnior¹, Ana Luíza Mattos - Guaraldi¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio De Janeiro, BR. ⁽²⁾ Division of Microbiology at the Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, Friedrich-Alexander University Erlangen-Nuremberg, Erlangen, DE. ⁽³⁾ Instituto Nacional de Controle e Qualidade em Saúde (INCQS), Fundação Oswaldo Cruz, Rio De Janeiro, BR. ⁽⁴⁾ Faculdade de Farmácia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio De Janeiro, BR.

Introdução: As manifestações clínicas observadas nas infecções por *Corynebacterium diphtheriae*, principal agente etiológico da difteria, são frequentemente associadas à ação da toxina diftérica (TD), seu principal fator de virulência. No entanto, cepas não produtoras de TD têm sido isoladas de infecções invasivas, sugerindo o envolvimento de outros fatores na patogenicidade desta espécie. A toxina Shiga (Stx), fator de virulência de diferentes microrganismos, atua bloqueando a síntese proteica, ocasionando, assim, morte celular. Diversos trabalhos apontam que os genes codificadores de Stx são passíveis de transferência entre espécies. Dentro do gênero *Corynebacterium*, uma proteína (RBP), cuja função é inibir a síntese de ribossomos, foi primeiramente identificada em *Corynebacterium ulcerans*. Análises de bioinformática revelaram que sua estrutura terciária é altamente conservada e apontaram grande similaridade à cadeia A da toxina Shiga de *Escherichia coli* (SLT-1). Diante da descoberta do gene codificador de uma possível toxina Shiga-like em *C. ulcerans*, torna-se importante investigar a presença de genes semelhantes em cepas de *C. diphtheriae*, além de caracterizá-los funcionalmente. **Metodologia:** Foram utilizados os genomas disponíveis no banco de dados do NCBI Chromosome Sequences. As análises *in silico* usaram os aplicativos *online*: Blast (alinhamento); Primer-Blast (desenho dos *primers*); TMHMM 2 (predição das porções transmembrana); Signal P2.0 (peptídeo sinal); *Phyre2* e I-TASSER (estrutura 3D das proteínas analisadas). A quantificação e expressão diferencial do gene codificador da toxina Shiga-like em *C. diphtheriae* cepa HC01 foi realizada pela técnica RT-qPCR. Também foi realizada a avaliação da atividade citotóxica da cepa HC01, em células Vero. Em ambas as técnicas foram utilizadas cepas com crescimento a 4°C e 37°C. **Resultados:** As análises *in silico* confirmaram a presença de um gene codificador de proteína Shiga-like em diversas cepas de *C. diphtheriae*. A técnica RT-qPCR confirmou a presença e a expressão deste gene em *C. diphtheriae* HC01, assim como aumento da sua expressão quando submetida a 4°C. Comportamento semelhante foi observado, fenotipicamente, pelo ensaio de citotoxicidade em células Vero. A construção de uma cepa mutante, através da interrupção da atividade do gene codificador da proteína Shiga-like em *C. diphtheriae*, encontra-se em andamento.

CNPq, CAPES, FAPERJ, SR-2 UERJ.



MA234

La infección por rinovirus produce cambios temporales en la expresión génica de OAS1 y OAS3 en células pulmonares NCI-H292

Lesly Espinoza¹, Francisco Núñez¹, Luis Lizama¹, Sandra Ampuero¹. ⁽¹⁾ Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia, CL.

Rinovirus humano (RVH), virus RNA de la familia *Picornaviridae*, es el principal agente etiológico del resfrío común. También provoca infecciones respiratorias bajas, como bronquiolitis y neumonía. RVH tiene una importante participación en exacerbaciones de asma en niños y adultos; y es el segundo agente de bronquiolitis más detectado en lactantes después del virus respiratorio sincicial (VRS). En co-infección VRS-RVH se ha visto una evolución clínica más leve que la infección solo por VRS. En la respuesta inmune innata contra RVH se producen citoquinas proinflamatorias, como IL6, IL8 e interferón (IFN) tipo I y III. IFN activa la expresión de genes de la familia 2'-5' Oligoadenilato sintetasa (OAS), de la vía OAS/RNasa L. Esta vía induce la degradación del RNA viral evitando la propagación del virus. En estudios previos hemos detectado cambios en la expresión de los genes de esta vía en la infección por VRS. Sin embargo, no existen antecedentes sobre su participación en la infección por RVH. El objetivo de este trabajo fue determinar la expresión relativa de los genes OAS1 y OAS3 en la línea celular pulmonar NCI-H292 frente a la infección por RVH 1B a distintos tiempos post-infección. Se infectaron células NCI-H292 con RVH 1B. Se obtuvo el RNA total a las 6, 24, 48, 72 y 96 horas post-infección (hpi). Se realizó transcripción reversa y PCR en tiempo real para la cuantificación relativa de OAS1 y OAS3 utilizando el gen HPRT1 como gen normalizador. Las veces de cambio de RNA mensajero entre la condición sin infectar e infectado se obtuvieron mediante el método $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$. Los resultados se analizaron mediante One-Way ANOVA (GraphPadPrism v. 7.0). En OAS1 detectamos una mayor expresión a las 48 y 96 hpi, mientras que en OAS3 se alcanzó una mayor expresión solo a las 96 hpi. En las otras hpi se aprecia una disminución no significativa de la expresión. A diferencia de lo observado en la infección por VRS donde la mayor expresión se alcanza a las 24 hpi, RVH produciría un aumento más retardado y posiblemente esta vía no tendría una participación trascendental en el control de la infección.

MA235

Evaluación de la respuesta inmune contra *Mycobacterium tuberculosis*, inducida en ratones por la proteína Apa expresada en *Streptomyces lividans*

Espitia Clara I¹, Segura Erika¹, Cristina Parada¹, Mayra Miranda¹, Luis Servin², Trujillo Mauricio A², Martínez Jose A¹.

⁽¹⁾ Inmunología, Instituto de investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX, MX.

⁽²⁾ Biotecnología, Instituto de investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX, MX.

La tuberculosis, continúa siendo un problema de salud pública, debido a diversos factores, entre otros a la falta de una vacuna eficaz. Los estudios con la glicoproteína Apa de *M. tuberculosis* como vacuna de subunidad han arrojado resultados controversiales, ya que tanto la forma glicosilada como la recombinante no glicosilada inducen una respuesta protectora similar, pero al parecer utilizando diferentes mecanismos. En el presente trabajo se comparó la respuesta inmune inducida por rApa-*S. lividans* que presenta un 60% de moléculas glicosiladas y un 40% de moléculas no glicosiladas, con la respuesta inducida por la rApa-*E.coli* con glicosilada y la vacuna BCG, en un modelo murino de infección por aerosol. Las proteínas recombinantes y la vacuna BCG fueron administradas por vía intranasal con dos dosis de refuerzo y posteriormente los animales fueron retados con la cepa de *M. tuberculosis* H37Rv administrados por aerosol. En los animales inmunizados con rApa-*E.coli* (10 ug) se observó proliferación de las células CD3+ totales en respuesta a la misma proteína (10 ug), en contraste los inmunizados con rApa-*S. lividans* (1ug) respondieron únicamente a BCG, al igual que los inmunizados con BCG. Por otra parte, únicamente se observó proliferación de linfocitos CD3+ CD4+ y no CD8+ en los animales inmunizados con rApa-*E. coli* (10 ug) y estimulados con la misma (1 ug) y en los inmunizados con rApa-*S. lividans* (1 ug) y estimulados con BCG. En los inmunizados con rApa-*S. lividans* (10ug) hubo proliferación a la misma (1 ug). Interesantemente, se observó proliferación de células CD3+CD4-CD8- en los animales inmunizados con 10 ug de rApa-*E.coli* y estimulados con 1 y 10 ug de rApa-*E.coli* y 1 ug de rApa-*S. lividans*, esta población celular es interesante porque se ha asociado a inmunoregulación. En los animales vacunados e infectados, hubo disminución de las UFC en el pulmón al mismo nivel de BCG a los 21 días, pero a 42 días la reducción fue mayor con BCG. Los resultados muestran que la O-manosilación aunque importante en antigenicidad no parece serlo para la protección. De acuerdo a los resultados se evaluará la administración de BCG junto con las recombinantes en busca de un posible efecto sinérgico.

MA236

Pharmacological activation of heme oxygenase-1 and its product carbon monoxide interfere with the replication cycle of Herpes Simplex Virus type 2 in human neuronal SH-SY5Y cells

Farías Mónica A¹, Ibáñez Francisco J¹, Angello Retamal-Díaz¹, Espinoza Janyra A¹, Kalergis Alexis M^{1,2,3}, González Pablo A¹. ⁽¹⁾ Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Endocrinología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U1064, Faculté de Médecine, Université de Nantes, Nantes, FR.

Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and type 2 (HSV-2) elicit lifelong infections in humans, establishing latency in sensory neurons, from which they can sporadically reactivate. Previous reports suggest that HSV modulates oxidative stress in infected cells and that the modulation of this process can alter HSV replication. On the other hand, heme oxygenase-1 (HO-1) is an inducible host enzyme that controls cellular oxidative stress. Once induced, HO-1 produces the degradation of free heme, leading to the production of ferrous iron (Fe²⁺), carbon monoxide (CO) and biliverdin, the latter rapidly converted into bilirubin. Interestingly, HO-1 and its products affect the infection of several viruses, such as enterovirus 71, dengue virus, hepatitis C virus and respiratory syncytial virus, among others. Therefore, we investigated whether pharmacological modulation of HO-1 activity and its product carbon monoxide alter HSV-2 infection in human neuronal cells. We found that pharmacological induction of HO-1 activity with cobalt protoporphyrin (CoPP) decreased the expression of a reporter protein (GFP) encoded within the virus genome. Furthermore, we observed a reduction in the number of virus plaque forming units and lesser viral protein expression in neurons treated with CoPP and infected with HSV-2, as compared to untreated cells or with tin protoporphyrin (SnPP), an inhibitor of HO-1 activity. Surprisingly, CoPP treatment increased virus binding to the cell surface of neurons indicating that reduced viral infection was not due to reduced virus binding. Finally, we found that treating neurons with a carbon monoxide releasing molecule-2 (CORM-2) recapitulated some of the anti-HSV-2 effects elicited by CoPP. Also, similar effects were observed in epithelial cells infected with HSV-2. Taken together, these findings indicate that HO-1 activity interferes with the replication cycle of HSV-2 and that its antiviral effects can be recapitulated by carbon monoxide.

MA237

FNR regulates lipid A modification in *Salmonella* Enteritidis by controlling the expression of genes involved in this process in response to oxygen availability

Fernández Paulina A.¹, Felipe Velásquez¹, Héctor Garcías-Papayani¹, Silva Cecilia A.¹, Amaya Fernando A.¹, Camila Espinoza¹, Jaime Ortega¹, Santiago Carlos A.¹, Álvarez Sergio A.¹. ⁽¹⁾ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Lipid A corresponds to the bioactive moiety of lipopolysaccharide (LPS) in Gram-negative bacteria. This molecule exhibits a dynamic structure that can be modified by enzymes in response to environmental conditions. These modifications are relevant for *Salmonella* virulence as they can improve resistance to antimicrobial peptides and change the inflammatory properties of LPS. In spite of this, the regulation of genes encoding enzymes involved in lipid A modification has not been fully addressed. Adaptation to changes in oxygen availability is an important challenge that *Salmonella* faces during infection, and transcriptional factor FNR is one of the main regulators of this process. The aim of this study was to determine if lipid A modification in *S. Enteritidis* is regulated by oxygen availability, and the role played by FNR in this process. We also aimed to assess the effect of oxygen availability and *fnr* deletion on the expression of genes encoding enzymes that modify lipid A (i.e., *eptA*, *lpxO*, *lpxR* and *pagP*). As revealed by mass spectrometry, oxygen availability controls lipid A hydroxylation (catalyzed by LpxO) and palmitoylation (catalyzed by PagP) in wild-type *S. Enteritidis*. However, this regulation is not observed in a Δfnr mutant. Furthermore, this mutant produces several lipid A species not seen in the wild-type strain. By qRT-PCR analyses we confirmed that *eptA*, *lpxO*, *lpxR* and *pagP* expression is regulated by oxygen availability in wild-type *S. Enteritidis*. In contrast, this oxygen-dependent regulation was not observed in the Δfnr mutant. Finally, electrophoretic mobility shift assay revealed that FNR directly binds to the promoter regions of genes *eptA*, *lpxO*, *lpxR* and *pagP*. In conclusion, our results strongly suggest that FNR regulates lipid A modification in *S. Enteritidis* by controlling the expression of genes involved in this process in response to oxygen availability.

This work was supported by FONDECYT grants 1130225, 1140754 and 1171844, and CONICYT fellowships 21140692 and 22151395.

MA238

Effect of vaccination and co-infection on resistance to *Piscirickettsia salmonis* in Atlantic salmon

Figuroa Carolina A¹, Pamela Veloso^{1,2}, Brian Dixon³, Pablo Conejeros⁴, Gallardo José A¹. ⁽¹⁾ Escuela de Ciencias del Mar, Facultad de Ciencias del Mar y Geografía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Departamento de Ciencias del Mar y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Naturales, Universidad de Valparaíso, Viña del Mar, CL. ⁽³⁾ Department of Biology, Faculty of Science, University of Waterloo, Waterloo, CA. ⁽⁴⁾ Instituto de Biología, Centro de Investigación y Gestión de Recursos Naturales (CIGREN), Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, CL.

To characterize and distinguish which organisms are resistant or tolerant to pathogens has returned to be a subject of wide interest in aquaculture. The main pathogens that affects to Chilean salmon aquaculture are the intracellular bacterium *Piscirickettsia salmonis* and the sea lice *Caligus rogercresseyi*. Vaccines against *P. salmonis* are routinely applied to increasing the resistance of farmed fish, however there is no information about protection of vaccines in Atlantic salmon during co-infection with *P. salmonis* and *C. rogercresseyi*. The objective of this work is to compare the effect of vaccination and co-infection on resistance to *P. salmonis* in Atlantic salmon. We challenged a total of 2926 vaccinated and 2816 unvaccinated fish, they were equally distributed in four tanks of 6 m³ with 1435 ± 12 per tank, two replicates for the single infection (PS) and two replicates for the co-infection (CAL+PS). For PS fish were intraperitoneally injected and CAL+PS, sea lice were the primary pathogen. When 50% mortality was achieved, we selected 40 moribund unvaccinated and 40 vaccinated fish, they showed clinical signs of SRS. We evaluated survival probability, *P. salmonis* load of head kidney by RT-QPCR and Specific Growth Rate. The results to indicate that the survival probability of unvaccinated PS and CAL+PS were 4.3% ± 0.5 and CAL+PS 0%, respectively; vaccinated PS and CAL+PS were 43.7% ± 1.3 and 5.8% ± 0.6, respectively. The bacterial load of unvaccinated PS and CAL+PS were 23.1 ± 0.9 and 20.6 ± 1.2, vaccinated PS and CAL+PS were 25.1 ± 3.7 and 20.2 ± 1.3, respectively. The SGR of unvaccinated PS and CAL+PS were -1.3 ± 1.0 and -1.5 ± 0.3, vaccinated PS and CAL+PS were -0.8 ± 0.6 and -1.4 ± 0.8, respectively. There were not significant differences of CT and SGR between unvaccinated and vaccinated fish, whereas the comparison between types of infection showed that CAL+PS infection increased bacterial load and decreased growth rate in moribund fish. In conclusion, vaccination against *P. salmonis* improves partially the resistance on single infection of *P. salmonis*.

Funding by CONICYT-Chile FONDECYT N°1140772, Cooperative Research Programme Fellowship of OECD (PCI 2015-CONICYT), VRIEA-PUCV Postdoctoral project, FONDECYT N°3170744 CONICYT Postdoctoral project and FIB-UV Doctoral fellowship.

MA239

Study of the interaction between murine macrophages and Brazilian clinical isolates of *Cryptococcus gattii*

Folha Jessica Dos Santos¹, Souza Vitória Mylena Gonçalves², Oliveira Anne Caroline Dias², Hurtado Fabian Andres³, Sousa Herdson Renney De⁴, Ildinete Silva-Pereira⁵, Nicola André Moraes⁶, Patrícia Albuquerque⁷. ⁽¹⁾ Laboratório de Biologia Molecular, Programa de Pós graduação em Medicina Tropical, Universidade de Brasília, Brasília, BR. ⁽²⁾ Microbiologia, Ciências Biomédicas, Faculdade Anhanguera de Brasília, Brasília, BR. ⁽³⁾ Biologia Molecular, Programa de Pós Graduação em Patologia Molecular, Universidade de Brasília, Brasília, BR. ⁽⁴⁾ Biologia Molecular, Programa de Pós Graduação em Medicina Tropical, Universidade de Brasília, Brasília, BR. ⁽⁵⁾ Biologia Molecular, Universidade de Brasília, Brasília, BR. ⁽⁶⁾ Imunologia, Universidade de Brasília, Brasília, BR. ⁽⁷⁾ Imunologia/Parasitologia/Microbiologia, Universidade de Brasília campus Ceilândia, Brasília, BR.

Cryptococcosis, systemic mycosis caused by yeast of the genus *Cryptococcus*, usually affects immunocompromised individuals. The *C. gattii* (Cg) species is also capable of affecting immunocompetent people. This disease is strongly linked to the immune status of the host, and macrophages are considered the main effector cells against this yeast. Our objective was to analyze the factors associated with the interaction of clinical isolates of Cg with primary murine macrophages (BMMs) of Balb / c mice. Twelve clinical isolates of Cg, assigned by Fiocruz RJ / Brazil, were used. We used to control the strain H99 (*C. neoformans*). BMMs were incubated with different strains of clinical isolates for 2h and 24h. After the interaction time, the percentage of fungal survival, phagocytosis rate and phagocytic index of the macrophages for each clinical isolate was quantified and the production of inflammatory cytokines and chemokines. The percentage of phagocytosis, the survival rate, and the phagocytic index presented varied values among the different clinical strains evaluated. The percentage of phagocytosis ranged from 53% to 100%. All strains presented CFU equal to or greater than the initial inoculum, with a ratio ranging from 1 (CGF9) to 5 (CGF6). The strain CGF3 had the lowest index of phagocytic, whereas the strain CGF6 had the highest index. The interaction between the BMMs and the isolates demonstrated variable phagocytic actions among the clinical lines analyzed. Some strains survived more easily in the interaction with phagocytes, indicating a possible difference in virulence among the isolates studied. These data corroborate the understanding of the interactions between clinical strains and phagocytic systems. This knowledge may contribute to the development of future strategies for the treatment of cryptococcosis.



MA240

ISAv gatilla estrés oxidativo mediado por ROS en células CHSE-214, desencadenando la SUMOilación de proteínas celulares y virales

Fernanda Fredericksen¹, Valentina Arriagada¹, Gardenia Payne¹, Nicolás Maldonado¹, Melina Villalba¹, Juan Romero¹, Víctor Olavarria¹. ⁽¹⁾ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

El virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAv) es un patógeno de gran importancia en la salmonicultura debido a la alta tasa de mortalidad que produce en su hospedero natural, lo que se traduce en cuantiosas pérdidas económicas tanto a nivel mundial como nacional. Su genoma es ARN de hebra simple, el cual codifica para 10 proteínas virales, entre las que se encuentran dos proteínas de gran interés para el estudio de la infección por este patógeno, nucleoproteína (NP) y la proteína de matriz 1 (M1). Como se ha estudiado anteriormente, el fuerte estrés oxidativo gatillado por ISA virus en el curso de una infección tiene como consecuencia la muerte de la célula mediante apoptosis, en un contexto de elevada progenie viral. En este sentido resulta interesante entender como una condición celular inviable favorece la síntesis y maduración de las partículas virales. Desde el punto de vista molecular el incremento de las especies reactivas de oxígeno (ROS), desencadena la activación de la maquinaria de SUMOilación celular que impacta directamente sobre sustratos proteicos celulares y virales muy específicos. En relación con esto, por diversos análisis y herramientas bioinformáticas se determinó que ambas proteínas virales, NP y M1, son susceptibles de la modificación post-traducciona SUMO, lo que fue demostrado experimentalmente por ensayos de inmunoprecipitación. Adicionalmente, mediante Western blot se pudo observar que con tan solo la mera transfección de NP y M1 recombinante en células CHSE-214, se produce un remodelamiento del perfil de SUMOilación de proteínas de la célula aceptora, sin embargo, por ensayos de RT-qPCR se vio que no existe modificación a nivel de transcrito de la maquinaria de SUMOilación, tanto de SUMO1 y/o SUMO3 como de las enzimas que son capaces de conjugar SUMO a proteínas blanco. Estos resultados estarían demostrando que el proceso de SUMOilación celular es necesario en alguna etapa de la replicación viral.



MA241

Effect of HIV-1 expression on the decapping machinery associated with processing bodies

A. Gaete-Argel¹, C. Bueno-Nieto¹, N. Peñailillo-Cabrera¹, F. Valiente-Echeverría¹. ⁽¹⁾ Laboratory of Molecular and Cellular Virology, Virology Program, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Universidad de Chile, Santiago, CL.

The Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1) is a member of the *Retroviridae* family and is the causative agent of Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). Once integrated into a host chromosome, RNA polymerase II drives the synthesis of the full-length 9-kb viral mRNA, which is identical to the genomic RNA (gRNA) present within viral particles. Given that the 9-kb viral mRNA exhibits all the features of an eukaryotic mRNA, including a 5-cap structure and a 3'-poly (A) tail, it becomes a substrate for the cellular degradation machinery of mRNA. However, after translation, the gRNA must be packaged into new viral particles, so it is thought that HIV-1 needs to overcome gRNA degradation to ensure viral particle production. The mRNA decay machinery and other translation repressors accumulate in cytoplasmic foci referred to as Processing Bodies (PBs). Eukaryotic mRNA degradation is generally initiated by shortening of the 3' poly (A) tail by the major mRNA deadenylase complex PAN2/PAN3 and CCR4/Not1. Following deadenylation, mRNAs are decapped by the enzyme subunit 2 (DCP2), which functions in a decapping complex including cofactors that mediate its activity (DCP1), and regulators that coordinate decapping with translational repression. Finally, the 5'-3' exonuclease activity of Xrn1 degrades the mRNA after decapping. Given that removal of the mRNA 5'-7methyl-guanosine cap inhibits translation initiation and commits a deadenylated mRNA to complete degradation, we believe that HIV-1 alters the decapping machinery to ensure efficient replication. In this study we characterized the effect of HIV-1 expression on components of the decapping machinery including the decapping enzymes DCP1/DCP2 and cofactors that mediate its activity. Our preliminary data reveal a significant decrease in the number of PBs in U2OS cells expressing a DCP1-YFP fusion protein transfected with the infectious HIV-1 molecular clone pNL4-3, compared to mock condition. Interestingly, we found that *dcp1* levels significantly increase during HIV-1 expression. Moreover, we observed that the partial depletion of DCP1 reduced the Gag expression without affecting the gRNA levels. Together, these results strongly suggest that there is a complex interplay between HIV-1 and components of the decapping machinery.

Funding by: FONDECYT 11140502, FONDECYT 1180798 and CONICYT grant 21181508.

MA242

Comparación de microbiota intestinal de niños sanos con y sin presencia de cepas de *Escherichia coli* diarreogénicas

Pablo Gallardo¹, Nayaret Chamorro¹, Romina Valenzuela¹, Miguel O'Ryan², Farfán Mauricio J¹, Roberto Vidal².

⁽¹⁾ Departamento de Pediatría y Cirugía Infantil, Campus Oriente - Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Providencia, Santiago, CL. ⁽²⁾ Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia, Santiago, CL.

Introducción: *Escherichia coli* diarreogénicas (ECD) representan una causa importante de diarrea a nivel mundial y por tanto de disbiosis en menores de 5 años. Sin embargo, varios estudios han descrito la presencia de cepas de ECD en niños sanos. En trabajos previos se ha observado una microbiota intestinal distintiva tanto para niños sanos como con diarreas asociadas a ECD, sin embargo, los cambios de la microbiota intestinal en niños con sanos portadores de ECD no ha sido del todo evaluada. **Objetivo:** Determinar el efecto de la presencia de ECD en la microbiota intestinal de individuos sanos menores de 5 años del Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna (HLCM) y de una Cohorte de Colina. **Metodología.** Se analizaron 61 muestras de deposiciones de niños sanos mediante la técnica de FilmArray[®] GI para la detección de patógenos intestinales. De estas, 8 muestras del HLCM y 15 de Colina, resultaron ser positivas para una de las cepas de ECD. Se secuenciaron las regiones V3-V4 del gen 16S rRNA utilizando la plataforma Illumina-Miseq y las secuencias se agruparon en unidades taxonómicas operativas para realizar su clasificación filogenética. **Resultados.** Se observaron diferencias significativas en la composición microbiana entre las muestras provenientes de HLCM y Colina. No obstante, las muestras positivas para ECD de Colina presentan una composición microbiana similar, independiente de la presencia de ECD, caso contrario a lo observado en HLCM en donde se observan diferencias significativas entre las muestras positivas y negativas para ECD. A nivel de *phyla* se observó una mayor abundancia de *Bacteroidetes* en las muestras del HLCM en comparación a las de Colina, mientras que en las muestras de Colina *Actinobacteria* presenta una mayor abundancia. No se observaron diferencias en los *phyla Firmicutes* y *Proteobacterias* entre los grupos. En caso particular de HLCM se observaron diferencias en la abundancia de los *phyla Terenicutes* y *Fusobacteria* entre el grupo con ECD y sin ECD. **Conclusiones.** Los niños sanos provenientes del HLCM y de Colina poseen diferencias en su composición microbiana, tanto en presencia como ausencia de patógenos ECD; estas diferencias están dadas principalmente por las *phyla Bacteroidetes* y *Actinobacteria*.

FONDECYT 1160426.

MA243

Profile of virulence genes of O26:H11 Shiga toxin-producing (STEC) and atypical enteropathogenic (aEPEC) *Escherichia coli* isolated in Brazil

Ori Érica Lima³, Cavalcanti Adriene Maria F.³, Beatriz Guth¹, Hernandes Rodrigo Tavanelli², Pinheiro Sandra Regina S.³, Leite Daniéla³, **Dos Santos Luis Fernando**³. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, BR. ⁽²⁾ Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, BR. ⁽³⁾ Centro de Bacteriologia, Núcleo de Doenças Entéricas, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, BR.

Introduction: *Escherichia coli* of serotype O26:H11 is associated with EPEC and STEC diarrheagenic pathotypes. Comparative analyzes of O26:H11 STEC and aEPEC strains from several countries indicated that a proportion of the aEPEC isolates represent STEC clones that have lost *stx* genes through bacteriophage excision. **Objective:** To investigate the occurrence of several virulence genes, some of them highly specific to the STEC pathotype, in a collection of O26:H11 STEC and aEPEC strains. **Methods:** Ten STEC and 38 aEPEC O26:H11 strains were studied. Subtyping of the *stx* gene was performed by conventional PCR. The same methodological approach was used to search for the *ehxA*, *toxB*, *katP*, *cdt-V*, *iha*, *espP*, *astA*, *etpD* and *terE* genes. Genes *z2098*, *z2099*, *z2121*, *espK*, *espM1*, *espN*, *espV* and *ureD* were investigated by real-time PCR. **Results:** Eight of the 10 STEC strains had *stx* subtype 1a, while two strains presented *stx* 2a. All the STEC strains harbored *iha*, *z2098*, *z2099*, *z2121*, *espK*, *ureD* and *terE*. Genes *espM1*, *ehxA*, *espP* and *toxB* occurred at the same frequency in 9 (90%) of the STEC. Genes *katP*, *espN* and *espV* were found in 7 (70%), 7 (70%) and 6 (60%) of the strains, respectively. Among aEPEC, all of them were positive for the *z2121* gene. Genes *espM1*, *iha*, *espK*, *terE*, *ureD*, *z2098*, *z2099*, *espP*, *ehxA*, *espN*, *toxB*, *katP* and *espV* were present in 34 (89%), 31 (82%), 31 (82%), 30 (68%), 26 (68%), 25 (66%), 25 (66%), 19 (50%), 18 (47%), 16 (42%) and 13 (34%) of the strains, respectively. The *astA* gene was found in only a single atypical EPEC isolate and none of the strains studied presented *cdt-V*. **Conclusion:** O26:H11 STEC strains carrying *stx2a* are reported for the first time in Brazil. A variety of virulence profiles were observed in both STEC and aEPEC, however in the latter group, the high frequency of genes such as *espM1* and *espK*, which are considered to be highly specific markers of STEC, is highlighted, suggesting that a large proportion of the O26:H11 strains identified as aEPEC in laboratorial routine, represent STEC clones that have lost the *stx* genes.

Financial support: FAPESP.



MA244

Virulence of *Candida haemulonii* complex in *Galleria mellonella* and efficacy of classical antifungal drugs: a comparative study with other clinically relevant non-*albicans* *Candida* species

Silva Laura Nunes¹, Silva Rodrigo Campos², Ramos Livia De Souza¹, Trentin Danielle Da Silva³, Macedo Alexandre José², Marta Helena Branquinho¹, Dos Santos André Luis Souza¹. ⁽¹⁾ Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Universidade de Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Faculdade de Farmacia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽³⁾ Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, BR.

Candida haemulonii complex has emerged as notorious yeasts causing invasive infections with high rates of treatment failures. Currently, there is particular interest in the development of non-mammalian host models to study microbial virulence, aiming to evade the ethical impact of animal tests. Herein, we compared the virulence of *C. haemulonii*, *C. duobushaemulonii* and *C. haemulonii* var. *vulnera* with non-*albicans* *Candida* species (*C. tropicalis*, *C. krusei* and *C. lusitanae*) on *Galleria mellonella* and efficacy of classical antifungal drugs. All fungi presented a dose-dependent effect on larvae killing, a decrease in global hemocyte density and were phagocytosed by hemocytes in equal proportions. Fungal inoculation caused early larvae melanization after some minutes of injection, followed by an augmented pigmentation after 24h. The differences between species virulence can be explained, at least in part, by differences in growth rate and production of hydrolytic enzymes. First-line antifungals were tested with equivalent therapeutic doses and MIC profile *in vitro* was correlated with *in vivo* antifungal efficacy. Additionally, fungal burden increased in infected larvae along time and only caspofungin reduced the number of colony-forming units of *C. haemulonii* complex. So, *G. mellonella* offers a simple and feasible model to study *C. haemulonii* complex virulence and drug efficacy.

CNPq, FAPERJ and CAPES.



MA245

Characterization of high dissemination pulsotype of *Bordetella pertussis* identified in Distrito Federal, Brasil

Oliveira Nayara P¹, Rocha Ellen L.¹, Martins Vicente P¹, Mandacaru Samuel C¹, Sebastien Charneau¹, Campos Tatiana A¹. ⁽¹⁾ Biologia Celular, Instituto de Biologia, Universidade de Brasilia, Brasilia, BR.

Pertussis or whooping cough is a highly contagious, respiratory disease, caused by the Gram-negative bacterium *Bordetella pertussis* (*Bp*). The disease affects mainly young children and was one of the most common causes of infants' mortality before vaccine introduction in 1950. Although the numbers of cases have drastically reduced with vaccination, pertussis remains endemic with epidemic cycles every 2–5 years. In Brazil, vaccination had reduced the numbers of cases significantly, however in 2011 the incidence of whooping cough increased in an outbreak that lasted until 2014. During that period, 72,901 cases were registered throughout the country. Analysis of strains isolated in the Distrito Federal between 2011 and 2014, by PFGE (*Pulsed Field Gel Electrophoresis Macrorestriction Analysis*) showed that a specific pulsotype (named Bp.Xbal0039) presented high prevalence, corresponding to 51% of the isolates. Among the hypotheses proposed to explain the resurgence of pertussis are increased awareness of the disease, optimization of diagnosis and evolution of circulating strains under vaccine pressure. Considering the identification of the pulsotype Bp.Xbal.0039 of *B. pertussis* as the major circulation lineage with high potential for dissemination in the population of the Distrito Federal and region, we intend to characterize the profile of colonization of laryngeal epithelial cells by this lineage as well as their capacity to form biofilm. Ten isolates were tested to biofilm biomass production in crystal violet assay. Four belonging to the pulsotype Bp.Xbal.0039 and six from others 5 pulsotypes that are less predominant. From the ten isolates, six isolates produce strong biofilm, two have moderate biofilm and one exhibit weak biofilm. There is no difference in the biofilm production pattern between pulsotypes. Cell viability assays performed in laryngeal epithelial cells shows a significant viability reduction after infection. There isn't a significant reduction in cell viability of cells infected with pulsotype Bp.Xbal.0039 isolates comparing to the ones infected with less predominant pulsotypes. Initial results indicate that biofilm and toxicity aren't major factors contributing to the success of dissemination of lineage Bp.Xbal.0039. Further experiments are necessary to identify what is influencing circulation of this predominant pulsotype.

MA246

Study of endophytic fungus isolated from *Hortia superba* (Rutaceae) in the production of secondary compounds

Dianne Formoso¹, Alany Ingrid Ribeiro¹, Da Silva Maria Fatima Das Graça¹. ⁽¹⁾ Chemistry, Ufscar, Ufscar.

The order Sapindales, composed for the families Rutaceae, Meliaceae, Burseraceae, Simaroubaceae, Bierbersteiniaceae, Kirkiaceae, Anacardiaceae, Sapindaceae and Nitrariaceae, is rich in various classes of special metabolites, being the most frequent: coumarins, alkaloids, flavonoids, quassinoides and limonoides. The family Rutaceae is characterized by a great diversity of those metabolites not common in other families of the order and is constituted by different genera, of which stands out *Hortia*, composed for five species distributed from Panama to the state of São Paulo, and some of the area Amazônica, besides of to be endemic in the area of Minas Gerais, where take the plant as a sample. In this work the endophytic fungus belonging to the family Xylaria, was isolated. This fungus was inoculated in the malt extract agar culture medium, where was produced several secondary metabolites, and between they were separated and identified five compounds: Decolorgriseofulvin, Griseofulvina, 3,4-Dihydro-8-hydroxy-3-methylisocoumarin-5-carboxylic acid, Spiro[benzofuran-2(3H),1'-[2] cyclohexene]-3,4'-dione, 5-cloro-7-decolorgriseofulvin, a compound that is still unpublished and 5-clorogriseofulvin. The second compound is isomer of this last substance and was identified by the NMR and Mass Spectrometry techniques. The hemolytic activity in blood was measured for the substances, resulting the griseofulvin being less toxic in blood, for compound concentrations of 0.1 and 0.5 mg/ml since there was an increase in cell concentration and viability by 20%, more than your analogue, the decolorgriseofulvin, where for concentrations of 0.1 and 0.5 mg/ml only there was an increase in the cell viability of a 5%. For concentrations of 0.01 and 0.05 for both compounds there was no appearance of cellular activity. In addition, the biological activity of the compounds was analyzed against to the strain *Staphylococcus aureus*, by the Inhibitory Concentration Method for bacteria (MICs), concluding as result that the substances do not have antimicrobial activity against the Gram-positive bacteria, since once the incubation period had elapsed, it was verified that there was a bacterial growth of 128 Colony Forming Units (CFU/ML), thus showing a high result.

I thank the Federal University of São Carlos, and CNPq and Capes for allowing me to do research.

MA247

Phylogenetic analysis of gp43 glycoprotein of *Paracoccidioides brasiliensis* isolates

Silva Carla Thália S¹, Moraes Kelly Raphysa P¹, Santos Maria De Fátima Sousa Dos¹, Sousa Michelly Kelliny L¹, Alves Nathanael Dos Santos¹, Machado Ana Clara Rabelo N¹, Santos Khelvin Myner Da C¹, Franco Maria Syndel Caroline R¹, Sousa Jacqueline Batista², Paim Kennio Ferreira³, Fonseca Fernanda Machado¹. ⁽¹⁾ Department of Biomedicine, Campus Ministro Reis Velloso, Federal University of Piauí, Parnaíba, BR. ⁽²⁾ Institute of Biological and Natural Sciences, UFTM, Federal University of Triangulo Mineiro, Uberaba, BR. ⁽³⁾ Department of Infectious and Parasitic Diseases, UFTM, Federal University of Triangulo Mineiro, Uberaba, BR.

Background: Paracoccidioidomycosis (PCM) is a systemic mycosis with higher prevalence in South America. The aetiological agent, *Paracoccidioides brasiliensis*, is a dimorphic fungus, which can be found as a yeast-like form in host tissues or as mycelial form (infective) under saprobic conditions in the environment. Five phylogenetic species of *P. brasiliensis* were already described, mainly using sequencing techniques. Despite several genes have been widely used in *P. brasiliensis* genetic classification, the sequencing of the glycoprotein gp43 gene presented significant discriminatory power in order to genetic analyse the isolates of this fungus. **Methods:** The objective of this work was to evaluate the genetic diversity of the gp43 glycoprotein of *P. brasiliensis*. The data were obtained from NCBI (National Biotechnology Information Center). Phylogenetic analysis was calculated using neighbor-joining and maximum likelihood methods in MEGA 5.0 software. The evolutionary distances were calculated in accordance with Kimura-2-parameter (K2P) with a bootstrap with 1000 replicates. **Results:** Eighty-two partial sequences of gp43 gene were included, being 17 (21%) isolates from Brazil and 65 (79%) isolates from Colombia. The phylogenetic analysis demonstrated bootstrap values of 63% to 99% regardless to the geographic region in which the samples were isolated. It was observed the formation of a larger and a minor clade, where Brazilian samples were grouped with the Colombian samples and showed a bootstrap of 89% and 93%, respectively. **Conclusion:** The results of the present study demonstrated that the sequences evaluated are genetically similar due to few events of gene recombination of gp43 glycoprotein.

UFPI (Federal University of Piauí), FAPEPI (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Piauí).

MA248

Prospecção *in silico* de genes *vip3* em banco de dados metagenômico

Castellane Tereza Cristina Luque², Lemos Eliana Gertrudes De Macedo¹, Lemos Manoel Victor Franco².

⁽¹⁾ Departamento de Tecnologia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, BR. ⁽²⁾ Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, BR.

Diversas pesquisas vêm sendo realizadas para identificar novas proteínas entomopatogênicas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) com atividade tóxica contra pragas que não são suscetíveis às toxinas conhecidas. As proteínas Vip (Proteína Inseticida Vegetativa) inseticidas, como por exemplo a Vip3Aa20 de Bt, é uma opção biotecnológica para o controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) e *Diatraea saccharalis* (F.), no Brasil. Em menos de 20 anos de uso da tecnologia Bt, já foram registradas espécies de Lepidoptera e Coleoptera resistentes às proteínas Bt, mesmo que várias análises já realizadas quanto à diversidade de proteínas em diversos isolados indiquem o seu grande potencial para o controle de diferentes espécies de pragas de importância econômica. Desta forma, este trabalho teve como objetivo a prospecção *in silico* (mineração) de genes *vip3* em banco de dados metagenômico. Essa primeira etapa gerou dados básicos sobre a comparação das sequências de amostras já processadas frente a incorporada na tecnologia Bt, designado milho MIR162 (Syngenta Seeds Ltda), com cassetes gênicos *vip3Aa20* e *manA*. Somente as sequências de genes *vip*, devidamente anotadas anteriormente, revisadas e armazenadas no banco de dados internacional UniProt (UNIPROT CONSORTIUM, 2012) foram selecionadas para este fim. A prospecção ocorreu de forma exaustiva via programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) para que fosse obtido o alinhamento das sequências para identificação de regiões conservadas entre ORFs do banco de dados e sequências de proteína já incorporada na tecnologia Bt. Os genes *vip3A* selecionados, com seguintes números de acesso: D9IAX4-1, Q79SG2, Q938Z1, Q938Z1 e I6R0W9, como esperado de acordo com o alinhamento realizado pelo programa ClustalW com Vip3 caracterizadas de MIR162 Vip3Aa (ABG20429.1) possuem similaridade em diversas regiões que são conservadas entre as sequências. Há uma grande quantidade de proteínas Cry e Vip já descritas, porém os resultados apresentados também incitam a busca por novas toxinas através da Metagenômica aliada à Bioinformática. As proteínas oferecem uma alternativa promissora para MIP (Manejo Integrado de Pragas) e, esta busca por diferentes toxinas ou até então desconhecidas pode possibilitar uma maior eficácia para o controle de insetos associado ao MIP, visando também novas alternativas para reduzir os problemas relacionados à resistência.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

MA249

Identificación de polimorfismos de nucleótidos simples (SNPs) asociados al desarrollo de enfermedad por Andes Virus.

Ruth Pérez¹, Analia Cuiza¹, Grazielle Ribeiro¹, Marcela Ferres², Mario Calvo³, Rioseco María Luisa⁴, Jeronimo Graf⁵, Luis León⁶, Karen Espinoza⁷, Susana Eyheramendy⁸, Francisca Valdivieso⁹, Pablo Vial¹, Cecilia Vial¹. ⁽¹⁾ Programa Hantavirus, Instituto de Ciencia e Innovación en Medicina (ICIM), Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología pediátricas, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Hospital base de Valdivia, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽⁴⁾ Hospital Puerto Montt Dr Eduardo SchÜt Schroeder, Departamento de Infectología, Puerto Montt, CL. ⁽⁵⁾ Unidad de cuidados Intensivos (UCI), Clínica Alemana, Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo, Santiago, CL. ⁽⁶⁾ Instituto de ciencias Biomédicas, Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL. ⁽⁷⁾ Centro de Genética y Genómica, Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo, Santiago, CL. ⁽⁸⁾ Departamento de Estadística, Facultad de Matemáticas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽⁹⁾ Departamento de Microbiología, Hospital Luis Calvo Mackenna, Santiago, CL.

Andes virus (ANDV) es el agente etiológico del síndrome cardiopulmonar por hantavirus (HCPS) en Chile considerado como un problema de salud pública, con una tasa de letalidad del 36%. El desarrollo de la enfermedad puede ir desde una presentación leve o asintomática a un progreso rápido y letal del síndrome cardiopulmonar. Hasta el momento no se dispone de vacuna ni tratamiento. Factores genéticos del huésped como los Polimorfismos de Nucleótidos simples (SNPs), pueden contribuir al desarrollo de la enfermedad; es por eso, que en el presente trabajo se realizó un estudio de asociación del genoma completo (GWAS) con 189 pacientes: 102 severos y 87 Leves utilizando Affimetrix SNP array 6.0 que compara la información genética de 900.000 SNPs entre los dos grupos. Las frecuencias alélicas fueron analizadas con un modelo de regresión logístico utilizando el programa Plink y se utilizaron como covariables la ancestría y el género. Los SNPs rs4741230 (G>C) ubicado en el cromosoma (CHR) 9 y rs289076 (A>G) (CHR 4) presentaron los menores valores de P (1,66E-05 y 3,05E-05) respectivamente, así como OR sugerentes como factor de protección para el SNP rs4741230 (0.14 IC 0.06-0.35) y Factor de riesgo (2.74 IC 1.7-4.4) para el SNP rs289076. Utilizando la herramienta LocusZoom se determinó una región de 200pb río arriba y río debajo de los SNPs para establecer posibles genes dentro o cerca de la ubicación de los mismos. Este análisis mostró al gen TYRP1 en la región del SNP rs4741230. Estos resultados sugieren que las personas que presentan la variante C en el SNP rs4741230 estarían protegidos contra la infección por ANDV desarrollando una enfermedad leve. Por el contrario, las personas que presentan la variante G en el SNP rs289076, tendrían más riesgo de desarrollar una enfermedad severa al infectarse con ANDV. Los anteriores resultados están siendo validados en una población diferente.

Proyecto FONDECYT 11110397 – 1161447.



MA250

Identification of cellular lncRNAs associated to the HIV-1 genomic RNA

Paulina Aguilera-Cortés¹, Cecilia Rojas-Fuentes¹, Daniela Barra-Rojas¹, Fernando Valiente-Echeverría¹, Ricardo Soto-Rifo¹. ⁽¹⁾ Programa de Virología, Facultad de Medicina, Universidad De Chile, Santiago, CL.

During the late steps of viral replication, the Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1) genomic RNA (gRNA) is assembled into specific ribonucleoprotein complexes (RNPs) that will define its use as mRNA or viral genome. As such, the composition of the RNP in which the gRNA is present determines its cytoplasmic fate. Several viral and host proteins have been shown to be part of the RNPs of the HIV-1 gRNA, but little is known about regulatory RNAs that are present in these complexes. Despite non-coding RNAs (ncRNAs) such as miRNAs and particularly long non-coding RNAs (lncRNAs) appear as important post-transcriptional regulators, their role on the late steps of HIV-1 replication has been poorly studied. Indeed, whether lncRNAs are associated to the HIV-1 gRNA to regulate the late steps of viral replication is completely unknown. Therefore, the aim of this work was to isolate the RNPs of the HIV-1 gRNA and identify the associated lncRNAs. In order to determine whether lncRNAs are components of viral RNPs, we developed an interactome capture strategy allowing the isolation of the RNPs containing the HIV-1 gRNA from CD4+ T-lymphocytes. Quantification of the HIV-1 gRNA from the isolated RNPs revealed a 6.000-fold enrichment indicating the selectivity of our interactome capture strategy for the viral genome. Interestingly, we also observed a slight enrichment of the tRNA^{Lys3} but not of the ncRNA 7SL in our isolated RNPs. Both tRNA^{Lys3} and 7SL RNAs are present in viral particles but only the former is directly bound to the gRNA thus, indicating that our strategy allows the specific purification of the viral genome together with its associated RNAs. We then conducted RNA-seq analyses and identified the presence of lncRNAs associated to the HIV-1 gRNA. We are currently studying the role of some of these regulatory RNAs in order to gain insights of this poorly understood virus-host interaction.

FONDECYT N°1160176, Anillo ACT1408 and CONICYT-PFCHA/Doctorado Nacional 2017-21170846.

MA251

Virulence markers on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from Systemic Lupus Erythematosus patients

Fonseca Luisa A V¹, Lima Camila R B¹, Lima Neto Jorge F¹, Oliveira Laysa M H¹, Sacur Vanise G¹, Fragoso Thiago S², Silva Denise M W³, Maranhao Fernanda C A¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia Clínica, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, BR. ⁽²⁾ Setor de Reumatologia, Hospital Universitário Prof. Alberto Antunes, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Micologia, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, BR.

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune inflammatory disease, and pharmacotherapy is done with corticosteroids and immunosuppressive drugs, making patients more susceptible to infections, mainly when admitted in hospitals due to active disease manifestations. Once *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* are involved in healthcare-associated infections (HAIs), we aimed to detect virulence genes in these colonizing bacteria from SLE patients in Maceió/AL (Brazil). Nasal, oral and sputum samples were collected from SLE patients and individuals without autoimmune diseases (control group), for inoculations of each biological sample on sheep blood, mannitol salt, cetrimide, and tests for DNase, catalase and oxidase production. *S. aureus* and *P. aeruginosa* identified were submitted to DNA extraction in water bath (99°C; 15 minutes), followed by centrifugation and DNA resuspension in Tris-EDTA. One multiplex-PCR (m-PCR) reaction in *P. aeruginosa* DNA targeted the *lasB*, *aprA* and *rhlAB* genes (proteases and synthesis of rhamnolipids) was performed, besides two m-PCR in *S. aureus* focusing first the *fnbB*, *fib*, *clfA* and *clfB* genes (encoding adhesins and biofilm-associated proteins), and after the *hlg* and *lukED* genes (encoding haemolysins and leukocidins); all amplicons were evaluated in agarose gel electrophoresis. Out of 98 samples from 37 patients, 14 *S. aureus* and 7 *P. aeruginosa* strains were obtained and 4 *P. aeruginosa* isolates came from hospitalized patients, all positive to the *aprA* gene. At least one virulence marker was detected in 85.7% of the *S. aureus* isolates, with 4 different gene-encoding virulence factors in 3 isolates. The *clfA* gene was the most common virulence factor found in *S. aureus* (12/14), and only one *S. aureus* isolate didn't present any virulence factor. In 21 volunteers (control group) were collected 3 *S. aureus* (only 1 *clfA* positive) and 1 *P. aeruginosa* with *lasB* gene. LES patients presented a higher colonization rate (16/37) when compared to healthy individuals (4/21). Immunocompromised who carry virulent microorganisms may have a higher risk to develop more severe infections, with an increase of bacteria competitiveness and direct damage in the host tissue. This was the first molecular study focusing virulence markers on bacteria isolated from LES patients in Brazil.

MA252

Abordagem *in silico* para a caracterização funcional e estrutural da ferritina Dps, presente no genoma de *Corynebacterium pseudotuberculosis*

Carlos Leonardo De Aragao Araujo¹, Jorianne Thyessa Castro Alves¹, Patricia Nascimento Silva¹, Vasco Azevedo², Artur Silva¹, Adriana Ribeiro Carneiro Folador¹. ⁽¹⁾ Centro de Genômica e Biologia de Sistemas, Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Pará, Belém, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Genética Celular e Molecular, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR.

Corynebacterium pseudotuberculosis é o agente etiológico da linfadenite caseosa, uma patologia infectocontagiosa crônica prevalente em diversas regiões, inclusive na América Latina, que causa danos ao agronegócio mundial. Apesar de seu potencial zoonótico, ainda não existem métodos de tratamento completamente efetivos, visto que a antibioticoterapia e as vacinas disponíveis possuem níveis de ação variados, sendo ainda necessárias medidas profiláticas para minimizar os impactos das infecções. Por este motivo, esforços têm sido realizados para encontrar moléculas com potencial para o desenvolvimento de novas drogas e vacinas através da utilização de abordagens computacionais, visando a prospecção de novos alvos contra esta bactéria, bem como a identificação de proteínas envolvidas na virulência. Neste contexto, o gene *dps* codifica uma ferritina que protege o DNA contra danos originados por excesso de ferro no meio intracelular, ausência de nutrientes, radiação e ambientes ácidos, e tem sido descrita como um importante componente para mecanismos de sobrevivência e patogenicidade bacteriana. Desta forma, este estudo teve como objetivo caracterizar *in silico* a proteína Dps através de abordagens funcional e estrutural. Através de dados de RNA-Seq disponíveis no NCBI, foi analisado o perfil de expressão diferencial do gene *dps* em estresse ácido (pH 5), das estirpes 1002 e 258 pelos programas TopHat e Cufflinks, sendo considerado induzido caso apresentasse expressão mínima de duas vezes (*fold change* ≥ 2) em relação ao controle. Posteriormente, foi realizada a predição da estrutura secundária através do PSIPRED e a construção do modelo tridimensional por homologia pelo MODELLER, visualizado no Chimera. A validação do modelo foi realizada através do PROCHECK. O gene *dps* apresentou elevados níveis de expressão (*fold change* 1002 = 6.16; *fold change* 258 = 7.63). Além disto, foi predito o arranjo estrutural baseado em cinco hélices intercaladas por regiões de dobras, também presentes na estrutura tridimensional de seu molde, isolado de *Mycobacterium smegmatis* (PDB 2yw6). O gráfico de Ramachandram mostrou que 95.2% dos resíduos de aminoácidos se encontram em regiões favoráveis, indicando que a estrutura gerada apresenta excelente grau de confiabilidade. Estas análises apontam para um possível mecanismo de ação da Dps no ambiente fagolisossômico, quando há uma diminuição do pH intracelular.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior; Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas.

MA253

Analysis of *Mycobacterium tuberculosis* genotypic lineage distribution in Chile and neighboring countries

Jaime Lagos², David Couvin¹, **Loredana Arata**², Javier Tognarelli², Tamara Leiva³, Fabiola Arias³, Juan Carlos Hormazabal⁴, Nalin Rastogi¹, Jorge Fernandez². ⁽¹⁾ TB and Mycobacteria Unit, WHO Supranational TB Reference Laboratory, Institut Pasteur de la Guadeloupe, Guadeloupe, FR. ⁽²⁾ Biomedical, Molecular Genetic, Public Health Institute of Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Biomedical, Mycobacteria Laboratory, Public Health Institute of Chile, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Biomedical, Subdepartment of Infectious Disease, Public Health Institute of Chile, Santiago, CL.

Tuberculosis (TB), caused by the pathogen *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), remains a disease of high importance to global public health. Studies into the population structure of MTB have become vital to monitoring possible outbreaks and also to develop strategies regarding disease control. Although Chile has a low incidence of MTB, the current rates of migration have the potential to change this scenario. We collected and analyzed a total of 458 *M. tuberculosis* isolates originating from all 15 regions of Chile. The isolates were genotyped using the spoligotyping method and the data obtained were analyzed and compared with the SITVIT2 database. A total of 169 different patterns were identified, of which, 119 patterns (408 strains) corresponded to Spoligotype International Types (SITs) and 50 patterns corresponded to orphan strains. The most abundantly represented SITs/lineages were: SIT53/T1 (11.57%), SIT33/LAM3 (9.6%), SIT42/LAM9 (9.39%), SIT50/H3 (5.9%), SIT37/T3 (5%); analysis of the spoligotyping minimum spanning tree as well as spoligoforest were suggestive of a recent expansion of SIT42, SIT50 and SIT37; all of which potentially evolved from SIT53. The most abundantly represented lineages were LAM (40.6%), T (34.1%) and Haarlem (13.5%). LAM was more prevalent in the Santiago (43.6%) and Concepción (44.1%) isolates, rather than the Iquique (29.4%) strains. The proportion of X lineage was appreciably higher in Iquique and Concepción (11.7% in both) as compared to Santiago (1.6%). Global analysis of MTB lineage distribution in Chile versus neighboring countries showed that evolutionary recent lineages (LAM, T and Haarlem) accounted together for 88.2% of isolates in Chile, a pattern which mirrored MTB lineage distribution in neighboring countries (n = 7378 isolates recorded in SITVIT2 database for Peru, Brazil, Paraguay, and Argentina; and published studies), highlighting epidemiological advantage of Euro-American lineages in this region. Finally, we also observed exclusive emergence of patterns SIT4014/X1 and SIT4015 (unknown lineage signature) that have hitherto been found exclusively in Chile, indicating that conditions specific to Chile, along with the unique genetic makeup of the Chilean population, might have allowed for a possible co-evolution leading to the success of these emerging genotypes.

MA254

Overexpression of tRNA^{Gly}_{UCC} affects the solubility of cell cycle protein cdc13 and growth of *Schizosaccharomyces pombe*

Loreto Arias¹, Sandra Moreira-Ramos¹, Assaf Katz¹, Omar Orellana¹. ⁽¹⁾ Biología Molecular y Celular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Under stress conditions, tRNAs can be affected by changes in their levels as well as chemical modifications that might alter their function, including translation efficiency. Several tRNAs from yeast, including tRNA^{Gly}, are induced under oxidative stress. It is not known whether this induction affects protein translation. The purpose of this work was to determine whether increasing the tRNA level affects the expression of proteins and/or the cell growth in *Schizosaccharomyces pombe*. We induced oxidative stress in cultured cells by H₂O₂ and analyzed the tRNA levels by Northern blot. Our results showed that in *S. pombe* under H₂O₂-induced oxidative stress, tRNA^{Gly}_{UCC} and tRNA^{Arg}_{UCU} increased their levels while tRNA^{Thr}_{UGU} did not change. Because tRNA^{Gly}_{UCC} has a low gene dosage and decodes a non-optimal codon, we studied the effect of the overexpression on this tRNA in the expression and solubility of cdc13. The mRNA encoding cdc13 possesses the rare GGA and GGG codons recognized by the tRNA^{Gly}_{UCC}. Overexpression of the tRNA^{Gly}_{UCC} gene in *S. pombe* increased aggregation of cdc13, but did not affect the mRNA and protein levels. Additionally, a reduced colony size and elongated cells were observed. In conclusion, these results revealed that under stress conditions increase of tRNAs levels in *S. pombe* occurs in species-specific manner. Overexpression of the tRNA^{Gly}_{UCC} affected the solubility of the cell cycle protein cdc13, that could generate the elongated phenotype as a defect of the cell cycle.

FONDECYT Regular 1150834. FONDECYT Postdoctorado 3150366. Beca CONICYT Magister Nacional 22151224.

MA255

Caracterización de la interacción del sensor ArcB y los reguladores KdpE, BasR y/o BaeR de *Salmonella Typhimurium* en condiciones de estrés generado por H₂O₂

Baquedano María S¹, Briones Alan C¹, Cabezas Carolina E¹, Lorca Diego E¹, Cofré Agustín A¹, Sulbaran Yoelvis N¹, Saavedra Claudia P¹. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Los sistemas de dos componentes (TCS) corresponden a vías de transducción de señales utilizados por los microorganismos para adaptarse a cambios en su microambiente. Estos sistemas se componen de un sensor quinasa de membrana que detecta estímulos y cataliza su autofosforilación, posteriormente transfosforila a un regulador de respuesta citoplasmático, el cual en su forma fosforilada modula la expresión génica. Recientemente, se ha sugerido que diversos sistemas pueden interactuar entre sí, es decir, un sensor puede activar a más de un regulador o un regulador puede ser activado por distintos sensores. En nuestro laboratorio determinamos que el TCS ArcAB de *Salmonella Typhimurium* es requerido para la resistencia a peróxido de hidrógeno (H₂O₂) generado durante el proceso infectivo en el hospedero. Sin embargo, ambos componentes no estarían regulando en conjunto la expresión génica en respuesta a H₂O₂, sugiriendo que ArcB y ArcA trabajarían con otros reguladores o sensores. Resultados previos nos permitieron determinar que tres reguladores además de ArcA, serían requeridos en la respuesta a H₂O₂ en *Salmonella*, sugiriendo que podrían modular en conjunto con ArcB la expresión génica en respuesta al tóxico. Se ha descrito que en los TCS existen dos tipos de interacción entre sensor y regulador: transfosforilación e interacción proteína-proteína que permite la dimerización del regulador para modular la expresión génica. Nuestro objetivo es demostrar que el(los) regulador(es) KdpE, BasR y/o BaeR de *S. Typhimurium* interactúan con el sensor ArcB durante la respuesta al estrés por H₂O₂. Para esto, nosotros evaluamos los niveles de fosforilación *in vitro* e *in vivo* de ArcB y los reguladores, utilizando la técnica Phos-tag SDS-PAGE. Esto se realizó purificando el dominio citoplasmático del sensor ArcB y los reguladores mediante cromatografía de afinidad con His-tag y, en paralelo, evaluamos la fosforilación en condiciones *in vivo* de extractos crudos de bacterias tratadas con H₂O₂. También, determinamos posibles interacciones proteína-proteína entre ArcB y los reguladores por medio de NATIVE-PAGE de las proteínas purificadas. Nuestros resultados demuestran la activación de los reguladores en condiciones de estrés por H₂O₂ y su interacción con el sensor quinasa ArcB.

FONDECYT Regular #1160315.

MA256

Caracterización de aislamientos de morillas (*Morchella* spp.) del sur de Chile mediante ADN barcode

Oriana Betancourt¹, Leonardo Anabalón². ⁽¹⁾ Departamento de Cs. Veterinarias y Salud Pública, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica De Temuco, Temuco, CL. ⁽²⁾ Departamento de Ciencias Biológicas y Químicas, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica De Temuco, Temuco, CL.

Las especies de *Morchella* son hongos comestibles de gran demanda en muchos países desarrollados, que alcanzan altos precios en el mercado de exportación chileno. En Chile, se distribuyen en zonas cordilleranas y precordilleranas, desde la V a la XI Región donde fructifican asociadas al género *Nothofagus* Tipo Forestal Roble-Raulí- Coigüe, Coigüe-Raulí-Tepa y Ciprés de la Cordillera. No hay estudios completos que declaren las especies propias del país, por lo que las herramientas moleculares más recientes harían un gran aporte en ese sentido. Este trabajo se enfocó en la identificación de 8 aislamientos desde carpóforos del hongo colectados entre 2013-2014 por el Proyecto INNOVA-Corfo 12IDL2-16041, mediante un método molecular basado en el enfoque del código de barras de ADN (DNA Barcode). En este estudio, se evaluaron cepas de *Morchella* obtenidas desde esporada de carpóforos de hongos cosechados en sectores rurales de las comunas de Los Sauces, Lonquimay, Melipeuco y Coyhaique (Centro Sur de Chile). Se purificó el ADN total a partir de las cepas aisladas mediante QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) siguiendo las instrucciones del fabricante y se cuantificó utilizando un fluorómetro Qubit 2.0 (Invitrogen). Una vez extraído el DNA se realizaron diluciones y reacciones de PCR usando partidores universales de la región ITS reportados para este hongo, confirmándose la amplificabilidad de los ADN aislados. Las secuencias obtenidas fueron ingresadas al GenBank para su identificación. La región seleccionada fue exitosamente amplificada y secuenciada. El análisis de las secuencias de los aislamientos con BLAST, reveló que corresponden a dos especies del Clade Elata, *M. elata* y *M. frustrata*, y *M. esculenta* del Clade Esculenta, entre otras. Estos resultados preliminares justifican mayores estudios de los genotipos de morillas que crecen en Chile, dada la diversidad de ecosistemas boscosos en que estos hongos fueron colectados. Algunos ya han sido informados en la literatura, y coinciden con especies también presentes en países como USA, Canadá y la Argentina, entre otros.



MA257

Analysis of genetic diversity of *Streptomyces* isolates from the environment

Marcela Borba¹, Ana Elisa Ballarini¹, Sueli Van Der Sand¹. ⁽¹⁾ Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR.

The Actinobacteria phylum is an important group of Gram-positive bacteria, widely distributed in terrestrial and aquatic environments. The genus *Streptomyces* stands out as the largest producer of antibiotics. Besides antibiotics, these microorganisms also produce several other secondary metabolites with biological activities. They are found in soils and are important in the mineralization processes. Identifying these organisms is still a challenge due to the diversity and a large number of species. In this work, the diversity of 88 actinobacterial isolates was investigated using BOX-PCR and URP-PCR primers. We also analyzed two housekeeping genes, 16S rDNA and *rpoB*, of all strains. URP and BOX1AR primers produced different amplification patterns with the isolates tested. However, analysis of the 16S rDNA did not result in the same diversity observed with BOX-PCR and URP-PCR. Both housekeeping genes were not enough to identify the strains species. Phylogenetic trees using UPGMA were constructed to observe similarities between the strains. These analyses showed that most of the isolates clustered in the *Streptomyces* genus. Fingerprinting techniques used in this study reveal the potential for further studies of actinobacterial diversity. The genus *Streptomyces* is still a difficult group to identify in species level. The use of more than two genes and new techniques are essential to elucidate this genus.

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

MA258

Participación de los reguladores de respuesta de *Salmonella Typhimurium* requeridos en la respuesta al estrés por peróxido de hidrógeno

Alan C. Briones¹, María S. Baquedano¹, Carolina E. Cabezas¹, Diego Lorca¹, Agustín Cofré¹, Claudia P. Saavedra¹.

⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Los sistemas de dos componentes (SDC) son redes de transducción de señales conservadas que detectan variadas señales como acidez, osmolaridad, nutrientes, especies reactivas de oxígeno (ERO) como peróxido de hidrógeno (H_2O_2) hacia respuestas regulatorias. Estos sistemas están compuestos por un sensor quinasa (SQ) de membrana interna que se fosforila y transfosforila a un regulador de respuesta citoplasmático (RR), el cual modula la expresión génica en respuesta a una condición. En nuestro laboratorio, trabajamos con el SDC ArcAB de *Salmonella Typhimurium* (*S. Typhimurium*) el cual es requerido para la supervivencia y respuesta a estrés por H_2O_2 mediante la modulación de diferentes vías. Sin embargo, la respuesta en condiciones de estrés por H_2O_2 es independiente de cada miembro del sistema, indicando que podrían existir otro sensor(es) o regulador(es) que participarían en la modulación de la expresión genética en respuesta a este tóxico. Nosotros hipotetizamos que el SQ ArcB de *S. Typhimurium* funciona con un(os) RR(s) no-canónicos en respuesta a H_2O_2 ; para esto evaluamos la sensibilidad, supervivencia y acumulación de ERO en todos los RR de *S. Typhimurium* frente a H_2O_2 . Los resultados mostraron a cinco posibles reguladores (BasR, BaeR, KdpE, YfhA y PgtA) que podrían trabajar en conjunto con ArcB, dado que poseen un comportamiento similar al de las cepas *DarcA* y *DarcB* bajo estrés por peróxido. Además, evaluamos el proceso infectivo de estos candidatos en macrófagos murinos a través de la determinación de la adherencia e invasión. Por otra parte, medimos la expresión génica de los genes que codifican para estos candidatos en condiciones de H_2O_2 en las cepas silvestre y *DarcA*, encontrando que estos cambian su expresión en respuesta al estrés por peróxido. Finalmente, análisis bioinformáticos muestran que el residuo D54 involucrado en la recepción del grupo fosfato del sensor ArcB está conservado entre los posibles reguladores, sugiriendo que éstos podrían participar en la respuesta a H_2O_2 a través de la activación mediada por ArcB. Nuestros resultados muestran a potenciales factores transcripcionales que responderían además de ArcA, al estrés oxidativo sugiriendo un nuevo papel en la adaptación y la supervivencia *S. Typhimurium* a las condiciones encontradas al interior de macrófagos.

FONDECYT #1160315; BECA CONICYT ACB #21160858.

MA259

***Escherichia coli* adhesiva-invasiva posee una alta capacidad de formación de células persistentes y un repertorio de sistemas toxina-antitoxina transcripcionalmente activo *in vitro* en condiciones de estrés similares al ambiente intestinal**

Paula Bustamante¹, Roberto Vidal¹. ⁽¹⁾ Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Escherichia coli adhesiva-invasiva (AIEC), principal bacteria aislada desde biopsias intestinales de pacientes con enfermedad de Crohn, sobrevive y se replica al interior de los macrófagos sin gatillar la muerte celular y estimulando a su vez la liberación de citoquinas pro-inflamatorias. Así, AIEC se asocia a la cronicidad y severidad de la enfermedad de Crohn, favoreciendo el proceso inflamatorio característico de esta patología. Sin embargo, no se conoce con certeza que factores en AIEC están implicados en estos procesos. En varios patógenos bacterianos los sistemas Toxina-Antitoxina (TA) se ha visto contribuyen a la sobrevivencia, replicación y persistencia intracelular. Estos sistemas corresponden a elementos genéticos codificantes para una proteína tóxica y su antitoxina, asociados a respuesta a estrés, persistencia y mantención de elementos móviles, entre otros. En este trabajo analizamos la capacidad de formación de células persistentes de cepas de *E. coli* aisladas desde biopsias de pacientes con enfermedad de Crohn, así como los repertorios, contextos genéticos y niveles de expresión de sus sistemas TA. Nuestros resultados revelaron que cepas AIEC forman mayor proporción de células persistentes en comparación a cepas comensales o aislados no-AIEC. Nuestro análisis bioinformático mostró que la cepa AIEC de referencia LF82 posee un repertorio de 26 sistemas TA distribuidos por todo el cromosoma y algunos asociados con elementos móviles. Estos sistemas TA son activos en las cepas AIEC de referencia y aislados clínicos que analizamos, expresándose diferencialmente ante condiciones de estrés similares a las encontradas al interior del intestino y/o de macrófagos. Ante pH ácido, la mayoría de los genes de las toxinas aumentaron su expresión, a diferencia de la exposición a sales biliares, donde el resultado fue más heterogéneo. También se obtuvo diferencias cepa dependientes, cuya relación con los contextos genómicos será discutida en este trabajo. En conclusión, cepas AIEC mostraron una elevada capacidad de formación de células persistentes lo cual puede estar implicado en su contribución a la cronicidad de la enfermedad de Crohn. A lo anterior, se suma un amplio repertorio de sistemas TA, que se activan ante condiciones de estrés encontradas por este patógeno a lo largo de su ciclo infectivo intestinal.

Financiado por FONDECYT Postdoctorado 3170210 (PB) y FONDECYT 1161161 (RV).

MA260

Activación del regulador de respuesta ArcA de *Salmonella Typhimurium* en condiciones de estrés por hipoclorito

Carolina E. Cabezas¹, Alan C. Briones¹, Agustín Cofré¹, Diego Lorca¹, María S. Baquedano¹, Juan Castro-Severyn¹, Coral Pardo-Esté¹, Claudia P. Saavedra¹. ⁽¹⁾ Ciencias Biológicas, Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Los sistemas de dos componentes (SDC) están altamente conservados entre especies que van desde arqueas a bacterias. Estos sistemas están compuestos por un sensor quinasa (SQ) anclado a la membrana interna y un regulador de respuesta (RR) ubicado en el citosol, el cual posee dominios de unión a DNA, regulando así la expresión génica. Los SQ son activados por señales ambientales, tales como acidez, osmolaridad, nutrientes, especies reactivas de oxígeno (ROS), entre otros. Estas señales causan la autofosforilación del SQ y la posterior activación del RR por transfosforilación. Recientemente, hemos demostrado que el SDC ArcAB de *Salmonella Typhimurium* (*S. Typhimurium*) es requerido para la supervivencia y respuesta a estrés oxidativo. Sin embargo, la regulación génica ArcAB bajo estrés oxidativo generado por peróxido de hidrógeno es independiente de cada miembro del sistema y su regulación bajo estrés por hipoclorito es completamente desconocida. Nosotros sugerimos que el RR ArcA de *S. Typhimurium* se activa y responde a hipoclorito de manera independiente del sensor ArcB, regulando genes requeridos para la resistencia a ROS, metabolismo y/o virulencia. Para determinar cuáles son los genes regulados por ArcA en hipoclorito, se realizó un análisis transcriptómico global de las cepas $\Delta arcA$ y $\Delta arcB$, determinando que efectivamente ArcA regula genes y rutas metabólicas independientes de ArcB. Estos hallazgos fueron validados por qPCR y además, evaluamos la activación de ArcA en esta misma condición, mediante ensayos de fosforilación *in vivo*, utilizando geles Phos-tagTM en cepas $\Delta arcB$ y deficientes en la generación de acetil fosfato. Todos estos resultados demuestran que ArcA responde y se activa de manera independiente de su sensor quinasa en respuesta a hipoclorito, sugiriendo que la activación de este RR es a través de otra proteína, desconocida hasta la fecha.

Proyecto FONDECYT #1160315, Proyecto Inicio Estudiantes de Doctorado UNAB, Beca CONICYT #21180743.



MA261

Biocatálisis de compuestos orgánicos por un posible *Ascomycota* del género *Aspergillus*: caracterización preliminar

Josefina Cantin¹. ⁽¹⁾ O'Higgins, Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Actualmente existe una disminución progresiva de drogas efectivas para combatir diferentes patologías debido a la resistencia que han generado los microorganismos. Por esta razón, cada vez se vuelve más crítico lograr sintetizar nuevas sustancias utilizando métodos más efectivos que la síntesis química, la cual posee un alto costo y bajo rendimiento. La bio-catálisis o bio-transformaciones enzimáticas selectivas resultan ser una alternativa interesante para la obtención de nuevas moléculas biológicamente activas. Sobre esta base, resulta interesante producir nuevas moléculas a través de una catálisis enzimática eficiente utilizando microorganismos vivos. El objetivo de este estudio fue caracterizar a nivel molecular y bioquímico las capacidades de bio-transformación de un consorcio de microorganismos, el cual se observó que posee la capacidad de bio-transformar triterpenos presentes en algunas especies vegetales, como *Cicer arietinum*. Se logró aislar cada microorganismo presente en el consorcio frente a varios medios selectivos de crecimiento y, posteriormente, se realizó un análisis de marcadores taxonómicos, utilizando genes que codifican para la subunidad 16S del ARN ribosomal (ARNr) y de esta manera, obtener un acercamiento a la identidad de los microorganismos presentes. Para ello, se utilizaron partidores específicos y universales de las regiones 16S del ARNr para bacterias y para las regiones ITS y NL de los genes 18S y 28S para el ARNr de varios hongos. Los resultados indicaron que nuestro consorcio está constituido principalmente por un hongo del género *Aspergillus*, el cual tendría la capacidad de bio-transformación que nos interesa. Se observó que las enzimas presentes en el *Aspergillus* fueron capaces de bio-transformar un triterpeno denominado Sap I, generando la molécula Sap III. Estas enzimas son capaces de remover un residuo de rhamnosa de SapI. Los resultados indicaron que el *Aspergillus* correspondía al microorganismo responsable de la bio-transformación y que, por lo tanto, es posible obtener nuevas moléculas a través de catálisis biológicas específicas y selectivas.

Agradecimientos: Este proyecto fue financiado por DI-PCUC (DI 036-298).

MA262

Atividade da enzima xantana liase na despolimerização de exopolissacarídeos rizobianos

De Sousa Bruna Fernanda Silva¹, Tereza Cristina Luque Castellane², Lemos Eliana Gertrudes De Macedo¹.

⁽¹⁾ Tecnologia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, BR. ⁽²⁾ Biologia Aplicada a Agropecuária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, BR.

A maioria dos microorganismos possui a habilidade de sintetizar uma matriz constituída de substâncias poliméricas extracelulares hidratadas, denominadas de exopolissacarídeos (EPS). Nas últimas décadas, o interesse na utilização e produção de EPS é cada vez mais crescente, sendo considerada alternativa viável na substituição de polímeros mais onerosos e com propriedades menos atraentes. Geralmente, a maioria dos EPS tem biocompatibilidade, baixa toxicidade, propriedades hipoalérgicas e biodegradáveis. Por essas razões, EPS emergiu como um biopolímero promissor e está sendo utilizado como fonte alternativa aos polímeros sintéticos e vegetais devido à ampla aplicabilidade e, propriedades físico-químicas estáveis bem como a sua produção que não depende das variações ambientais. A ação da enzima xantana liase como ferramenta na modificação da estrutura de EPS de três estirpes de rizóbio (LMG 8819, H152 e SEMIA 4077) foram estudadas. Os rendimentos de EPS desses estirpes sob as condições experimentais foram da ordem de 1.06 a 2.04 g L⁻¹, tendo LMG 8819 e H152 as maiores produções de EPS, com 2.04 e 2.01 g L⁻¹. A partir dos resultados das técnicas aplicadas neste estudo, pode-se notar que todos os polímeros são heteropolissacarídeos específicos de rizóbios nativos, sendo compostos principalmente por galactose e glicose, enquanto a goma xantana comercial teve a manose como o principal monômero. Tanto os EPS de origem rizobiana como a goma xantana tiveram suas estruturas modificadas pela ação da enzima xantana liase. O conhecimento da composição do EPS modificado agora facilitará futuras investigações relacionando a estrutura e a dinâmica do polissacarídeo frente às propriedades reológicas. Contudo, os resultados sugerem que é possível produzir um heteropolissacarídeo rizobiano modificado e com propriedades distintas quando comparado ao biopolímero nativo através da ação enzimática da xantana liase, uma vez que agiram despolimerizando e dessa forma alterando a estrutura dos mesmos. Consequentemente ocorreram alterações na solubilidade dos EPS provavelmente devido a remoção de eventuais grupos funcionais da estrutura dos EPS, conforme descritos neste estudo.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

MA263

Caracterização de nova cepa de *Clostridioides difficile* MLST Clade 2 com toxina B variante isolada em hospital oncológico de Fortaleza, CE

Cecilia Costa¹, Bruno Amando², Crister Ocadaque², Carolina Azevedo², Carlos Quesada-Gómez³, Débora Castelo-Branco², Cibele Carvalho², Gerly Brito¹. ⁽¹⁾ Departamento de Morfologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, BR. ⁽²⁾ Departamento de Patologia e Medicina Legal, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, BR. ⁽³⁾ Facultad de Microbiología and Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Universidad de Costa Rica, San José, CR.

Clostridioides difficile representa a principal causa de diarreia hospitalar associada ao uso de antibióticos. A epidemiologia das infecções por *C. difficile* é dinâmica e isso se deve a cepas que continuam surgindo no mundo todo. Esse estudo apresenta uma análise detalhada de uma nova cepa de *C. difficile* (ICC-45) isolada de uma paciente com câncer internada no Hospital Haroldo Juçaba, Fortaleza, CE. Análises de detecção de toxinas A/B a partir das fezes por ELISA, cultivo em CCFA, identificação fenotípica, detecção dos genes das toxinas e do fragmento *tpi* por PCR e sensibilidade a oito antimicrobianos por *E-test* foram realizadas. A identificação molecular da cepa foi realizada por meio de PFGE, PCR ribotipagem e toxintipagem. Adicionalmente foi realizado o sequenciamento completo, tipagem de sequência Multilocus (MLST), expressão gênica relativa dos fatores de virulência estudados e a expressão protéica das toxinas A e B, por meio de *Western Blotting*. Foi atribuído a cepa ICC-45 um novo PCR ribotipo e novo pulsotipo e foi classificada como ST41 do MLST Clade 2, clade de cepas hipervirulentas, e toxintipo IXb. Ao contrário da NAP1/027, que também pertence ao MLST Clade 2, a ICC-45 é sensível às fluoroquinolonas e não possui superprodução das toxinas A e B (TcdA e TcdB), em 24 horas de cultivo, porém ICC-45 codifica uma TcdB variante. A expressão gênica relativa dos genes *tcdA*, *tcdB*, *cdtA*, *cdtB* e *tcdC* foi maior na cepa ICC45 no cultivo de 24h. ICC45 exibiu a expressão aumentada de *fliA* ($p < 0,0001$) em comparação a NAP1 (R20291 e LIBA5756) e ATCC 700057. *fliC* e *fliD* foram expressos somente pela cepa ICC-45. A cepa ICC-45 também mostrou maior expressão de *spo0A* ($p < 0,0002$) e *cwp84* ($p < 0,0001$) em comparação com NAP1 (R20291 e LIBA5756) e ATCC 700057 em cultivo de 24h. Os dados aqui apresentados mostram o isolamento de uma cepa pertencente ao Clade 2 de cepas hipervirulentas, produzindo toxina binária e com TcdB variante no Nordeste do Brasil e ressaltam a importância do estudo da situação epidemiológica e do surgimento de novas cepas de *C. difficile* em unidades hospitalares brasileiras.

CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FUNCAP/CAPES (PRONEX Edital 02/15 Número do processo:PR2-0101-00060.01.02/15).

MA264

Identificação de substâncias com potencial de atividade contra *Leishmania infantum chagasi* através de ferramentas de bioinformática

Laércio Fonseca Costa¹, Jhony Guilherme Carvalho Borges², Jonnatha Gustavo Carvalho Borges², Karina Andrade De Prince³, Janini Tatiane Lima Souza Maia³, Fabrício Moreira Monteiro³. ⁽¹⁾ Medicina, Faculdade de Medicina, Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES, Montes Claros, BR. ⁽²⁾ Engenharia Biomédica, Faculdades Unidas do Norte de Minas Gerais - FUNORTE, Montes Claros, BR. ⁽³⁾ Ciências da Saúde, Faculdades Unidas do Norte de Minas Gerais - FUNORTE, Montes Claros, BR.

Introdução: O parasito *Leishmania infantum chagasi* é o agente etiológico da *Leishmaniose visceral*, que infecta mais de 79 países e causa em todo mundo 600 mil mortes anuais. A bioinformática oferece ferramentas computacionais relacionados a problemas biológicos, incluindo aplicações que envolvem a saúde humana, como planejamento de novos fármacos. Assim, o objetivo do presente estudo foi identificar substâncias com potencial de atividade contra *Leishmania infantum chagasi*, através da utilização de ferramentas de bioinformática. **Método:** Trata-se de um estudo de caráter descritivo, quantitativo e transversal. As substâncias com potencial de atividade e os genes do microrganismo foram pesquisados em bases de dados, e analisados pelos softwares *Stitch* e *Cytoscape*. **Resultados:** A análise foi baseada em uma lista contendo 20 substâncias com possível potencial de atividade antimicrobiana, sendo todas metais pesados. No *Stitch*, a análise mostrou cinco substâncias que tiveram interações com o parasito (Cádmio, Cobre, Ferro, Prata e Zinco). Em relação à interação do *Homo sapiens* com as substâncias com potencial nocivo para *Leishmania infantum chagasi*, foram identificadas somente duas, o ferro e o zinco. Observou-se que o zinco apresenta interação com proteína XP_001466138.1 do parasito, promovendo um potencial citotóxico ao mesmo. Já em relação ao ferro, a proteína superóxido de ferro (FEDOSA) analisada, pode ter a finalidade de destruir radicais que são produzidos dentro das células e são tóxicos para sistemas biológicos. Analisando a interação do *Canis Lupus Familiaris* e as substâncias que apresentaram potencial de atividade frente ao protozoário, a única que apresentou caráter nocivo foi o cobre. Posteriormente, as substâncias que apresentaram interações com as proteínas do *Leishmania*, do *Homo Sapiens* e do *Canis Lupus Familiaris* foram combinadas no *Cytoscape* para avaliação de possíveis interações entre elas. No entanto, nenhuma interação foi detectada, demonstrando assim, que as substâncias com possível potencial frente ao *Leishmania infantum chagasi*, apresentam uma resposta individual tendo foco somente no parasito. **Conclusão:** Existem substâncias a base de metais pesados que apresentam um potencial de atividade promissora frente ao *Leishmania infantum chagasi*, e que não interagem com as células de seus hospedeiros, podendo servir de alvo para estudo de novos fármacos contra o protozoário.

MA265

Genômica ambiental de manguezais amazônicos: aspectos ecológicos e biotecnológicos

Cuóco Cássia M.¹, Paixão Carla T. M.¹, Farias Thamirys S.², Marques Joana M.³, Silva Artur L.³, Graças Diego A.³.

⁽¹⁾ Instituto de Ciências Biológicas, Faculdade de Biotecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, BR. ⁽²⁾ Instituto de Ciências Biológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Belém, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Genômica e Bioinformática, Universidade Federal do Pará, Belém, BR.

Os manguezais fornecem um ambiente ecológico único para diversas comunidades microbianas. Quando se trata de Amazônia, tais ambientes são distribuídos por Amapá, Pará e Maranhão, ocupam uma área de nove mil km² e correspondem a 70% dos manguezais do Brasil, cujos estudos sobre a biodiversidade são extremamente escassos. Neste sentido, este estudo apresenta-se como pioneiro, tendo como objetivo conhecer a diversidade microbiana de manguezais amazônicos e sua capacidade funcional utilizando o método de *Shotgun Metagenomic Sequencing*. Duas abordagens foram realizadas, uma ecológica e outra biotecnológica com o objetivo de avaliar a composição da microbiota e seus produtos gênicos. Para melhor identificação da biodiversidade, os sedimentos amostrados tiveram seu DNA total diretamente extraído com o PowerSoil[®] DNA Isolation kit (MoBio), fragmentados (~400 pb) e usados para o sequenciamento na plataforma Ion Torrent PGM[®] como Ion 318[™] Chip kit v2 seguindo o protocolo do fabricante. Para caracterização das amostras, as leituras foram submetidas ao portal MG-RAST v4.0.2 para as análises ecológicas e biotecnológicas. Na abordagem ecológica, análises de diversidade foram realizadas com o banco de dados RefSeq para caracterização ambiental e determinação das diferenças estruturais das comunidades presentes em ambientes impactados e não impactados. Quanto a abordagem biotecnológica, genes com potencial de aplicação nesse segmento foram analisados com base no KEGG Orthology e posteriormente comparados quanto à diversidade nucleotídica e filogenética para outros já publicados. A composição microbiana da amostra analisada teve como resultado 50 filos identificados pelo MG-RAST sendo mais de 50% das sequências identificadas como pertencentes ao filo Proteobacteria, seguido de Ascomycota (23,06%), Cianobactérias (8,07%), Bacteroidetes (5,17%), Actinobactérias (3,54%), Firmicutes (2,56%). Outros filos como Planctomycetes, Euryarchaeota, Acidobacteria e Tenericutes corresponderam a menos de 3,70% das sequências. Leituras referentes à degradação de moléculas presentes no petróleo (ko00624), variando de 78-328 pb, foram identificadas pelo MG-RAST, sendo 11 delas associadas ao gênero *Polaromonas* sp. JS666 pelo pipeline. Adicionalmente, leituras relacionadas à produção de substâncias antimicrobianas (ko00311) com variação de 70-316 pb foram encontradas. A presença desses genes nas amostras proporcionam o possível uso dos mesmos como base para a bioprospecção, além de elucidar a composição da microbiota local.

Número do Processo AUXPE: 88881.161276/2017-01. EDITAL CAPES/FADESPA Nº06/2015.

MA266

Characterization of horizontally acquired genes in yeasts using transcriptional-translational reporters

Joaquín Devia^{1,2}, Camila Bastías^{1,2}, Eduardo I. Kessi-Perez^{1,3}, Matteo De Chiara⁴, Gianni Liti⁴, Claudio Martínez^{1,3}, Francisco Salinas^{1,2}. ⁽¹⁾ Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CECTA), Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Millennium Institute for Integrative Systems and Synthetic Biology (MISSB), Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ CNRS, INSERM, IRCAN, Université Côte d'Azur, Nice, France., Nice, FR.

The use of yeast as eukaryotic model organism and its wide biotechnological applications have fuelled the genome sequencing of numerous yeast strains. The extensive amount of sequencing information available has revealed, in different strains, unique genomic features acquired by Horizontal Gene Transfer (HGT). Additionally, the genes acquired by HGT have shown to play important roles in yeast adaptation to the fermentation process, improving nitrogen and carbon sources utilization. However, the functional characterization of these genes at the molecular level remains poorly attended. In this work, we performed a functional analysis of the genes contained in three regions horizontally acquired, commonly known as regions A, B and C. In three different wild yeast strains, we used the luciferase reporter gene and the *mCherry* fluorescent protein to monitor the transcriptional and translational activity of those genes, respectively. The results showed that horizontally acquired genes were under active transcriptional and translational processes, which was variable depending on the growth condition utilized. Additionally, we observed a smooth correlation between transcriptional levels and protein expression levels for these genes. Finally, we analysed the adaptation (fitness) of yeast strains carrying deletions in horizontally acquired genes, as measured through growth parameters (lag time, growth rate and efficiency). In general, deletion of horizontally acquired genes decreased yeast fitness, which was also depending on the growth condition assayed. Altogether, our results revealed molecular evidence on the contribution of horizontally acquired genes to yeast adaptation in specific culture conditions.

FONDECYT 11170158 and MISSB.

MA267

Desarrollo de sistemas de transformación para el hongo antártico *Pseudogymnoascus* sp.

Inmaculada Vaca¹, Pablo Villanueva¹, Anaí Díaz¹, Vicente Oliva¹, Carlos Gil-Durán², Francisco Fierro³, Renato Chávez².

⁽¹⁾ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad de Iztapalapa, Ciudad de México, MX.

Pseudogymnoascus es el género fúngico prevalente en la mayoría de los ambientes antárticos analizados, pero ha sido muy poco estudiado. Una de las razones principales de esta falta de estudio es la ausencia de un sistema de transformación que permita su manipulación genética, lo que representa una de las principales barreras para el estudio de estos organismos. El propósito de este trabajo es desarrollar sistemas de transformación para el hongo antártico *Pseudogymnoascus* sp. Para ello, se desarrollaron dos metodologías de transformación: transformación mediada por protoplastos (PMT) y electroporación de conidios germinados. En ambos casos, se empleó el plásmido pAN7-1 que contiene un cassette de resistencia a higromicina B bajo el control de secuencias regulatorias de *Aspergillus nidulans*. Para la producción de protoplastos se usaron enzimas líticas de *Trichoderma harziarum* y β -glucuronidasa, mientras que para la PMT se usó PEG 3350 y tiempo de recuperación de protoplastos transformados de 24 h a 15° C en medio CM-sorbitol. Con este protocolo se consiguieron frecuencias de transformación de 3,8-6,3 transformantes/ μ g de ADN. Por otro lado, la electroporación de conidios germinados se realizó usando buffer de acetato de litio y pulsos de 1000 Volts, obteniéndose frecuencias de transformación de 3-10,6 transformantes/ μ g de ADN. Estos resultados son el primer reporte de transformación de cepas antárticas de *Pseudogymnoascus* y representan un importante avance para la manipulación genética de estos hongos filamentosos.

Este trabajo fue financiado por los proyectos INACH RG_15-14 y FONDECYT 1150894.

MA268

Evaluación de niveles de inducción de fagos Stx2a en cepas de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC)

Julia Burgán¹, **Alejandra Krüger**¹, Lucchesi Paula MA¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), Facultad de Ciencias Veterinarias, CONICET-CIC-UNCPBA, Tandil, AR.

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) coloniza el tracto intestinal de humanos, causándoles diarreas y graves enfermedades como síndrome urémico hemolítico (SUH). Existen diversos subtipos de toxinas Shiga, siendo el Stx2a el mayormente asociado a casos de SUH. Los genes *stx* son portados por fagos que presentan gran diversidad y juegan un rol fundamental en la patogénesis de STEC. Estos genes están ubicados río abajo del gen *q*, que codifica una proteína antiterminadora que regula la expresión de genes tardíos, asociados al ciclo lítico de los fagos. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar los niveles de inducción con mitomicina C de profagos Stx2a y comparar estos niveles según serotipo, origen u otras características genéticas de las cepas STEC. Se seleccionaron 20 cepas STEC positivas para *stx*_{2a} (aisladas de bovinos, humanos y alimentos) en las cuales se analizó por PCR la presencia de otros subtipos de *stx*, del gen *ninG* y de los alelos *q*₉₃₃, *q*₂₁ y *q*₀₁₁₁. Los niveles de inducción de profagos se evaluaron mediante ensayos de doble placa de agar y qPCR. Se detectaron los subtipos *stx*_{2a} (11 cepas), *stx*_{2a}/*stx*_{2c} (8) y *stx*_{1a}/*stx*_{2a} (1). Diecisiete cepas presentaron *ninG* y el alelo *q*₉₃₃ solo o asociado a *q*₂₁. Las tres restantes fueron negativas para *ninG*: una positiva para *q*₀₁₁₁ y dos no presentaron ninguno de los alelos *q* buscados. Se evidenció inducción con mitomicina C en 17 cepas, con aumento entre 1 y 3 órdenes de magnitud en la producción de fagos evaluada por ambas metodologías. Las tres cepas negativas para *q*₉₃₃ y *ninG* mostraron menor inducción que las positivas o no produjeron fagos. Las cepas que portaban solamente el subtipo *stx*_{2a} mostraron significativamente mayor inducción que las que portaban tanto *stx*_{2a} como *stx*_{2c}, pero no se observaron diferencias significativas en cuanto a las otras variables analizadas. Los resultados muestran que la mayoría de los fagos Stx2a, independientemente del origen del aislamiento, son inducibles y además la presencia de varios fagos con diferentes subtipos de Stx2 en una misma cepa y características genéticas de los mismos podrían influir en sus niveles de inducción.

MA269

Genotyping comparison of *Mycobacterium leprae* isolates by VNTR analysis from nasal samples in a Brazilian endemic region

Paz Jasna Leticia¹, Frota Cristiane Cunha², Suffys Phillip Noel³, Fontes Amanda Nogueira⁴, Mota Rosa Maria⁵, Almeida Rosa Livia⁶, Pontes Maria Araci⁷, Gonçalves Heitor De Sá⁷, Carl Kendall⁸, Kerr Ligia Regina⁹, Lima Luana Costa¹⁰. ⁽¹⁾ PPG Biologia Parasitária da Amazônia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade do Estado do Pará, Belém, BR. ⁽²⁾ Departamento de Patologia e Medicina Legal, Faculdade de Medicina, Federal University of Ceará, Fortaleza, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Biologia Molecular Aplicada a Micobactérias, Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, Rio de Janeiro, BR. ⁽⁴⁾ Laboratório de Biologia Molecular Aplicada a Micobactérias, Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, Rio de Janeiro, BR. ⁽⁵⁾ Departamento de Estatística e Matemática Aplicada, Federal University of Ceará, Fortaleza, BR. ⁽⁶⁾ Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Universidade de Fortaleza, Fortaleza, BR. ⁽⁷⁾ Department of the State of Ceará, Centro de Dermatologia Dona Libânia, Fortaleza, BR. ⁽⁸⁾ Department of Global Community Health and Behavioral Sciences, School of Public Health and Tropical Medicine, Tulane University, New Orleans, BR. ⁽⁹⁾ Departamento de Saúde Comunitária, Faculdade de Medicina, Federal University of Ceará, Fortaleza, BR. ⁽¹⁰⁾ Seção de Bacteriologia e Micologia, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, BR.

The conventional epidemiology of leprosy has been supplemented by *M. leprae* genotyping. This study relates *M. leprae* found in nasal secretions (NS) of leprosy cases to epidemiological and clinical data. The sample consisted of 48 newly diagnosed leprosy cases that tested positive for *M. leprae* PCR in nasal secretion attending the National Reference Center of Dermatology Dona Libania (CDERM), Fortaleza, Brazil. Total DNA was extracted from nasal secretion of each patient and used for amplification of 4 *M. leprae* VNTR loci. Multiplex PCR number of repeats for each VNTR locus was obtained through fragment length analysis method. Demographic, socioeconomic, environmental and behavioral data were included in the molecular epidemiology database. Only 24 NS out of 48 total provided enough information for descriptive analysis and genotypic comparisons. Four groups of strains of *M. leprae* formed identical genotypes resulting in a Hunter – Gaston discriminatory index of 0.73. In the analysis of geographic distribution, 12 presented exclusive genotypes, while the remaining twelve cases presented similar genotypes organized into 4 groups based on loci AC8b, AC9, AC8a, and GTA9. In the groups with strains with similar genotypes, the exact contact between individuals could not be established, but a greater agglomeration was observed in the western region of the municipality. The high genetic diversity of isolates in Brazil is demonstrated in the present study. The most common genotypes in the current study was AC8b: 8, AC9: 7, AC8a: 8, GTA9: 10, which may represent a genotype of circulating strains most often in Ceará.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL.



MA270

Contribution of alpha mannosyltransferase in sclerotia formation and adhesion in the ubiquitous plant pathogen *Botrytis cinerea*

Veronica Plaza¹, Luis Castillo¹, Marisol Herrera¹. ⁽¹⁾Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena, La Serena, CL.

The cell wall of fungi is generally composed of an inner skeletal layer consisting of various polysaccharides surrounded by a layer of glycoproteins. These usually contain both *N*- and *O*-linked oligosaccharides, coupled to the proteins by stepwise addition of mannose residues by mannosyltransferases in the endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus. In yeast (for example *Candida albicans*) the MNT1/KRE2 gene family is involved in phosphomannosylation and responsible for attachment of approximately half of the phosphomannan attached to *N*-linked mannans. In this study, we have identified and characterized the *Botrytis cinerea* mannosyltransferase (MNT3) gene. We hypothesized that BcMNT3 also plays an important role in the protein glycosylation pathway, attached to *N*-linked mannans in proteins of the cell wall. To achieve this, we made the Δ bcmnt3 mutant by homologous recombination. Single spore isolates for each knockout confirmed by RT-PCR and qPCR. Phenotypic analysis showed that Δ bcmnt3 mutant displayed a significant reduction in conidial production and sclerotia formation. The cell wall integrity in the mutant was analyzed by measuring the sensitivity to different antifungal drugs, including Calcofluor White (CW) (alters the assembly of chitin fibrils in the cell wall), Congo Red (CR) (alters the assembly of microfibrils of β -1,3-glucan), SDS (detergent which perturbs the integrity of the cell membrane). These analyses showed that the cell wall in the mutant is altered. On the other hand, the Δ bcmnt3 mutant showed reduced virulence in tomato (leaves and fruits) and apple fruits and reduced biofilm formation. The results confirm that BcMNT3 gene in *B. cinerea* plays an important role in the cell wall structure and virulence. Further studies are necessary to determine if MNT3 gene is involved in *N* and *O* glycosylation.

MA271

Revisiting the taxonomy of Cyanobacteria (Oxyphotobacteria) by wide genomic analyses

Jaime Alcorta¹, Beatriz Díez^{1,2}. ⁽¹⁾ Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Centro del Clima y la Resiliencia (CR)2, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Classically, the phylum Cyanobacteria have comprised the monophyletic bacterial photoautotrophic organisms that perform photosynthesis with photosystems I and II. These cosmopolitan microbes thrive in the most diverse environments as the main primary producers and have a great morphological diversity. In 2013, Di Rienzi and colleagues discovered by metagenome assembled genomes (MAGs) a cyanobacterial sister group denominated Melainabacteria, without the ability to do photosynthesis. It was added as a new class into the Cyanobacteria phylum. Most recent reports, had added new classes to this phylum, where the photosynthetic cyanobacteria was reduced as the Oxyphotobacteria class. However, members of the Oxyphotobacteria class (classic cyanobacteria) have been reclassified recently by multilocus phylogeny and polyphasic characterization, but have not been characterized by genomic thresholds in a wide evolutionary way like the new proposed sister classes. To date it is established that Oxyphotobacteria class is composed by 8 orders, 46 families and 301 genera including many poorly characterized organisms. Our hypothesis considerate that species numbers will vary differently between unicellular and filamentous forms in light of genomics. To revise the genomic thresholds of current taxonomic ranks in front of genomic data, we analyzed 450 genomes from 31 families that have at least one sequenced genus (72 from 301 genera) available in the NCBI database. Our analysis comprised genomic average nucleotide identity (ANI), average amino acid identity (AAI), alignment fraction (AF) and multi locus sequence typing (MLST) to determine the identity threshold and phylogenomic support of all these 72 genera. Identity thresholds results showed that in the families with high morphological complexity and mainly filamentous forms like the Aphanizomenaceae, Hapalosiphonaceae, Nostocaceae, Oscillatoriaceae and Microcolaceae; some genera should converge in only one as different species. In the other hand, families with mainly unicellular members, like Prochloraceae, Synechococcaceae and Leptolyngbyaceae; have been underestimated in the taxonomic ranks and many of its members should be separated in new genera and species. These new analyses shed lights in the genomic relationships inside this proposed class, adding wide evolutionary perspectives in the taxonomy of these important bacterial worldwide primary producers.

FONDECYT proyect N° 1150171, CONICYT.



MA272

Evolution of genetic variants during *in vitro* influenza A infection

Leonardo I. Almonacid^{1,2}, Raveen Rathnasinghe¹, Francisco Melo², Rafael Medina^{1,3,4}. ⁽¹⁾ Laboratory of Molecular Virology, Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, Santiago. ⁽²⁾ Molecular Bioinformatics Laboratory, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Santiago, Chile. ⁽⁴⁾ Department of Microbiology, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, NY 10029, USA.

The influenza A virus (IAV) is a respiratory pathogen that circulates in humans yearly. Despite preventive measures and treatments, IAV still causes high morbidity. IAV have a high mutation rate, which gives it a mechanism for fast genomic evolution. Viruses rapidly acquire *de novo* mutations as they replicate within infected hosts and it is known that the immune response, the vaccination status or antiviral treatment can shape the viral genetic population within a host. Additionally, the host heterogeneity in the response to an infection might shape the genetic diversity of IAV in each individual, which makes it difficult to study its evolution. Here we evaluated the evolution of the viral genetic population during several rounds of infections in Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) and human lung carcinoma (A549) epithelial cells. A recombinant H1N1pdm09 virus was used to infect the cells at a MOI of 0.001. A total of 10 passages were performed and the viral titer was measured by plaque assay. Additionally, viral genomes were RT-PCR amplified and then sequenced by Illumina to obtain the genetic variants at each passage. The results showed a drop in the viral titer after the virus was passaged 3-5 times in the cell lines. However, in MDCKs after passage 5-6 the viral titers were recovered by passaging the virus an additional 4-5 passages until the titer level was maintained through to passage 10. The experimental replicate was consistent with the titer recovery, even when the infection was done at a higher MOI using the viral inoculum from the previous passage. In contrast, in A549s the virus was lost after passage 3. We speculate that during IAV replication a decrease in genetic diversity has an impact in the fluctuation in viral titers, and that once the diversity for optimal growth is established the titer can increase back to similar levels as those seen in the first passages. Future studies include addressing viral diversity in human tracheal-bronchial epithelial primary cells, and to explore the viral diversity in human nasopharyngeal samples obtained in Chilean patients to analyze the diversity of IAV in a natural infection.

Supported by: CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2015, FONDECYT 1121172, 1161791, and Anillo PIA ACT 1408; ICM Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, P09/016-F; and the Center For Research In Influenza Pathogenesis and NIAID-NIH Funded CEIRS Center HHSN266200700010C.

MA273

Genómica comparativa de cepas AIEC (Adherent/Invasive *Escherichia coli*) aisladas de individuos asintomáticos: el alfabeto “*coli*” se complica

Edwin Barrios Villa¹, Patricia Lozano-Zaraín¹, Carmen Torres², Claudia Fabiola Martínez De La Peña³, Miguel Ángel Cevallos⁴, Rosa Del Carmen Rocha Gracia¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Hospitalaria y de la Comunidad, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Posgrado en Microbiología, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Pue., MX. ⁽²⁾ Área de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de la Rioja, Logroño, ES. ⁽³⁾ Laboratorio de Biología Molecular de Enteropatógenos, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Posgrado en Microbiología, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Pue., MX. ⁽⁴⁾ Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, MX.

Se ha demostrado relación entre enfermedad de Crohn y cepas Adherente/Invasivas de *Escherichia coli* (AIEC) caracterizadas fenotípicamente, mismas que provienen de UPEC. Sin embargo, en este estudio se caracterizaron por genómica comparativa 5 cepas de AIEC aisladas de individuos sin enfermedad inflamatoria intestinal (4 de portadores y 1 de líquido peritoneal). Las cepas se secuenciaron con la plataforma de Illumina NextSeq 2x75 paired-end con una cobertura de 10x. El ensamblaje se hizo con SPAdes y se anotó con PROKKA y RAST. Los orf predichos se buscaron en las cepas AIEC de referencia (LF82 y NRG857c) y UPEC (CFT073) utilizando BLAST. Se realizó la comparación de genes de componentes fimbriales, SSTVI, toxinas y metabólicos. Se realizó filogenia por UPGMA con iTOL y MEGA7 mediante los SNPs identificados en las secuencias. Mediante IslandViewer4 se buscaron Islas Genómicas (GI). Las cepas secuenciadas tienen en promedio 51% de G+C y 5,000 genes en 5 millones de pb. Se identificaron GI's no reportadas previamente en AIEC: una que codifica para resistencia a tetraciclina, otra que alberga un integrón clase 1 con cassettes génicos DfrA17 y Aad5 y un cluster de resistencia a macrólidos flanqueado por IS6, otra GI que contiene papK, papF, papE, papG y papX y una más con las toxinas HlyA y Cnfl. Los genes fuhD, chuA, irp2, fimA, fliC y cvaC estuvieron en todas las cepas, mientras que papC se detectó en tres y cnfl en dos de las cepas de portadores. Se localizaron cinco sistemas fimbriales (NfaE1, EhaG, PapG, F17d-G y YehA/D), dos sistemas de captación de hierro (IucD y FeuC) y cuatro toxinas (CbtA, VgrG-1, Cnfl y HlyE) diferencialmente en las cinco cepas, pero ausentes en las cepas de referencia. Las cinco cepas albergan un SSTII completo, pero solo 3/10 genes del SSTVI de las cepas AIEC de referencia. El árbol filogenético de SNPs separa las cinco cepas en un clado independiente de UPEC y AIEC. Conclusión. La fenotipificación de las cepas de estudio por adherencia/invasión sugirió ser patotipo AIEC; sin embargo, la genómica comparativa y la filogenia las separa sugiriendo la emergencia de un patotipo diferente denominado nIBD-AIEC.

El presente trabajo estuvo apoyado por los programas VIEP-BUAP número ROGR/NAT17-G y CONACYT [referencia 178942]. Edwin Barrios Villa tuvo una beca CONACYT número 411957.



MA274

Transfer RNA genes transcribed as monocistronic units are preferred for genomic islands integration in *Klebsiella pneumoniae*

Camilo Berríos-Pastén¹, Rosalba Lagos¹, Andrés E. Marcoleta¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

The bacterial pathogen *Klebsiella pneumoniae* has recently become an urgent threat to human health, due to the appearance of hypervirulent and multidrug-resistant strains. The rapid appearance of these strains has been associated with the high genomic plasticity of this species and the acquisition of genes mediating virulence and antibiotic resistance by horizontal transfer. Genomic Islands (GIs) are mobile genetic elements that stand out among other elements since their large size (greater than 10 kbp), many of them encoding complete metabolic pathways and thus conferring new capabilities to their hosts. Moreover, our analyses indicated that nearly 40% of the *K. pneumoniae* accessory genome is encoded in genomic islands. GIs are frequently found integrated at genes encoding tRNAs (tDNAs). In order to explore the diversity of *K. pneumoniae* GIs and their impact over clinically-relevant phenotypes, we precisely identified the GIs inserted in all the tDNAs from a collection of 50 *K. pneumoniae* genomes. From this, 312 GIs were identified, many of them encoding putative virulence or drug resistance determinants. Strikingly, we observed that only 18 out of 119 types of tDNAs are used as GIs integration sites. Moreover, identical copies of a given tDNA located in different positions of the *K. pneumoniae* chromosome were found to be used with very dissimilar frequencies. To investigate the factors determining the strong preference for this small subset of tDNAs, we determined the structure of the transcriptional units comprising tDNAs using previously published RNA-Seq data from different *K. pneumoniae* strains. This way, we classified the tDNAs according to the type of transcriptional unit in which they are transcribed, where most of them corresponded to tDNAs transcribed in a polycistronic manner. When comparing the frequency of GIs insertion among the different classes of tDNAs, we found that integration occurs preferentially in tDNAs transcribed as monocistronic units. The preference for these sites could allow that the integration of GIs does not affect the balance of tRNAs in the cell, or to prevent downstream sequences being affected by an early termination due to the disruption of the transcriptional unit resulting from the integration of a GI.

FONDECYT 3140496 and REDI170480 (Marcoleta, A.E.).



MA275

Caracterización de la cepa atípica AO-01. Una posible nueva especie del género *Brucella*

Angelo Cartes¹, Nicole Zambrano¹, Angel Oñate¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL.

La brucelosis es una zoonosis de prevalencia mundial, siendo uno de sus agentes causales *Brucella abortus*, la cual afecta principalmente al ganado bovino provocando abortos en hembras y una perjudicada producción de leche, lo que ocasiona pérdidas económicas y problemas de salud en humanos. Actualmente el género *Brucella* cuenta con diez especies denominadas según su hospedero preferencial. En el presente estudio se realizó la caracterización de la cepa atípica AO-01, aislada por el SAG el año 2008 en Valdivia, con el fin de evaluar si dicha cepa correspondería a una nueva especie no descrita del género. Para esto, se analizó la cepa fenotípicamente mediante rasgos microbiológicos comparados con las cepas *B. abortus* 2308 y *B. abortus* RB51 contemplando pruebas bioquímicas, formación de biopelículas y expresión de proteómica por análisis de espectroscopía de masas en tándem; y se analizó su genotipo por medio de hibridación ADN-ADN, secuenciación del gen ARNr 16S comparados con *Brucella* spp., y se crearon árboles filogenéticos de la cepa AO-01 a partir de análisis de secuencias multi-locus de genes ITS 16-23S, *recA*, *rpoB* y *gyrB*. Los resultados obtenidos dan cuenta de un fenotipo distinto de la cepa AO-01 comparado con seis especies de *Brucella*, dado principalmente por su rápido crecimiento, fermentación de glucosa, resistencia a antimicrobianos y formación de biofilms. Con respecto a los análisis genómicos se observó una expresión diferenciada de proteínas de la cepa AO-01 en comparación con la cepa virulenta de *Brucella abortus* 2308, con un porcentaje de similitud menor al 64,8% en prueba de Hibridación ADN-ADN. Al realizar la asignación taxonómica de AO-01 por medio de la afiliación filogenética utilizando el algoritmo de máxima verosimilitud se obtuvo un árbol filogenético que arrojó a AO-01 como una rama aislada en comparación con las especies del género *Brucella*. Por lo anterior, se propone, que AO-01 podría representar una nueva especie no descrita del género *Brucella*.

Proyecto FONDECYT 1180122. Proyecto FONDECYT 1161161.

MA276

Identificación de subtipos de *iha* en cepas *Escherichia coli* productor de toxina Shiga LEE-negativas aisladas de humanos y bovinos en Argentina y Chile

Rocío Colello¹, Alejandra Krüger¹, Felipe Del Canto², Analía Etcheverría¹, Vidal Roberto Mauricio², Padola Nora Lía¹.

⁽¹⁾ Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), CONICET, CICPBA, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, AR. ⁽²⁾ Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago de Chile, CL.

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) es un grupo de cepas que ocasiona enfermedades graves como colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico, debido a que posee múltiples factores de virulencia. Entre las proteínas sugeridas como adhesinas se encuentra *Iha*, cuyo nombre refiere a su homología con la adhesina IrgA de *Vibrio cholerae* (IrgA homolog adhesin). Esta proteína se detectó por primera vez en una cepa STEC O157:H7, codificada en una isla genómica que confiere adherencia y resistencia a telurito, denominada TAI. Estudios posteriores demostraron presencia de *iha* en cepas STEC no-O157, como también variabilidad de su secuencia y localización. En particular, análisis filogenéticos basados en *iha* separan las cepas LEE-positivas y las LEE-negativas en distintos clados. El propósito de este estudio fue examinar los subtipos de *iha* y su localización en cepas STEC LEE-negativas aisladas de humanos y bovinos. Se analizaron secuencias genómicas de 32 aislamientos STEC LEE-negativos obtenidos de Argentina (17) y Chile (15) de distintos serotipos y orígenes. Se utilizaron herramientas bioinformáticas tales como VirulenceFinder, RAST y BLAST para detectar y localizar *iha* en cada genoma. Se realizó un alineamiento múltiple y se construyó un árbol filogenético con las secuencias *iha* obtenidas y secuencias depositadas en bases de datos. Además, se analizaron las regiones flanqueantes a *iha* en los distintos genomas. Se detectó *iha* en la mayoría de los aislamientos (29/32). El análisis demostró la presencia de 3 subtipos que denominamos *iha1*, *iha2*, *iha3*. Catorce aislamientos presentaron los subtipos *iha2* e *iha3* simultáneamente, 11 aislamientos sólo *iha3*, 3 sólo *iha2* y 1 *iha1*. El análisis de secuencias flanqueantes sugiere que *iha1* estaría localizado en TAI, *iha2* en un plásmido similar a pO113, mientras que *iha3* en una isla genómica de adherencia y autoagregación descrita en cepas LEE-negativas (LAA). La proteína *Iha* se encontró en una alta prevalencia en cepas LEE-negativas aisladas tanto de humanos como de bovinos en Chile y Argentina. La mayoría de las cepas presentaron subtipos de *iha* que estarían localizados en plásmidos y/o islas genómicas. Estudios posteriores permitirán evaluar la importancia de más de un subtipo de estas adhesinas en STEC.

MA277

Genome quality assessment of marine actinomycetes for biosynthetic gene cluster prediction

Andrés Cumsille¹, Agustina Undabarrena¹, Ricardo Valencia¹, Francisco Salvà-Serra², Edward Moore^{2,3}, Beatriz Camara¹.

⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química & Centro de Biotecnología DAL, Centro de Biotecnología, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Department of Infectious Diseases, University of Gothenburg, Gothenburg, SE. ⁽³⁾ Culture Collection University of Gothenburg (CCUG), University of Gothenburg, Gothenburg, SE.

The alarming increase in bacterial resistance to commonly used drugs has made urgent the need for antibiotics discovery. The *phylum Actinobacteria* represents a prominent group of microorganisms for the bioprospection of novel bioactive compounds since many of these microorganisms commonly possess in their genomes a large number of Biosynthetic Gene Clusters (BGCs). Whole genome sequencing is providing valuable information that contributes and orientates the discovery of natural products in microorganisms. Nowadays, there has been a bloom of genomic data due to recent advances in high-throughput sequencing, enabling the rapid and cost-effective recovery of whole genomes from microorganisms worldwide. The challenge in the natural product discovery field is to mine the genomic data, detect putative BGCs, compare them to functionally known BGCs with recognized molecules, and focus on BGCs that encode the most promising novel compounds. In order to make robust inferences from genomic data, it is critical to perform analysis with high-quality genomes. In this study, we evaluated the quality of different genome assemblies of bacteria belonging to the *Phylum Actinobacteria* isolated from marine environments of the Chilean coast. Sequencing was performed with different platforms, such as Illumina, PacBio, and Oxford Nanopore and assembling was done with various available softwares such as SPAdes, Canu, Unicycler, among others. In some cases, different assemblies were merged using Quickmerge. Raw Illumina reads were trimmed and corrected and nanopore reads were filtered by quality before assembled. The quality of the assemblies was assessed by two independent methods (i) using the software CheckM, which evaluates contaminations and genome completeness and, (ii) a quality score calculated by the number of contigs in the genome assembly and by the presence of: ambiguous bases, complete rRNA genes, tRNAs and 102 essential genes. Later the genome assemblies were used for BGC prediction using the publicly available tool antiSMASH. Our results showed that less number of contigs does not necessarily represent a better genome quality assembly. Under certain cases, the addition of extra reads or merging different assemblies in order to get an assembly with less number of contigs sacrifices essential genomic data, making BGCs prediction less accurate.

FONDECYT (N° 1171555), Anillo ACT172128, Swedish Research Council (2013-6713). PIE>A UTFSM.

MA278

Estudio de la diversidad de NAPs (Nucleoid-associated proteins) presentes en el complejo *Acidithiobacillus* y su posible papel en la biología de los MGEs (Mobile Genetic Elements) integrados

Rodrigo Flores-Ríos^{1,2,3}, Ana Moya-Beltrán^{1,4}, Camila Rojas¹, Tomás Perez-Acle², Alejandra Loyola³, Raquel Quatrini¹.

⁽¹⁾ Laboratorio de Ecofisiología Microbiana, Fundación Ciencia & Vida, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Biología Computacional, Fundación Ciencia & Vida, Santiago, CL. ⁽³⁾ Laboratorio de Epigenética y Cromatina, Fundación Ciencia & Vida, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Andrés Bello.

La transferencia génica horizontal (HGT) juega un papel preponderante en la evolución de los microorganismos, contribuyendo a su diversificación genética y adaptación ecológica. Sin embargo, a fin de preservar su integridad fisiológica, estructural y regulatoria los microorganismos han debido seleccionar mecanismos para mitigar, modular y tolerar la adquisición de DNA foráneo. Entre estos mecanismos, el *silenciamiento xenogénico* mediado por las proteínas tipo histonas (NAPs) que se asocian al DNA modificando su topología, jugaría un papel crucial. En bacterias se han identificado NAPs tanto en el cromosoma como en plásmidos. Sin embargo, poco se sabe acerca de la ocurrencia de NAPs en otros elementos genéticos móviles (MGEs) o de su relevancia funcional. En este trabajo se analizó la ocurrencia y diversidad de NAPs en bacterias secuenciadas del complejo específico *Acidithiobacillus* empleando estrategias de genómica comparativa y filogenómica. En especies con genomas cerrados se analizó adicionalmente la partición de los tipos identificados entre el genoma *core* y el moviloma predicho, con el fin de aportar indicios acerca de la relevancia de las NAPs en la biología de los MGEs integrados. En todos los genomas analizados se identificaron NAPs de las familias Fis, IHF y HU, aunque el número de ortólogos de cada tipo de NAP y la variedad de subtipos varió significativamente entre especies e incluso entre cepas de cada especie. A excepción de los genes codificantes para proteínas NAPs de la familia Fis, que ocurren exclusivamente en el genoma *core*, los genes codificantes para proteínas tipo HU e IHF ocurren tanto en el genoma *core* como en el moviloma de *A. ferrooxidans* ATCC23270 y *A. caldus* ATCC51756. Mientras que las NAPs del genoma *core* mostraron altos niveles de conservación de secuencia, las NAPs del moviloma son diversas y agrupan en potenciales subfamilias. Las diferencias identificadas se analizan en relación a la distribución filogenética y el contexto genético de las subfamilias más frecuentes. Este estudio sienta las bases para abordar el análisis experimental del papel y la relevancia diferencial de NAPs asociadas al genoma *core* y flexible en la modulación de la topología del DNA y/o su efecto en regulación génica.

AFB 170004, FONDECYT 1181251 (RQ), 1160480 (AL), 1160574 (TPA), CONICYT scholarships 21171049 (AMB).

MA279

Variabilidad genética del sistema flagelar y sus implicancias en el fenotipo mótil de bacterias biolixivantes del género *Acidithiobacillus*

Rodolfo Gómez^{1,2}, Ana Moya-Béltran^{1,3}, Matías Castro¹, Yasna Gallardo¹, Raquel Quatrini¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Ecofisiología Microbiana, Fundación Ciencia & Vida, Santiago, CL. ⁽²⁾ Facultad de Ingeniería y Tecnología, Universidad San Sebastián. ⁽³⁾ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

El género *Acidithiobacillus* comprende bacterias Gram-negativas, quimiolitotróficas, acidófilas que juegan un importante rol en el proceso de extracción de metales desde minerales conocido como biolixiviación. Actualmente, los *Acidithiobacillus* se clasifican en siete especies organizadas en cuatro clados. A pesar de tener muchos rasgos fisiológicos en común, los *Acidithiobacillus* difieren en importantes características fenotípicas, siendo una de las más conspicuas la presencia o ausencia de flagelo. El flagelo bacteriano es un organelo complejo que permite el desplazamiento activo del microorganismo a través de medios líquidos (*swimming*) y sobre superficies sólidas (*swarming*). Este organelo no solo permite el desplazamiento quimiotáctico hacia un estímulo (ej: una fuente de energía), sino que además actúa como adhesina permitiendo la unión a superficies. El clado 3 de *Acidithiobacillus* agrupa bacterias azufre-oxidantes genómicamente heterogéneas y que difieren en sus patrones flagelares. Sin embargo, poco se sabe acerca de las bases moleculares de tales diferencias y de su influencia en los fenotipos asociados. En este trabajo, hemos caracterizado los operones flagelares mediante estrategias bioinformáticas y evaluado la motilidad tipo *swarming* en miembros del clado 3. Utilizando las secuencias genómicas de *A. thiooxidans*¹ y *A. albertensis*, y de otros tres sublinajes sin asignación taxonómica formal, y estrategias de reconstrucción metabólica hemos identificado los genes involucrados en la biosíntesis y ensamblaje del aparato flagelar de estas especies. Este análisis reveló diferencias relevantes en proteínas clave de la estructura flagelar, como la flagelina (ej: diferencias en el tamaño del gen) y polimorfismos nucleotídicos en proteínas regulatorias como *FlhF* y *FlhG* (*FlhN*), que controlan el ensamblaje, la ubicación y el número de flagelos polares. Mediante ensayos de motilidad adaptados a las condiciones ácidas en que habitan los *Acidithiobacillus*, se evaluaron los patrones de organización y migración de estas bacterias sobre sustrato semisólido, encontrándose diferencias importantes en ambas características. En este trabajo se analizan las diferencias encontradas e interpretan las probables consecuencias de éstas en los fenotipos de segundo orden como la formación de biopelículas y la capacidad biolixivante de los sublinajes del clado 3.

Agradecimientos: AFB 170004, FONDECYT 1181251 (RQ), CONICYT scholarships 21171049 (AMB).

MA280

The pangenome of *Leishmania* spp: a comparative genomic study

J. Eduardo Martinez^{1,2,3}, Cristian Molina^{2,4}, Guillermo Nourdin-Galindo^{2,5}, Alberto J. Martin¹, Vinicius Maracaja-Coutinho². ⁽¹⁾ Network Biology Laboratory, Centro de Genómica y Bioinformática, Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratory of Integrative Bioinformatics, Advanced Center for Chronic Diseases, Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Programa de Doctorado en Genómica Integrativa, Vicerrectoría de Investigación, Universidad Mayor, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Lircaytech, Santiago, CL. ⁽⁵⁾ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL.

Leishmania comprises about 30 described species, of which around 20 are infective for humans. Reported annual infections vary from 0.7-1.3 million for cutaneous leishmaniasis and between 200,000-400,000 cases for visceral leishmaniasis. Focusing on the evaluation of structural and functional divergences within leishmania species, we performed a pangenomic analysis of 26 strains belonging to 16 species available at complete genome or chromosome level in TriTrypDB and NCBI, identifying metabolism signatures for different groups of *Leishmania* spp. We employed novel ORF predictions on these genomes using three different algorithms, and then carried out functional annotations with an in house pipeline against a myriad of public databases. Finally, we implemented a pipeline based on presence absence binary matrix which is then used to define the pangenome of *Leishmania* genus. We found an open pangenome composed by 15,987 genes, with a core genome of 3,223 (20.2%) genes shared within all genus, and an auxiliary genome composed by 6,165. Using metabolic pathways enrichment, we found that most of the unique genes are mainly involved in cellular processes and mechanisms of response and adaptation to different environments, as well as, host specific virulence. Furthermore, we were able to identify different genes subsets shared and unique to species with distinct clinical manifestations and evolutionary history. This study could be useful for the future development of specific diagnosis tests, as well as for the identification of target genes for vaccines and therapeutics development.

This work was supported by a PhD fellowship from Universidad Mayor and grants from FONDECYT-CONICYT [11161020], PAI-CONICYT [PAI79170021], FONDAP-CONICYT [15130011] and FONDECYT-CONICYT [1181089], Chile.

MA281

Antifungal susceptibility to amphotericin B and fluconazole of *Cryptococcus neoformans* environmental isolates

Alves Nathanael Dos Santos¹, Silva Tássio Henrique S¹, Araújo Claudiane Vansoski¹, Gomes Thayse Haylene S¹, Silva Andressa Kelly F¹, Silva Nayra Cristina L S¹, Damasceno Júnior Evandro César Bezerra¹, Santos Khelvin Myner Da C¹, Caminha Henrique Barros¹, Carvalho Andressa Maria Aguiar², Machado Ana Clara Rabelo N¹, Silva Carla Thália S¹, Franco Maria Syndel Caroline R¹, Ferreira Thatiana Bragine⁴, Sousa Jacqueline Batista³, Daboit Tatiane Caroline², Paim Kennio Ferreira⁴, Fonseca Fernanda Machado¹. ⁽¹⁾ Department of Biomedicine, Campus Ministro Reis Velloso, Federal University of Piauí, Parnaíba, BR. ⁽²⁾ Biomedical Sciences Programm, Campus Ministro Reis Velloso, Federal University of Piauí, Parnaíba, BR. ⁽³⁾ Institute of Biological and Natural Sciences, UFTM, Triangulo Mineiro Federal University, Uberaba, BR. ⁽⁴⁾ Department of Infectious and Parasitic Diseases, UFTM, Triangulo Mineiro Federal University, Uberaba, BR.

Background: Cryptococcosis is a systemic disease caused by two pathogenic species of the *Cryptococcus neoformans* complex. The infection occurs after the inhalation of *Cryptococcus neoformans* propagules from the environment, dissemination to the lungs and severe cases of meningitis, which mainly affect immunocompromised individuals.

Methods: This study aimed to evaluate the susceptibility to fluconazole and amphotericin B of environmental isolates of *C. neoformans* obtained from dry bird excreta in the city of Parnaíba, PI, Brazil. From June 2016 to April 2017, were collected 39 samples of dried pigeon's droppings (*Columbia livia*) in different areas of the city. Additionally, two strains of *C. neoformans* previously isolated were included. The susceptibility test for fluconazole and amphotericin B was performed by the broth microdilution method according to CLSI document M27A-3. **Results:** *Cryptococcus* spp. was isolated in six (15.4%) samples. All isolates presented capsule, produced melanin in Niger seed agar, and were negative for the CGB test. Thus, phenotypically classified as *C. neoformans*. All isolates presented susceptibility to both antifungals tested. Regarding fluconazole, the MIC of 4 µg/mL was detected in five (62.5%) strains and three (37.5%) presented MIC of 8 µg/m, while to amphotericin B, the MIC ranging from 0.25 µg/mL to 1 µg/mL. **Conclusion:** The results of the present study demonstrated the sensitivity of the isolates of *C. neoformans* to fluconazole and amphotericin B, the main antifungal used in the treatment of cryptococcosis. In Brazil, these antifungals are the choice of treatment for cryptococcosis while fluconazole is also indicated as a prophylaxis treatment in other diseases to reduce the risk of recurrence of infection, especially in patients who maintain the status of immunosuppression. Despite all the environmental isolates were susceptible in this study, the continuous epidemiological vigilance is essential in order to detect early resistance to these antifungals.

UFPI (Federal University of Piauí), FAPEPI (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí).

MA282

O inibidor de bombas de efluxo carbonil cianeto m-clorofenil-hidrazona (CCCP) reduz a biomassa, a produção de proteases e de sideróforos por biofilmes maduros de *Burkholderia pseudomallei*

Bruno Amando¹, Cecília Costa², Crister Ocadaque¹, Rodrigo Pinheiro¹, Fábio Magalhães¹, Alyne Freitas¹, Anísio Santos Filho¹, Glaucia Guedes¹, José Sidrim¹, José Sidrim¹, Marcos Rocha¹, Débora Castelo-Branco¹. ⁽¹⁾ Departamento de Patologia e Medicina Legal, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, BR. ⁽²⁾ Departamento de Morfologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, BR.

Burkholderia pseudomallei é uma bactéria Gram negativa, saprofítica, encontrada principalmente no solo e água de regiões tropicais e subtropicais, incluindo norte da Austrália, Sudeste Asiático e Nordeste do Brasil. Essa bactéria é o agente causal da melioidose e produz diversos fatores de virulência, incluindo biofilmes, proteases extracelulares e sideróforos. O carbonil cianeto m-clorofenil-hidrazona (CCCP) é um inibidor de bombas de efluxo, que participam de diversos mecanismos microbianos fisiológicos e homeostase dos biofilmes. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do inibidor de bomba de efluxo CCCP sobre a estrutura do biofilme maduro de *B. pseudomallei* e a produção de fatores de virulência por essa comunidade bacteriana. Foram utilizadas 8 cepas clínicas e 8 ambientais de *B. pseudomallei*. Os biofilmes foram cultivados em microplacas contendo 175 µL de caldo BHI-Glicose a 1% e 25 µL de inóculo bacteriano a $1,5 \times 10^9$ ufc/mL. Em seguida, as microplacas foram incubadas a 37 °C, por 48h. Após este período, o sobrenadante dos biofilmes foi descartado e 200 µL de caldo BHI-Glicose, com ou sem CCCP a 67, 133 e 530 µM, foram adicionados aos poços contendo células aderidas e as placas foram incubadas por mais 24 horas. As cepas foram cultivadas em triplicata para cada condição de crescimento e os ensaios foram realizados em dois momentos distintos. Após este período, avaliou-se a viabilidade do biofilme com resazurina e a biomassa com cristal violeta. Adicionalmente, o sobrenadante do biofilme foi removido e centrifugado. Para avaliar a atividade de proteases, 500 µL do sobrenadante foram adicionados a 500 µL de azoalbumina e, para quantificar a atividade de sideróforos, 100 µL do sobrenadante foram misturados com 10 mL da solução CAS (hexadecil-trimetil-amônio, FeCl₃, Chrome Azural, piperazina anidra e HCl). As placas foram lidas por espectrofotometria a 440 nm e 630 nm, respectivamente. Observou-se que o CCCP, na maior concentração, reduziu significativamente a biomassa do biofilme, assim como a atividade de proteases e de sideróforos ($P < 0,05$), quando comparadas ao controle. Finalmente, a inibição das bombas de efluxo mediada por CCCP no biofilme de *B. pseudomallei* interfere na estrutura do biofilme, possivelmente tornando-o mais vulnerável a agentes antimicrobianos.

FUNCAP, CAPES e CNPq.

MA283

Influence of communication between human renal endothelial and epithelial cells on pro-inflammatory mediators induced by *Escherichia coli* Shiga type 2 and Subtilase toxins

Alvarez Romina S¹, Shiromizu Carolina M², Carolina Jancic², Repetto Horacio A³, Paton Adrienne W⁴, Paton James C⁴, Cristina Ibarra¹, Amaral Maria M¹. ⁽¹⁾ Departamento de Fisiología. IFIBIO-Houssay. UBA-CONICET, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, AR. ⁽²⁾ IMEX-CONICET, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, AR. ⁽³⁾ Departamento de Pediatría, Hospital Alejandro Posadas, Buenos Aires, AR. ⁽⁴⁾ Department of Molecular and Cellular Biology, University of Adelaide, Adelaide, AU.

Introduction. Hemolytic Uremic Syndrome associated to Shiga toxin (Stx)-producing *E. coli* infection is the most common cause of acute renal failure (ARF) in children in Argentina. Stx type 2 (Stx2) damages human renal microvascular endothelial cells (HGEC) and tubular epithelial cells (HK-2) and also induces a broad inflammatory response. Subtilase cytotoxin (SubAB) may also contribute to this pathology. We developed a HGEC/HK-2 coculture as a model of renal proximal tubule to clarify the involvement of the endothelial-epithelial cross talk in the kidney damage caused by toxins. In this work, we evaluated the response of selected pro-inflammatory mediators released by HGEC, HK-2 and HGEC/HK-2 exposed to Stx2, SubAB or Stx2+SubAB. **Methods.** HGEC, HK-2 and HGEC/HK-2 were incubated with Stx2 (0.01ng/ml), SubAB (1ng/ml) or Stx2+SubAB [(0.01+1) ng/ml] for 24 h. Culture supernatants were collected and IL-6, IL-8 and TNF- α were quantified by ELISA. Stx2, SubAB, Stx2+SubAB vs. Ctrl, $p < 0.05$, $n = 4$. **Results.** Controls showed a differential release of IL-6, IL-8 and TNF- α between monocultures and cocultures, suggesting that soluble mediator's secretion depends on the cell type and culture conditions ($p < 0.05$). On HGEC/HK-2: Stx2, SubAB and Stx2+SubAB caused a significant increase on IL-6 (4592 ± 258 , 4254 ± 325 , 4395 ± 317 vs. 3448 ± 179 pg/ml) and IL-8 release (1730 ± 161 , 1746 ± 110 , 1830 ± 104 vs. 1272 ± 85 pg/ml) but they did not modulate TNF- α . On HGEC: Stx2 increased IL-6 (5505 ± 170 vs. 4572 ± 101 pg/ml), IL-8 (5188 ± 234 vs. 3876 ± 99 pg/ml) and TNF- α (141 ± 30 vs. 45 ± 3 pg/ml). In addition, Stx2+SubAB increased TNF- α level (85 ± 13 vs. 45 ± 3). Toxins did not have effect on IL-6 and TNF- α release by HK-2, but SubAB and Stx2+SubAB decreased IL-8 levels in these cells. Finally, differences in the pro-inflammatory mediators release were observed in the HGEC and HK-2 coculture compartments compared to HGEC and HK-2 monocultures ($n = 1$). **Conclusions.** These results show that the endothelium-epithelium communication modulates the inflammatory responses caused by Stx2 and SubAB on renal cells and may contribute to the early events of ARF.

National Scientific and Technical Research Council. University of Buenos Aires. National Agency for Promotion of Science and Technology.

MA284

Descripción de factores inmunes y constitutivos de la cavidad oral en casos y controles expuestos a Hanta Andes Virus (ANDV)

Camila Andaur¹, **Constanza Martinez**^{1,2}, Nicole Le Corre², Jenniffer Angulo³, Marcela Ferres². ⁽¹⁾ Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Infectología y Virología Molecular, Red Salud UC-Christus, Pontificia Universidad Católica de Chile. ⁽³⁾ Laboratorio de Virología Molecular, Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia (IMI), Pontificia Universidad Católica de Chile.

Introducción: ANDV es el agente etiológico del síndrome cardiopulmonar por hantavirus, en Chile. La transmisión ocurre principalmente a través de la inhalación de excretas infectadas de *Oligoryzomys longicaudatus*, principal reservorio, o vía persona-persona. El principal riesgo transmisión persona-persona lo constituye ser pareja sexual de un caso, específicamente a través de los besos. *In vitro*, se ha determinado que componentes de la saliva inhiben la infección por ANDV. **Objetivo:** Cuantificar y detectar los componentes salivales de casos (expuestos-Infectados) y controles (expuestos-No-infectados) **Materiales y Métodos:** Saliva de 79 Casos, diagnosticados con infección por ANDV y 113 controles, contactos cercanos expuestos que no presentan enfermedad. Se midieron los siguientes componentes: sIgA Inmunoglobulina A secretora), mediante ELISA; Interleuquinas (IL-1b; IL-12p70; TNFa; INF-γ; IL-10; IL-6; VEGF; IP-10; IL-8; TGF) por ensayo Múltiple y las mucinas MUC7 y MUC5B, mediante Western Blot. **Resultados:** El 68% (68/79) de los casos y el 38,9% (44/113) de los controles fueron hombres, ($p \leq 0,05$). La edad promedio para casos y controles fue de 36,2 y 31,8 años, respectivamente. La concentración promedio de sIgA en los casos fue de 0.551 ± 0.61 (mg/ml) y para el grupo control de 0.322 ± 0.46 (mg/ml) ($p \leq 0,05$). Se observó una tendencia de mayor concentración de VEGF en casos que en controles (promedio 554.24 ± 1081 y 72.41 ± 131.5 pg/mL respectivamente ($p = 0,06$)). Se encontró la misma tendencia para IP-10, IL8 e IL6. Respecto a las mucinas, 41% (18/44) de los casos y un 60% (36/60) de los controles presentaron MUC5B, mientras que MUC7 fue detectada en 75% (33/44) de los casos y en 61% (37/60) en los controles. En los controles se encontró con mayor frecuencia las 2 isoformas de mucina MUC7 que en casos infectados (81% (30/37) versus 45% (15/33) respectivamente, $p \leq 0,05$). **Conclusión:** Tres componentes salivales muestran diferencias entre casos y controles (sIgA, VEGF y las isoformas de MUC7). En el caso de MUC7, las isoformas presentes en saliva parecen ser más relevantes que la cantidad de ellas entre expuestos a ANDV enfermos y sanos. Este trabajo representa la primera descripción de componentes salivales en contexto de infección por ANDV.

FONDECYT 1161197, ACT1408.

MA285

Antibiotic resistance, biofilm production, adherence and conjugation properties of *E. coli* O25 isolated of urinary tract infection in Mexico

Martínez-Gorgonio Elsy Mariela¹, Claudia Ixtepan-Tejero², Rocha-Gracia Rosa Del C³, Martínez De La Peña Claudia Fabiola³, Patricia Lozano-Zaraín³, Ygnacio Martínez-Laguna³, Arenas-Hernández Margarita M.P.³. ⁽¹⁾ Posgrado en Microbiología., Instituto de Ciencias (ICUAP). Centro de Investigación en Ciencias Microbiológicas (CICM), Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), Puebla, Pue., MX. ⁽²⁾ Licenciatura en Biomedicina., Facultad de Medicina y CICM (ICUAP), Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), Puebla, Pue., MX. ⁽³⁾ Posgrado en Microbiología y Licenciatura en Biomedicina., ICUAP. CICM, BUAP, Puebla, Pue, MX.

Uropathogenic *E. coli* (UPEC) is the main etiological agent of urinary tract infections (UTI). UPEC O25 serotype has been associated with high antibiotic resistance, which makes it difficult to treat. In the present study, we worked with 65 UPEC O25 strains from patients with UTI isolated during 2011 to 2015. UPEC O25 represented 8-16% of the total *E. coli* isolates. We determine the susceptibility profile to 24 antibiotics by Kirby-Bahuer. The presence of *bla*CTX-M, *bla*OXA, *bla*TEM and *bla*SHV resistance genes was determined by PCR. The formation of biofilm was carried out by Violet Crystal method. The characteristics of antibiotic resistance, the presence of plasmids and *tra*T and MOB12 genes were used for selecting strains to be used in conjugation and adherence assays. Our results show that all the strains were multidrug resistant with high resistance to the antibiotics of first and second choice except to Nitrofuratoin (MAC) and Fosfomycin (Fos). 61% of strains amplified at least one *bla*BLEE+ gene. 9 of 11 strains previously reported as ESBL+ (Zarzosa 2016) amplified *bla*BLEE. We find 32% of the strains formed biofilm; these strains had high percentages of antibiotic resistance. In addition 47% of forming biofilm strains, were BLEE genotype and 100% had 1-9 virulence factors (VF). We selected three *E. coli* strains O25:H4 for conjugation assay and only 2 were able to conjugated. Further the *E. coli* O25:H4 had different adhesion properties, averaging 1-8 adhered bacteria per cell without mannose and from 1-5 bact/cell with mannose. One strain showed a 76% decrease in adherence in the presence of mannose. In conclusion, UPEC O25 represents an important percentage of clinical isolates from Mexican population with multiresistance characteristics and a high virulence potential. In addition, type 1 pili plays an important role in the adhesion process, but it is probably not the only factor involved. We propose the alternative use of MAC and Fos as an effective treatment of UTI by UPEC O25:H4. Finally, the knowledge of the resistance properties and virulence of UPEC of serotype O25 will help to treatment and control of UTI in Mexican population.

Martínez-Gorgonio E. M. es becaria del CONACYT con Número 842603.

MA286

Análise do potencial de virulência de uma cepa de *Escherichia coli* uropatogênica portadora de marcadores de *E. coli* diarreiogênica

Valiatti Tiago B.¹, Santos Ana C. M.¹, Santos Fernanda F.¹, Silva Rosa M.¹, Enéas Carvalho², Abe Cecilia M.², Gomes Tânia A. T.¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Bacteriologia, Instituto Butantan, São Paulo, BR.

A infecção do trato urinário é uma das mais prevalentes em todo o mundo, sendo a *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC) seu principal agente. Embora cepas de *E. coli* possam receber genes que codificam fatores de virulência por transferência horizontal, pouco se conhece sobre a ocorrência de genes de virulência de patótipos de *E. coli* diarreiogênica (DEC) em cepas de UPEC. Este estudo visou analisar o genoma e o potencial patogênico da cepa UPEC 252, (sorotipo O71:H40 e filogrupo A), que foi previamente identificada como portadora do gene *eae*, o qual está localizado na ilha de patogenicidade LEE (*locus of enterocyte effacement*) e codifica uma proteína adesiva (intimina) característica dos patótipos *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e *E. coli* enterohemorrágica (EHEC). A análise *in silico* do genoma da UPEC 252 quanto à presença de 97 genes de virulência dos diferentes patótipos de *E. coli* revelou a ocorrência de *ompA*, *mat*, *fimA*, *traT*, *cvpA*, *focA*, *fhuA*, *fhuE*, *tonB*, *fepA*, *astA*, *celb*, *iss*, *nleB*, *air*, *malX*, *clb*, *astA*, *ecpA*, *hcpA* e *csgAB*. Observou-se ainda a presença de todos os genes da região LEE, exceto *escK*, *escP* e *cesD2*. A expressão do gene *eae* presente na UPEC 252 foi confirmada em ensaio de *immunoblotting* com anticorpos policlonais mono-específicos contra a região conservada da intimina (Int388-667). O ensaio de interação com células HeLa e Caco-2 (que mimetiza enterócitos do intestino delgado), na presença de D-manose a 2%, revelou a capacidade da UPEC 252 de aderir a ambas as linhagens em um padrão de aderência heterogêneo, com bactérias aderidas aleatoriamente formando eventuais *clusters*. O teste *fluorescent actin staining* (FAS) mostrou que a cepa 252 produziu acúmulo de filamentos de actina em células HeLa no local da aderência bacteriana, o que indica a funcionalidade da região LEE, pois esse ensaio é uma medida indireta da capacidade de cepas de EPEC e EHEC de causar a lesão *attaching/effacing* (lesão A/E). Os achados observados no estudo sugerem que a UPEC 252 é potencialmente mais virulenta por apresentar um genoma híbrido, compartilhando genes de virulência característicos de ExPEC e DEC, o que lhe permitiria causar doença nos sítios intestinal e extraintestinal.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

MA287

Actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de plantas medicinales peruanas frente a *Staphylococcus* spp. aislados de infecciones post cesárea del Hospital Nacional Docente Madre Niño “San Bartolomé”, Lima-Perú

Alejandro Barrenechea De La Fuente¹, Ampuero Leon Angela Luisa¹. ⁽¹⁾ Ciencias Celulares y Moleculares, Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, PE.

Las infecciones de sitio operatorio (ISO) son complicaciones que se presentan en distintas intervenciones quirúrgicas producidas por vía intrahospitalaria, flora bacteriana endógena, entre otras. En este tipo de infecciones, destacan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y estafilococos coagulasa negativos (CoNS), que generan resistencia a antibióticos de uso común en los tratamientos. Por ello, el aprovechamiento de productos naturales como extractos de plantas; permitirá una alternativa de tratamiento fitoquímico. El objetivo del presente trabajo es determinar la propiedad antibacteriana de extractos etanólicos de plantas medicinales tradicionales utilizadas en Perú, frente a *Staphylococcus* spp. aislados de pacientes diagnosticadas con infección post cesárea. Se utilizaron *Minthotachys* sp. “muña”, *Lepechinia meyenii* “salvia”, *Mentha spicata* “hierba buena” y *Plantago major* “llantén”, provenientes de Andahuaylas y Huaraz. A partir de hojas y tallos, se realizó una extracción por maceración con etanol. Se utilizaron las cepas de especie *S. aureus* y *S. epidermidis*, aisladas de pacientes con iso. Por medio del método de difusión en pozos en agar, se determinó la actividad antibacteriana de los extractos de cada planta a concentraciones de 20 y 50 mg/ml frente a los aislados. Se utilizó un total de 21 aislados de pacientes. (n=21). El extracto de Salvia presentó diámetro más alto frente a los aislados de *S. aureus* ($17,100 \pm 3,611$ mm) y *S. epidermidis* ($22,955 \pm 7,919$ mm). El extracto de llantén mostró actividad únicamente con los aislados de *S. epidermidis* con una media de halos de $11,455 \pm 4,906$ mm (n=11). El extracto de muña mostró una actividad promedio de $14,286 \pm 5,293$ mm para ambas bacterias (n=21). El extracto de hierba buena, mostró la menor actividad antibacteriana (promedio de halos > 10mm). Las concentraciones utilizadas en todos los extractos, no presentaron diferencias significativas. Al realizar distintas mezclas entre las plantas que mostraron actividad, la combinación de extractos con el extracto de Salvia, da el promedio mayor de $22,333 \pm 2,77$ mm. Por tanto, se concluye que el extracto etanólico de Salvia mostró mayor actividad, presentándose como una alternativa de tratamiento tópico contra bacterias del género *Staphylococcus* causantes de infecciones post cesárea.

El proyecto fue autofinanciado y se contó con el apoyo del laboratorio de Bacteriología ubicado en Los Laboratorios de Investigación y Desarrollo (LID) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.



MA288

Hepatitis A outbreak since November 2016 affecting men who have sex with men (MSM) in Chile connected to the current outbreak in MSM in Europe

Violeta Rivas¹, Aldo Barrera^{2,3}, Karla Pino³, Ruth Núñez¹, Cáceres C Joaquín³, Marcelo López-Lastra³, Alejandro Soza¹.

⁽¹⁾ Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

⁽²⁾ Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Pontificia Universidad Católica de Chile. ⁽³⁾ Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

An hepatitis A (HAV) outbreak has occurred in Chile since November 2016. Young men are predominantly affected, with a large proportion of men who have sex with men (MSM). In this study we describe 12 unrelated confirmed HAV cases from the Santiago Metropolitan Area. Nine were MSM, all reporting a high-risk sexual contact and 62% showed to have a HIV co-infection. The three female patients declared having close contact with confirmed cases of HAV. Analysis of ten HAV viral sequences (VP1-2A genomic region) showed that the circulating genotype is IA, clustering with one of the three main genetic clusters characterized to be circulating in Europe. The V16–25801 strain, representative of this cluster and originally reported from Germany, was linked to outbreaks mostly in MSM in Germany, the United Kingdom, and Spain since the mid-2016. The Chilean strains isolated from MSM HAV cases showed to be genetically distinct from previous endemic outbreaks associated to a traditional food-borne route of transmission reported in Chile. As many cases in MSM with closely related strains have been described in US, Israel and now in Chile, it seems that the current HAV infection outbreak affects a larger geographical area than Europe.

Work Supported by PIA-CONICYT through the project ANILLO ACT 1408 and the Ministerio de Economía, Fomento y Turismo de Chile through Project P09/016-F, Iniciativa Científica Milenio. Aldo Barrera is a CONICYT Doctoral Fellow.

MA289

PCR convencional para la detección específica del gen de β -tubulina de *Trichomonas tenax* en muestras de la cavidad bucal

Casandra Bracamonte-Wolf¹, Patricio R Orrego², Alejandro Catalan¹, Jorge E Araya¹. ⁽¹⁾ Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL.

Trichomonas tenax, tiene como hábitat la cavidad oral, principalmente de personas con higiene oral deficiente, asociada a enfermedad periodontal, mientras que *Trichomonas vaginalis* habita en el tracto urogenital humano y es considerada un agente de infección de transmisión sexual, no obstante, en ocasiones también puede ser encontrada en la cavidad bucal. En un estudio previo, diseñamos un ensayo de PCR para la detección de *T. tenax* a partir de muestras de cavidad oral, empleando partidores diseñados a partir de secuencias del gen β - tubulina de *T. vaginalis*. Sin embargo, estos partidores resultaron ser altamente específicos para la identificación del género *Trichomonas*, no permitiendo la diferenciación entre ambas especies. En el presente estudio desarrollamos un PCR convencional empleando un par de partidores específicos, diseñados a partir de la secuencia de un fragmento del gen de β -tubulina de *T. tenax*, que permite diagnosticar específicamente la especie. **Objetivo:** Desarrollar protocolo de reacción de polimerasa en cadena para la detección específica del gen de β -tubulina de *T. tenax*. **Material y Método:** El ADN fue extraído de cultivos de *T. tenax* cepa Hs-4:NIH (ATCC® 30207™) y de cultivos de *T. vaginalis* cepa TV-129, a partir de ellos se amplificó mediante PCR del gen β -tubulina, los amplicones del PCR fueron visualizados en trans-iluminador UV, en gel de agarosa al 1,5% teñidos con BrEt. El ADN amplificado fue clonado y enviado a secuenciar. La secuencia de ácidos nucleicos obtenida, fue analizada mediante BLASTn, Multiple alignment y a partir de ella se diseñó un par de partidores altamente específicos para *T. tenax*. **Resultados:** La detección fue específica para *T. tenax* observándose un fragmento de 405 pb, no detectándose amplificación en *T. vaginalis*. **Conclusión:** Los resultados mostraron que la técnica de PCR establecida, permite la detección específica de *T. tenax* de muestras clínicas de placa dental, permitiendo proporcionar un nuevo método de detección rápido y simple para *T. tenax*.

Proyecto Semillero Universidad de Antofagasta #5301.

MA290

Efecto de la coinfección por *Helicobacter pylori* sobre la respuesta inmune específica a *Mycobacterium tuberculosis* en individuos con infección tuberculosa latente

Bustamante-Rengifo Javier A⁴, Gonzalez Luz A¹, Nicole Osorio¹, Diaz Maria V², Sua Luz Fernanda³, Tovar Jose R², Miryam Astudillo⁴, Maria Del Pilar Crespo⁴. ⁽¹⁾ Biología, Ciencias, Universidad del Valle, Cali, CO. ⁽²⁾ Estadística, Ingeniería, Universidad del Valle, Cali, CO. ⁽³⁾ Medicina Interna, Salud, Fundación Valle de Lili, Cali, CO. ⁽⁴⁾ Microbiología, Ciencias Básicas, Universidad del Valle, Cali, CO.

Introducción: *M. tuberculosis* y *H. pylori* son los patógenos bacterianos más prevalentes en a nivel mundial. En muchas poblaciones principalmente de países en desarrollo, estas infecciones obligadas coexisten a lo largo de la vida del hospedero, favorecidas por el hacinamiento y las deficientes condiciones de higiene, continuamente interactuando con el sistema inmune del hospedero sin causar daño en la mayoría de los individuos infectados. Casi nada se sabe acerca del entrecruzamiento de estas infecciones. **Objetivo:** Estudiar el efecto de la coinfección por *H. pylori* sobre la respuesta inmune específica a *M. tuberculosis* en individuos con infección latente. **Método:** Se realizó un estudio de corte transversal, donde se suministró la PPD y un cuestionario a 589 participantes sin enfermedades crónicas. Los individuos con induración ≥ 10 mm, y Rx-tórax normal se clasificaron con infección tuberculosa latente, y se invitaron a practicarse una endoscopia, se tomaron muestras de sangre para la obtención de PBMCs. Las células se cultivaron en presencia del CFP de *M. tuberculosis* (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$), después de 72h se recuperó el sobrenadante para la medición de multiplex citoquinas. **Resultados:** 149 (25.3%) participantes presentaron Tb-latente, 73.2% fueron mujeres pertenecientes al estrato 1, 2 y 3, y 69.1% eran mayores de 45 años ($p=0.000$). De los individuos con infección latente que se sometieron a endoscopia 83% (78/94), presentaron infección por *H. pylori*. En general, la infección por *H. pylori* no se asoció con la positividad en la PPD [OR: 0.90; $p=0.852$]. No se encontró ninguna asociación entre la coinfección por *H. pylori* y los niveles de citoquinas pro-inflamatorias (TNF α , IL-1 β , IP-10, IL-2) y anti-inflamatorias (IL-10, IL-13) específicos para *M. tuberculosis* ($p>0.05$). **Conclusión:** Pese a la alta incidencia de tuberculosis en Cali, la prevalencia de tuberculosis latente es baja. Por el contrario, hay un incremento en la prevalencia de la infección por *H. pylori* que debe ser monitoreada. La coinfección con *H. pylori* induce un estado de supresión de la respuesta inmune específica para *M. tuberculosis*, soportado por el aumento de IL-10 en este grupo.

Convocatoria interna Universidad del Valle.

MA291

Influência do ferro na produção de biofilme em superfícies abióticas por *Corynebacterium striatum*

Cabral Fellipe De Oliveira¹, Oliveira Guilherme Goulart C.¹, Mota Higor Franceschi¹, Cucinelli Andrezza Do Espírito S¹, Cappelli Elisabete Alves¹, Faria Yuri Vieira¹, Olivella Julianna Giordano B¹, Silva Igor Ferreira¹, Oliveira Dryelle Rodrigues¹, Santos Cíntia Silva¹, Raphael Hirata Júnior¹, Cassius Souza¹, Ana Luíza Mattos Guaraldi¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia Imunologia e Parasitologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR.

Corynebacterium striatum tem sido associado com quadros de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). Estudos recentes relataram a capacidade de produção de biofilme em substratos abióticos diversos por cepas de *C. striatum* isoladas de pacientes internados em hospital da região metropolitana do Rio de Janeiro. Entretanto, escassos são os trabalhos que investigam a influência de condições ambientais na patogenicidade de *C. striatum*. Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do ferro na habilidade da formação de biofilme por *C. striatum*. Neste sentido, os ensaios de produção de biofilme em microplacas de poliestireno foram realizados na ausência e na presença de 400 mM 2,2'-dipiridil ou 365 mM FeSO₄. Na ausência de condições de limitação e suplementação de ferro as quatro amostras testadas foram capazes de formar biofilme em intensidades variadas, independente dos sítios de isolamento, PFGE-tipos, perfis de resistência aos antimicrobianos. Nos testes semi-quantitativos realizados em condições de limitação de ferro foi demonstrado que as amostras MDR 1987/I e MDR 2369/II expressaram menores níveis de produção de biofilme, entretanto, foi observado aumento do número de células viáveis (CFU ml⁻¹) destas mesmas amostras submetidas ao tratamento com 2,2'-dipiridil. Diferentemente, as amostras MDS 1954/IV e 1961/III apresentaram redução na quantidade de biofilme formado e de células viáveis quando cultivadas na presença do quelante de ferro 2,2'-dipiridil. Nos ensaios realizados na presença de sulfato ferroso, as condições de suplementação de ferro inibiram tanto a formação de biofilme quanto o número de células sésseis viáveis, exceto para a amostra MDS 1954/IV que também apresentou um aumento no número de células sésseis viáveis. Análises por microscopia eletrônica de varredura demonstraram, para as quatro amostras de *C. striatum* submetidas à condições de limitação e de suplementação de ferro, a presença de formas bacterianas alongadas características de micro-organismos submetidos a condições de estresse além de produção de biofilme maduro apresentando pouco material extracelular. Em conclusão, *C. striatum* MDR ou MDS de diferentes pulsotipos permanecem capazes de produzir biofilme sob condições de estresse relacionadas com a presença de ferro. Deste modo, as equipes de saúde devem estar atentas aos casos de *C. striatum* MDR causadores de IRAS.

CAPES, CNPq, FAPERJ, SR2-UERJ.

MA292

Determinación de reactividad cruzada entre factores de colonización de la familia gamma-2 de ETEC

Leandro Antonio Cadiz¹, Alexia Torres¹, Raul Valdés³, Gabriel Vera², Roberto Vidal¹, Felipe Del Canto¹. ⁽¹⁾ Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL.

Escherichia coli enterotoxigénica (ETEC), importante causa de diarrea infecciosa, coloniza el intestino utilizando diversos factores de colonización (CFs), fimbrias mayoritariamente ensambladas por la vía Chaperona-Usher (CU). Las fimbrias CU se clasifican en 9 familias (α , β , γ_1 , γ_2 , γ_3 , γ_4 , κ , π y σ). Las cepas ETEC que infectan humanos producen CFs- α (8 CFs), γ_2 (4 CFs), γ_3 (2 CFs) y κ (2 CFs). Actualmente, no existe vacuna contra ETEC, en parte debido a la diversidad de CFs, por lo que buscar antígenos comunes entre ellos podría contribuir a solucionar esta problemática. Recientemente, hemos identificado siete loci de fimbrias CU- γ_2 en cepas ETEC negativas para CFs, distintos a los codificantes de los CFs- γ_2 ya conocidos, CS12, CS18 y CS20, dando cuenta de una alta diversidad dentro de este subgrupo. El objetivo de nuestro trabajo fue determinar la existencia de reactividad cruzada entre CFs- γ_2 . Se obtuvo anticuerpos policlonales contra la subunidad estructural principal (SEP) de CS20 (CsnA) y se determinó reactividad con las SEP de CS12 y CS18, CswA y FotA, respectivamente, mediante ensayos de Western blot e inmunogold. Además, se determinó la capacidad de los anticuerpos anti-CsnA de bloquear la adherencia de cepas ETEC productoras de CS12 y CS18 a células Caco-2. Como control negativo, se utilizaron cepas mutantes para cada CF- γ_2 , obtenidas mediante intercambio alélico. Anticuerpos anti-CsnA reconocieron CswA, FotA y CsnA, observándose bandas inmunoreactivas de los tamaños esperados (17,5, 25 y 20,8 kDa, respectivamente). No se observó reactividad con extractos de cepas mutantes. Mediante inmunogold, se observó la presencia de partículas de oro en la superficie de cepas productoras de CS12, CS18 y CS20, las que no se observaron en los controles negativos. Finalmente, la capacidad de adherencia bacteriana, en presencia de anti-CsnA, se redujo, en promedio, un 34,4%, 58,2% y 30,9%, para cepas ETEC productoras de CS12, CS18 y CS20, respectivamente. No se observaron disminuciones de capacidad de adherencia en las cepas mutantes, en presencia de anti-CsnA. La reactividad cruzada observada entre CFs de la familia γ_2 , sugiere la factibilidad de desarrollar candidatos a vacuna de amplio espectro protector, utilizando un número limitado de antígenos.

Financiamiento: Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico 11150966.

MA293

Genes de virulência e formação de biofilme em amostras de *Enterococcus faecalis* resistentes à penicilina

Tibúrcio Aline Andréia Caixeta M.¹, Corá Luiza Franco¹, Lima Vinicius Marques De², Paiva Aline Dias¹, Oliveira Adriana Gonçalves¹. ⁽¹⁾ Programa de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, BR. ⁽²⁾ Curso de Graduação em Biomedicina, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, BR.

Os enterococos são um dos principais agentes causadores de infecções hospitalares em todo o mundo. A emergência de amostras de *Enterococcus faecalis* com um fenótipo de resistência incomum (penicilina-resistente e ampicilina-sensível) no ambiente hospitalar pode ter sido facilitada pela presença e acúmulo de diferentes fatores de virulência nessa linhagem. O presente trabalho teve como objetivo investigar a presença de genes que codificam fatores de virulência em amostras de *E. faecalis*. A capacidade de formar biofilme também foi determinada. As amostras de *E. faecalis* estudadas foram obtidas no período de 2006 a 2014 de diferentes espécimes clínicos em um hospital universitário, em Uberaba, Brasil. A presença dos genes de virulência: *efaA* (antígeno A de superfície de *E. faecalis*), *ace* (proteína de adesão ao colágeno), *esp* (proteína de superfície enterocócica) e *asa1* (substância de agregação) foi avaliada por meio de PCR, utilizando *primers* específicos. A formação de biofilme foi determinada *in vitro*, em placas de poliestireno, pelo método de coloração com cristal violeta e a concentração inibitória mínima (CIM) de penicilina e ampicilina por microdiluição em caldo, de acordo com as recomendações do CLSI. Um total de 41 amostras foi avaliado, sendo 20 amostras resistentes à penicilina (CIM: 16 a 32 µg/mL) e sensíveis à ampicilina (CIM: 1 a 8 µg/mL) (EFPRAS) e 21 amostras sensíveis à penicilina (CIM: 1 a 8 µg/mL) e à ampicilina (CIM: 0,25 a 2 µg/mL) (EFPSAS). Dentre os EFPRAS, os genes *asa1*, *esp* e *ace* foram detectados em 100%, 90% e 70% das amostras, respectivamente. Quanto aos EFPSAS, os genes *asa1*, *esp* e *ace* foram detectados em 81%, 71% e 86% das amostras, respectivamente. O gene *efaA* foi encontrado em 100% das amostras, independente do perfil de resistência à penicilina. Onze das amostras de EFPSAS (52%) e 12 das amostras de EFPRAS (60%) apresentaram todos os quatro genes de virulência simultaneamente. A habilidade de formar biofilme foi detectada em todas as 41 amostras estudadas. Os resultados do presente estudo indicam que a resistência à penicilina em *E. faecalis* não estava associada à habilidade de formação de biofilme e a nenhum dos fatores de virulência investigados.

CAPES, FAPEMIG, CNPq.

MA294

Primeiro relato da presença do gene *aac(6′)-Ib7* em amostras de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* em pacientes hospitalizados: caracterização genômica

Paola Amaral Campos¹, Araújo Bruna Fuga¹, Gonçalves Iara Rossi¹, Sabrina Royer¹, Ferreira Melina Lorraine¹, Luiz Gustavo Machado¹, Batistão Deivid William¹, Facimoto César Toshio¹, Pereira Ulisses Padua², Gontijo-Filho Paulo Pinto¹, Rosineide Marques Ribas¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia Molecular, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, BR. ⁽²⁾ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, BR.

A caracterização epidemiológica da disseminação de genes de resistência e virulência em micro-organismos da família Enterobacteriaceae é altamente relevante no contexto médico e científico. Esse é o primeiro relato utilizando sequenciamento completo do genoma, para analisar a resistência e virulência de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* apresentando o gene *aac(6′)-Ib7*, conferindo resistência a gentamicina, em pacientes hospitalizados no Brasil. As cepas *E. coli* (Ec98) e *K. pneumoniae* (Kp81) foram recuperadas no ano de 2014 de pacientes admitidos em um hospital de grande porte em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. O sequenciamento das amostras foi realizado através da plataforma Illumina HiSeq e a montagem e análises através do CLC Genomics Workbench v10.1.1. Além de carregarem o gene *aac(6′)-Ib7*, apresentaram amplo perfil de virulência e de resistência, sendo caracterizadas como multirresistentes. Um aspecto relevante foi que as amostras foram produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) do tipo CTX-M, carregadas por plasmídeos. A cepa Ec98 foi recuperada de urina de um paciente do sexo masculino de 66 anos com infecção de origem comunitária, e foram detectados 15 genes de resistência, incluindo *bla*CTX-M-8. Esta cepa foi caracterizada como pertencente ao Sequence Type (ST) 19, apresentando os grupos de incompatibilidade plasmidial IncI1 e IncQ1 e sorotipo O142:H30 (*E. coli* enteropatogênica). Kp81 foi recuperada da corrente sanguínea de paciente também do sexo masculino de 62 anos. A cepa apresentou 16 genes de resistência, incluindo *bla*CTX-M-15 e as mutações S83I (*gyrA*) e S80I (*parC*) na região determinante de resistência às quinolonas. Esta cepa pertence ao ST340, amplamente disseminado no Brasil, contendo IncFIB(K) e IncR e sorotipo capsular KL151. As cepas apresentaram também vários genes de virulência em comum, por exemplo o *ecpA*, relacionado ao desenvolvimento de biofilme e reconhecimento da célula hospedeira. O surgimento e disseminação de clones de alto risco de cepas produtoras de ESBL são encontrados em frequências cada vez mais alarmantes nos hospitais e na comunidade. Não sabemos ainda o impacto da presença do gene *aac(6′)-Ib7* nessas amostras clínicas, entretanto, acreditamos que a presença dessas amostras multirresistentes, particularmente na comunidade, mereça mais atenção.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

MA295

Evaluation of cytotoxicity, trypanocidal activity and immunomodulatory effect of lectin extracted from *Crataeva tapia* (CrataBL) encapsulated into liposomes

Campos Luís A. A.¹, Silva Carlos E. S.², Paiva Patrícia M. G.², Correia Maria T. S.², Cristovão-Silva Ana C.³, Brelaz-de-Castro Maria C. A.³, Pereira Valéria R. A.³, Cavalcanti Isabella M. F.¹, Santos-Magalhães Nereide S.¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽²⁾ Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Imunogenética, Fundação Oswaldo Cruz Pernambuco, Recife, BR.

Chagas disease (CD) is a tropical infection caused by the parasite *Trypanosoma cruzi*. This disease affects the world population and the drugs used for its treatment cause severe adverse effects. Besides the trypanocidal activity of drugs, the immunological responses have an important role to control CD. For these reasons, new molecules with trypanocidal and immunomodulatory potential are being researched. CrataBL has stood out due to its diverse biological properties, however it can rapidly degrade in biological fluids. An approach to prevent this degradation is its encapsulation into nanocarriers, such as liposomes. Liposomes are vesicles formed by lipid bilayers that isolate internal aqueous compartments from the external environment. Thus, the present study aimed to evaluate the cytotoxicity, trypanocidal activity and immunomodulatory effect of CrataBL encapsulated into liposomes (CrataBL-Lipo). Liposomes were prepared by the freeze-thaw technique and characterized by measuring the particle size (\varnothing), polydispersity index (PDI), zeta potential (ZP), pH and encapsulation efficiency (EE%). The cytotoxicity assays of CrataBL and CrataBL-Lipo were performed on L929 fibroblast and J774A.1 macrophages cell lines to determine the cytotoxic concentration of 50% (CC_{50}). The trypanocidal activity of CrataBL and CrataBL-Lipo was evaluated using trypomastigotes forms of *Trypanosoma cruzi* and the results were expressed by inhibition concentration of 50% of parasite growth (IC_{50}). The selectivity index was also calculated (SI). Immunomodulation effect was evaluated in J774A.1 macrophages and cytokines were quantified using the CBA Th1/Th2/Th17 mouse kit. The liposomes presented \varnothing of 101.9 ± 1.3 nm, PDI of 0.245, ZP of $+33.8 \pm 1.3$ mV, pH 7.41 and EE% was $80 \pm 0.84\%$. CrataBL showed cytotoxicity ($CC_{50} = 56.8$ $\mu\text{g/ml}$) only for L929 fibroblast cell line, whereas CrataBL-Lipo did not exhibit cytotoxicity in L929 fibroblast and J774A.1 macrophage cell lines ($CC_{50} > 100$ $\mu\text{g/ml}$). CrataBL exhibit no trypanocidal activity, while CrataBL-Lipo presented IC_{50} of 1.1 $\mu\text{g/ml}$ and $SI > 90.9$. CrataBL-Lipo revealed immunomodulatory effect with reduction of IL-10 and TNF- α synthesis. CrataBL encapsulated into liposomes has a therapeutic potential for the treatment of Chagas disease exhibiting high degree of selectivity for the parasite, as well as immunomodulatory properties.

Foundation for Science and Technology Support of Pernambuco (FACEPE) and National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

MA296

Outer membrane proteins of *Leptospira* that may contribute to adhesion, invasion, and immune evasion

Cardenas-Arias Adriana R^{1,2}, Sonobe Martha H¹, Iwai Leo K³, Barbosa Angela S¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Bacteriologia, Instituto Butantan, São Paulo, BR. ⁽²⁾ Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, BR. ⁽³⁾ Laboratório Especial de Toxinologia Aplicada (LETA), CeTICS Centro de Toxinas, Resposta-Imune e Sinalização Celular, São Paulo, BR.

Background: Leptospirosis, a neglected disease with an estimate incidence of over a million severe cases and 60,000 deaths per year, is caused by pathogenic species of the spirochete *Leptospira*. In order to cause infection, leptospires need to adhere to eukaryotic cells and extracellular matrix proteins, escape the mechanisms of innate host's defenses, survive and multiply in the host. Attachment to host cells and evasion from immune responses are mediated by adhesins and evasins present on the surface of the bacteria. These proteins play an important role in host colonization. In this project, we aim to identify surface proteins of *Leptospira* that are able to adhere to host's molecules and interact with complement regulators. **Methods:** *Leptospira* outer membrane proteins, obtained by sarkosyl extraction, were incubated with fibronectin, fibrinogen, laminin, vitronectin and Factor H pre-immobilized on magnetic beads. Bound ligands were analyzed by LTQ Orbitrap Velos Mass Spectrometer (Thermo Scientific) and identified using the Mascot engine version 2.4.0 (Matrix Science, London, UK) with Uniprot *Leptospira interrogans* database. Selection of proteins of interest was performed. Five genes were chosen for cloning and proteins were expressed in *Escherichia coli*, and purified. **Results:** Among the proteins identified, some of them have been already described as potential leptospiral adhesins, such as LipL32, OmpL1, OmpA family protein and Elongation Factor Tu. In addition, a number of unknown proteins was also identified and might be considered as promising candidates for further analysis. Five novel proteins were produced in recombinant form. Further, functional assays are being performed to better characterize the interactions observed. **Conclusion:** It is believed that this approach will bring a wider knowledge about the ligands of *Leptospira* involved in the interactions with host molecules. Given the need to develop preventive strategies that can interfere with the invasion of this bacterium, the identification and characterization of proteins that may be involved in these processes is of fundamental importance.

Supported by CAPES and FAPESP.

MA297

Atividade antifúngica *in vitro* e *in vivo* de óleos essenciais e nanopartículas de óleos essenciais contra *Trichophyton interdigitale*

Carmo Paulo Henrique Fonseca Do¹, Lage Anna Carolina Pinheiro², Aguilar Jorge Luis López², Ladeira Luiz Orlando², Santos Daniel De Assis¹, Resende-Stoianoff Maria Aparecida¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽²⁾ Departamento de Física, ICEX, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR.

As dermatofitoses estão entre as infecções fúngicas mais comuns em homens e animais, sendo *Trichophyton interdigitale* um dos principais agentes de dermatofitose no mundo. Embora existam drogas antifúngicas disponíveis para o tratamento das dermatofitoses, problemas relacionados à toxicidade e ao desenvolvimento de resistência são comuns. Nesse cenário, a busca por novos compostos para o tratamento de doenças infecciosas é importante. Entre os potenciais alvos para a prospecção de novos compostos antifúngicos estão as plantas e seus derivados. Além disso, os nanomateriais, principalmente as nanopartículas de ouro desempenham um papel importante no desenvolvimento de novas substâncias contra vários fungos patogênicos. Essas nanopartículas, devido ao seu tamanho menor, podem ser muito eficazes, pois podem melhorar a atividade antifúngica de muitos compostos. No intuito de avaliar a atividade antifúngica de dois óleos essenciais (OE1 e OE2) em formulação comercial e em nanoformulação *in vitro* e *in vivo*, a síntese de nanopartículas de ouro (AuNPs) a partir destes compostos foi realizada. *In vitro*, a atividade antifúngica dos óleos essenciais na formulação comercial e formulados com nanopartículas de ouro foi testada contra *T. interdigitale* ATCC 9533 usando o ensaio de concentração inibitória mínima (CIM), segundo a técnica do CLSI. *In vivo*, estes compostos, em ambas as formulações, foram testados em modelo murino de dermatofitose causada por *T. interdigitale* ATCC 9533. A CIM desses compostos na formulação comercial foi de 0,06 (%v/v) para o OE1, 0,25 (%v/v) para o OE2. Na nanoformulação, a CIM foi de 1,36 (%v/v) para o OE1, 5,44 (%v/v) para o OE2 e 0,25 µg/mL para o antifúngico cetoconazol. Em modelo murino de dermatofitose, os óleos essenciais reduziram a carga fúngica em ambas as formulações a níveis equivalentes ou inferiores ao antifúngico cetoconazol, indicando um potencial promissor no uso destes compostos para o tratamento de dermatofitose causada por *T. interdigitale* ATCC 9533.

CNPq, CAPES, FAPEMIG.

MA298

Investigação dos genes toxigênicos em *Staphylococcus aureus* Meticilina Sensíveis e Meticilina Resistentes isolados de amostras clínicas

Carneiro Luiza M¹, **Figueiredo Mariana A**², Carvalho Barbara M², Da Silva Carolina M², Luz Ana Carolina O³, Leal-Babino Tereza C³. ⁽¹⁾ Microbiologia, BIOMEDICINA, UNIFBV WYDEN, Recife, BR. ⁽²⁾ Microbiologia, Oswaldo Cruz Foundation, Aggeu Magalhães Research Center, CPqAM/Fiocruz, UNIFBV WYDEN, Recife, BR. ⁽³⁾ Microbiologia, Oswaldo Cruz Foundation, Aggeu Magalhães Research Center, CPqAM/Fiocruz, Recife, BR.

Staphylococcus aureus é o patógeno humano de maior importância entre os estafilococos por causar infecções severas, de origem comunitária e hospitalar. A severidade das infecções varia desde infecções de pele a necrose pulmonar fatal e septicemia. *S. aureus* assume relevância para a saúde pública, pois pode produzir exotoxinas, sendo frequentemente envolvido em quadros de diarreia associada ou não ao uso de antibióticos, gastroenterites, colites e intoxicações alimentares, por produzir enterotoxinas (SEs), além de poder causar doenças mais graves. No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde, mais de 70% das bactérias que causam infecções hospitalares são resistentes a, pelo menos, um dos antimicrobianos frequentemente utilizados. A aquisição do gene *mecA* pelo *S. aureus* pode conferir à bactéria resistência ao antibiótico meticilina e a todos os antibióticos β -lactâmicos. No presente estudo, foi realizada uma caracterização molecular em 89 isolados clínicos de *S. aureus* oriundos de hospitais públicos da cidade do Recife/PE, para melhor compreender os fatores de patogenicidade e a diversidade desses isolados, assim como a sua relação com as infecções nosocomiais. Foi realizada a pesquisa de quatorze genes de enterotoxinas (SE's), genes das toxinas ETA-B (Síndrome da Pele Escaldada) e TSST-1 (Síndrome do Choque Tóxico) em 31 isolados MRSA e 58 MSSA, assim como análise do Cassete Cromossômico Estafilocócico *mec* (SCC*mec*). Nas reações de PCR, o gene mais frequentemente observado foi *seg*, presente em 88/89 (99%) isolados, seguido por *sem* 81/89 (91%), *seo* 80/89 (90%), *sen* 78/89 (88%) e *sei* 74/89 (83%), todos integrantes do cluster gênico de enterotoxinas (*egc*). Foram observados 25 genótipos distintos quando comparamos a presença do cluster *egc* completo em 63 (71%) isolados com todas as exotoxinas analisadas. O gene *tst* foi encontrado em seis isolados (cinco MSSA e um MRSA) e o gene *eta* em apenas um isolado MSSA. Neste estudo foi observada uma elevada frequência de *S. aureus* portadores de genes toxigênicos, isolados de amostras clínicas diversas, provenientes de pacientes admitidos nos diferentes setores dos hospitais estudados e relacionados a diversos clones epidêmicos, representando potencial risco para a saúde pública, pois estes podem ser responsáveis doenças graves no ambiente hospitalar.

MA299

Correlation between phylogenetic groups and virulence factors of *Escherichia coli* isolated from blood of patients from a University Hospital, Brazil

Ana Paula Daga¹, Alexandre Casonatto¹, Koga Vanessa Lumi¹, Gomes Magalhães Gerusa Luciana¹, Candido Evelyn Poliana¹, Eduardo Cavalcante¹, Moraes Luana Soares¹, Luz Talita Caroline¹, Danelli Tiago¹, Material Soncini João Gabriel¹, Silva Julia Pimenta¹, Perugini Luis Feliepe¹, Perugini Marcia Regina Ech¹, Marsileni Pelisson¹, Pelayo Jacinta Sanchez¹, Takayama Kobayashi Renata Katsuko¹, Vespero Eliana Carolina¹. ⁽¹⁾ Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, BR.

Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) is frequently cause of bacteremia and sepsis. ExPEC has several virulence factors (VFs) that may play a role infection by enabling the bacterial cells to move into the host and disseminate. The main aim of this study was to determine virulence characteristics of *E. coli* isolates from hemocultures of patients hospitalized at the University Hospital of Londrina. Genetic profiling of the 48 *E. coli* isolates involved determination of phylogenetic group (A, B1, B2, D, E F), identification of 20 VFs and 7 phatogenecity islands (PAI) markers by Polymerase Chain Reaction (PCR). The data were statistically analysed using SPSS version 20.0 and the chi-square test was applied to compare categorical variables. The *E. coli* isolates from blood belonged mainly to phylogenetic groups B2 (45.8%), followed by B1 (18.8%), E (14.6%), F (6.3%), A (4.2%), D (2.1%) and not grouped (8.2%). The virulence factors detected included adhesins (*papC* 35.4%, *afa* 10.4%, *sfaS* 6.3%, *sfaA* 4.2%), iron acquisition systems (*fyuA* 70.8%, *iutA* 64.3%, *iron* 37.5%), protectins and invasins (*traT* 77.1%, *kpsMT II* 45.8%, *cva* 31.3%, *iss* 20.8%, *kpsMT K5* 20.8%, *ompT* 20.8%, *kpsMT K1* 8.3%, *ibeA* 4.2%), toxins (*hlyF* 20.8%, *hlyA* 14.6%, *cnf1* 12.5%) and PAI markers (PAI IV536 77.1%, PAI ICFT073 52.1%, PAI IICFT073 27.1%, PAI I536 12.5%, PAI IJ96 10.4%, PAI II536 6.3%). No isolates containing the following genes were found, *papC*, *cnf2* and PAI IJ96. The phylogenetic group B2 had the highest frequency with regard to both VF and PAI markers compared to other phylogenetic groups, all of the studied genes, except the *papG*, *cnf2* and PAI IJ96, were present of isolates from the B2 group. In this study, a significant association was found between B2 group and the presence of the *papC* ($p=0.004$), *fyuA* ($p<0.001$) and *kpsMT II* ($p<0.001$). The high frequency of the B2 group was statistically significant in PAI I536 ($p=0.011$), PAI ICFT073 ($p<0.001$) and PAI IICFT073 ($p=0.011$). In conclusion, the phylogenetic group B2 corresponded most with virulence in *E. coli* isolates from blood. These findings indicate the ability of certain strains to carry virulence genes and PAI markers.

We thank the development agencies Fundação Araucária, Fundação CAPES and CNPq for their support to research.



MA300

Efecto de la vacunación contra la infección oral por el virus del papiloma humano 16 en estudiantes de secundaria de la ciudad de Cali, Colombia

Andres Castillo¹, Osorio Julio Cesar², Bravo Luis Eduardo³. ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle, Cali, CO. ⁽²⁾ Postgrado de Ciencias Biomedicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, CO. ⁽³⁾ Registro Poblacional de Cancer de Cali, Departamento de Patología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, CO.

Introducción: En los últimos años, se ha reportado la asociación del Virus del papiloma humano (VPH) tipo 16 con conjunto de cánceres orofaríngeos por lo que la vacunación contra el VPH podría presentar protección a estos tipos de cánceres tanto en mujeres como a hombres. **Objetivo:** evaluar el efecto de la vacunación contra de la infección oral por el VPH-16 en estudiantes de secundaria de Colombia. **Métodos:** en total de 1.784 muestras de ADN extraídas de células orales y oro faríngeas fueron evaluadas para la presencia del VPH-16 mediante el uso de técnicas moleculares de PCR y secuenciación de ácidos nucleicos. **Resultados:** el VPH-16 fue identificado en un 0,53 % de las estudiantes mujeres vacunadas, en un 2,11 % de las mujeres no vacunadas, y en un 1,88 % de hombres no vacunados. Con relación a la razón de oportunidad (OR, siglas en ingles) de detección VPH-16 en estudiantes que habían recibido la vacuna *versus* no vacunados, se observó un OR igual a 0,28 con un Intervalo de confianza (IC) al 95% del 0,07 a 0,88, presentándose una reducción del 72 % de detectar VPH-16 en las vacunadas con dos dosis en comparación con los no vacunados. Al comparar la presencia de VPH-16 entre el grupo de hombres no vacunados con mujeres vacunadas como referencia, se observó un OR de 3,6 (IC al 95% = 1,21 - 12,81). Así, la razón de detectar el VPH-16 en estudiantes de secundaria es 3,6 veces mayor en hombres no vacunados que en mujeres vacunadas. El OR de detectar el VPH-16 se incrementó a 7,74 (IC al 95% = 1,53 - 75,09) cuando el grupo de hombres no vacunados había iniciado su vida sexual. **Conclusiones:** la aplicación de la vacuna contra el VPH disminuye de manera significativa la presencia del VPH-16 en la cavidad oral y orofaríngea en las estudiantes vacunadas. Igualmente, los hombres no vacunados que han iniciado una vida sexual, presentan un riesgo mucha mayor de presentar el VPH-16 en su cavidad oral y oro faríngea en comparación con las estudiantes vacunadas.

Dirección Fomento a la Investigación - Programa Salud, Colciencias por la financiación del proyecto, código: 1106-657-41213. CT-664-2014.

MA301

EcSe15-C2sp una nueva serin proteasa autotransportadora de *Enterobacteriaceae* (SPATE) clase-2 inmunosupresora

Sandra Ivanova Céspedes¹, Felipe Del Canto², Daniela Gutiérrez², Paula Bustamante², Waleska Saitz³, Gino Corsini¹, Paz Orellana¹. ⁽¹⁾ Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Programa de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Department of Pediatrics, School of Medicine, University of Virginia, Charlottesville, US.

Serin proteasas autotransportadoras de *Enterobacteriaceae* (SPATEs) constituyen un grupo de proteasas secretadas, cuya función es muy variada, así por ejemplo algunas participan en adhesión, proteólisis y lipólisis. Las SPATEs han sido divididas en dos clases, en base a su estructura y función, clase-1 y clase-2. Las de clase-1 son citotóxicas “in vitro”, producen daño en explantes de mucosa intestinal y degradan proteínas del citoesqueleto. La función de las SPATEs clase-2, como Tsh/Hbp, Vat y Pic, permanece siendo más enigmática, sin embargo algunas presentan actividad mucinasa y degradan proteínas O-glicosiladas de la superficie de leucocitos. El objeto de este trabajo fue dilucidar la función de una nueva SPATE de clase-2, EcSe15-C2sp, identificada por primera vez en una cepa comensal de *Escherichia coli* y posteriormente en la cepa de *E. coli* adherente invasiva (ECAI) 4C01, aislada de un paciente con enfermedad de Crohn. La detección del gen que codifica EcSe15-C2sp se realizó por PCR. A fin de evaluar su función, *ecSe15-C2sp* fue inactivado en ECAI 4C01 por reemplazo alélico. Para realizar ensayos de adhesión se infectó células Caco-2 y para los ensayos de sobrevivencia en macrófagos se infectó la línea RAW 264.7. El sobrenadante (SN) de cada pocillo fue colectado 1, 3 y 24 horas post-infección, para evaluar la presencia de citoquinas proinflamatorias. En SN de células Caco-2 se cuantificó IL-8, en SN de macrófagos se determinó TNF- α e IL-1 β . Se estudió la actividad proteolítica de EcSe15-C2sp sobre las glicoproteínas CD45 y la integrina O-glicosiladas $\alpha 4 \beta 7$. A diferencia de lo que esperábamos, se encontró que ECAI 4C01 mutada en *EcSE15-C2sp* (*4C01 Δ EcSE15-C2sp*) duplicó su adhesión a células Caco-2 y su replicación al interior de macrófagos murinos RAW 264.7, respecto de la cepa silvestre, aumento que fue significativo ($p < 0.05$), coincidiendo con un incremento significativo ($p < 0.05$) en la secreción de IL-1 β . La secreción de IL-8 y TNF- α fue mayor a las 24 h pero no significativamente diferente ($p > 0.05$). EcSe15-C2sp no degrada CD45 y la integrina O-glicosiladas $\alpha 4 \beta 7$. Conclusión: EcSE15-C2sp no contribuiría al fenotipo de adherencia ni supervivencia dentro de macrófagos en la cepa 4C01, pero actuaría como una proteína inmunosupresora.

FONDECYT 3140468 (SC), FONDECYT 1161161 (RV).

MA302

Infección por virus del papiloma humano y detección de anomalías citológicas anales en población mexicana VIH+

Laura Conde-Ferrández¹, Alberto Chan Mezeta², Guadalupe Ayora-Talavera¹, Gómez-Carballo Jesús G.¹, Marylín Puerto-Solís¹, González-Losa María Del R.³. ⁽¹⁾ Laboratorio de Virología, Centro de Investigaciones Regionales, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, MX. ⁽²⁾ Laboratorio de Virología, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, MX. ⁽³⁾ Laboratorio de Virología, Centro de Investigaciones Regionales “Dr Hideyo Noguchi”, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, MX.

El carcinoma de la región anorectal es resultado de una infección persistente por genotipos oncogénicos de VPH hasta en más del 90% de los casos, aunque su historia natural aún es ampliamente desconocida. La mayoría de los estudios disponibles se han enfocado en hombres que tienen sexo con hombres, sobre todo VIH+ y se les identifica como grupos en alto riesgo. En toda Latinoamérica las estadísticas y estudios respecto al cáncer anal son muy limitados, y no existen programas de tamizaje oficiales. Por tanto, este estudio tiene como objetivo generar el conocimiento y sumar evidencias que soporten la propuesta de su implementación. Se realizó un estudio transversal para determinar la frecuencia de VPH y genotipos que infectan el epitelio anal de pacientes VIH+ que viven en Yucatán, México, así como la presencia de anomalías citológicas asociadas. Se realizó PCR para la detección y genotipificación, de 14 tipos de alto riesgo oncogénico (VPH-AR) y 5 de bajo riesgo (VPH-BR). Se incluyeron 122 participantes VIH+ (105 hombres, 17 mujeres) de 18-72 años de edad (media 37.4), el 68% con estudios de técnicos a superiores. El 25% refirió historia de condilomas y sífilis, 21% gonorrea. La frecuencia de la infección en epitelio anal fue 60.6% (62% en hombres y 53% en mujeres), 70% de ellos con VPH-AR. Los genotipos más frecuentes fueron VPH-BR VPH6/11, seguidos de los VPH-AR: VPH33, VPH16 y VPH58, dos tercios fueron infecciones múltiples. Entre los VPH positivos, el 44% resultó con LEIBG por citología base líquida, el resto con inflamación inespecífica o sin alteraciones (33 y 22 % respectivamente). Alrededor del 80% de los casos de lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LIEBG) presentaron infección por uno o más VPH-AR. La citología convencional diagnosticó el 60% de las lesiones detectadas por base líquida, el 86% de estas laminillas se obtuvieron por autotoma y fueron preparadas por el paciente. La carga viral de VIH >50 copias/ml se asoció significativamente a la infección por VPH (OR=5.9, IC=1.49-33.8, p=0.0089). No se encontraron otras variables asociadas. En conclusión, se encontró VPH-AR frecuentemente, y la citología por autotoma puede representar un avance en el tamizaje oportuno de las neoplasias anales.

CONACYT-PDCPN-2015072.

MA303

***Actinomyces* spp. en cavidad oral de un grupo de niños chilenos con y sin experiencia de caries**

Andrea Antonella Cortes¹, Gonzalo Rodríguez², Carla Lozano¹, Blanca Urzúa¹, Irene Morales¹, Claudia Lefimil¹.

⁽¹⁾ Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas (ICOD), Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL.

⁽²⁾ Departamento de Odontología Restauradora, Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Introducción. *Actinomyces* spp. es un colonizador temprano de la cavidad oral, parte de la microbiota nativa. Estudios indican que contribuye a la formación de la biopelícula dental en salud. Por otra parte, se describe su incidencia en la progresión de lesiones de caries. En Chile no existen estudios sobre *Actinomyces* en cavidad oral y su relación con caries. El objetivo de este estudio fue analizar la presencia y diferenciación genotípica de *Actinomyces* spp. en saliva y caries cavitadas en un grupo de niños chilenos de 7 a 11 años, con y sin experiencia de caries. **Metodología.** Se reclutaron dos grupos de 10 niños con y sin caries. Se tomaron muestras de saliva y caries según corresponda, que fueron sembradas en placas de MTPY modificado para aislar *Actinomyces* spp. Se seleccionaron colonias al azar y se extrajo ADN genómico. Se amplificó por PCR el gen ARNr 16S, que fueron secuenciados por Macrogen USA y las especies bacterianas fueron determinadas mediante el programa BLAST y la base de datos de rRNA del NCBI. La asociación de muestras se realizó por Test de Fisher. Además, fueron analizadas genotípicamente mediante REP-PCR. Los productos de REP-PCR fueron separados en geles de agarosa y analizados utilizando los programas GelAnalyzer y TreeCon. **Resultados.** Se obtuvieron 101 aislados de *Actinomyces* spp. desde ambos grupos de niños. En saliva de ambos grupos se encontraron especies como *A. odontolyticus*, *A. oris* y *A. viscosus*. Además, en el grupo sin experiencia de caries se aisló *A. naeslundii*, *A. meyeri* y *A. graevenitzii*. La especie más abundante en sitios de caries fue *A. naeslundii*, con una asociación estadísticamente significativa ($p=0,0001$). *A. odontolyticus* se asoció a las muestras de saliva, independientemente del estado de salud oral del sujeto ($p=0,0001$). El análisis del REP-PCR arrojó una mayor variabilidad genética en las especies aisladas desde saliva de los niños sin caries. **Conclusiones.** *Actinomyces* spp. presentes en un grupo de niños chilenos de 7 a 11 años con experiencia de caries difieren de las presentes en niños sin experiencia de caries, existiendo mayor diversidad de especies y variabilidad genética en el grupo sin caries.

U-Inicia Difarp 40/13 VID, U. de Chile.

MA304

Phenotypic and genetic detection of biofilm production in *Staphylococcus* spp. multidrug resistance from cancer patients

Bezerra-Neto Armando M.¹, Costa-Júnior Sergio D.^{1,2}, Rabelo Marcelle A.¹, Lima Jailton L. C.¹, Perreira Jussyêgles N. P.¹, Araújo Paulo S. R.³, Leal Nilma C.⁴, Maciel Maria Amélia V.¹. ⁽¹⁾ Department of Tropical Medicine, Federal University of Pernambuco, Recife, BR. ⁽²⁾ Keizo Asami Immunopathology Laboratory, Federal University of Pernambuco, Recife, BR. ⁽³⁾ Department of Infectious-Parasitic Diseases - Clinical Hospital, Federal University of Pernambuco, Recife, BR. ⁽⁴⁾ Microbiology, Research Center Aggeu Magalhães / FIOCRUZ, Recife, BR.

Introduction: The occurrence of multidrug resistance in *Staphylococcus* spp. is one of the main causes of complications in cancer patients, may be aggravated by the production of biofilm. **Objective:** The objective of this study was to investigate the occurrence of isolates of *Staphylococcus* spp. with multidrug resistance and biofilm producers in cancer patients through phenotypic and molecular techniques. **Methods:** Clinical samples were collected from cancer patients and were re-identified. The antimicrobial susceptibility research of the clinical isolates was performed according to the *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Subsequently, the biofilm production was verified through the Congo Red Agar, biofilm production in polystyrene plate and the detection of *icaAD* gene was performed by polymerase chain reaction (PCR). **Results:** A total of 56 isolates from various clinical samples of cancer patients, 85.7% of *Staphylococcus aureus* and 14.3% of coagulase-negative staphylococci (CoNS) were analyzed. All isolates were submitted to the antimicrobial susceptibility test, and 19 isolates were submitted to the resistant multidrug profile, 15 *S. aureus* isolates and 4 isolates of coagulase-negative *Staphylococcus*. Regarding susceptibility to vancomycin, 18% of the isolates were grown on agar supplemented with 6 µg/mL vancomycin, 8 *S. aureus* and 2 CoNS. In the microdilution in broth with vancomycin, two isolates of *S. aureus* showed minimum inhibitory concentration (MIC) $\geq 16\mu\text{g/ml}$. In the results obtained with Red Congo Agar and biofilm production in polystyrene plate, 70% of the isolates were positive in both. 39.3% of the biofilm-producing isolates were carriers of the *icaAD* gene. Nine resistant multidrug isolates (seven *S. aureus* and two coagulase-negative staphylococci) were able to produce biofilm in the techniques used. Two isolates of *S. aureus* that had resistance to vancomycin also are carriers of the *icaAD* gene and producers of biofilm in both techniques used. **Conclusion:** The detection of isolates of *Staphylococcus* spp. who present multidrug resistance and vancomycin-resistant biofilm producers aggravate complications in health care in cancer patients and promote the implementation of stricter antiseptic conducts in the contact with this group of patients.

National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

MA305

Influência de concentrações sub-inibitórias de polimixina B na curva de crescimento e na formação de biofilme de amostras clínicas de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes a antimicrobianos

Costa Priscila Simão¹, Araújo Thamires Eliane¹, Ricardo Gonçalves², Junior Vandack Nobre³, Santos Simone Gonçalves¹.

⁽¹⁾ Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Universidade Federal de Minas Gerais, Contagem, BR.

⁽²⁾ Patologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR.

⁽³⁾ Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo, BR.

Nos últimos anos, *Acinetobacter baumannii* vem se destacando como um patógeno oportunista emergente em surtos nosocomiais, especialmente devido à sua resistência a múltiplos antimicrobianos (ATM), sendo a polimixina B (PoliB) a alternativa de escolha para o tratamento de infecções por essas linhagens. Sabe-se que a presença de quantidades residuais de ATM nos mais diversos *habitats* pode interferir na expressão de genes associados à patogenicidade bacteriana sob diversos aspectos. Nesse estudo avaliou-se a influência de concentrações subinibitórias (sub-CIM) de PoliB no crescimento planctônico e na formação de biofilme de *A. baumannii*. Foram selecionadas cinco amostras de *A. baumannii* (uma de referência ATCC 19606 e quatro clínicas). As curvas de crescimento foram realizadas em caldo Luria-Bertani, nas concentrações de 1 e 2 µg/mL de PoliB por 48h e a leitura do crescimento (DO) realizada em espectrofotômetro. A formação de biofilme foi avaliada em placas de poliestireno pelo método do cristal violeta nas mesmas concentrações de PoliB, incubadas a 25°C e 37°C por 24h e 48h e, a DO medida em espectrofotômetro. Os resultados evidenciaram que a sub-CIM de 1 µg/mL de PoliB não alterou a curva de crescimento de nenhuma das amostras estudadas. Entretanto, a sub-CIM de 2 µg/mL reduziu a DO em pelo menos 50% para todas elas. Em relação à formação de biofilme sem PoliB, quatro (ATCC, 5, 10 e 32) das cinco amostras foram fortemente aderentes a 25°C e 37°C por 24h, inclusive quando essas foram desafiadas com 1 µg/mL de PoliB. Já com 48h de incubação, duas das amostras (10 e 32) passaram para moderadamente aderentes. Quando desafiadas com 2 µg/mL, quatro das cinco amostras (ATCC, 5, 10 e 32) foram fracamente formadoras de biofilme a 25°C e moderadamente a 37°C nos tempos de 24 e 48 horas. Essa distinção na formação de biofilme poderia ser justificada pela diferença de temperatura ótima de crescimento das amostras, e/ou pela significativa redução no número de células planctônicas quando desafiadas com diferentes concentrações do ATM. Outros estudos são necessários para uma melhor compreensão dos fatores associados à sobrevivência e à patogenicidade nesse grupo microbiano.

Capes, CNPq, FAPEMIG.

MA306

Antiviral activity *in vitro* of Silymarin against Zika virus infection on Vero cells

Da Silva Tales F¹, Almeida Letícia T¹, Ferraz Ariane C¹, Caetano Camila C S¹, De Brito Magalhães Cintia L^{1,2}.

⁽¹⁾ Laboratório de Biologia e Tecnologia de Micro-organismos, Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, BR. ⁽²⁾ Departamento de Ciências Biológicas, Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, BR.

Background: Zika virus (ZIKAV) is an arbovirus belonging to the *Flaviviridae* family and *Flavivirus* genus. It causes the Zika fever and symptoms soreness, myalgia, headache and fever. Because these symptoms are similar to those of Dengue, they are often mistaken leading to underreporting. Infection by ZIKAV has also been related to many cases of microcephaly and Guillain-Barré syndrome in Brazil. Silymarin is a group of flavonoids extracted from milk thistle (*Silybum marianum*) well known for its antioxidant properties. Recent studies have shown that Silymarin also has antiviral activities against some viruses, among them the *Chikungunya virus*, *Hepatitis C virus* and *Influenza virus*, besides many studies of molecular docking showing possible antiviral activity against other virus, especially Dengue virus. ZIKAV has been considered as an emergent arbovirus in Brazil, where many cases of infection were detected. Thus, finding new alternatives for the treatment is highly necessary. **Methods:** We tested the cytotoxicity of the Silymarin and its antiviral activity against ZIKAV on Vero cells. For the cytotoxicity and global antiviral test, we cultivated Vero cells in 96 wells plate and added different concentrations of Silymarin and ZIKAV (moi 1), and then performed MTT assay. The antiviral test was also performed by qRT-PCR to evaluate the reduction of viral copy number. Later on we evaluated if Silymarin was able to inactivate the viral particle and inhibit viral adsorption and viral penetration. For this Silymarin was added on different steps of viral infection and, after 48h, the viral titer was determined by Plaque Forming Unit (PFU) assay. **Results:** Silymarin presented low toxicity on Vero cells in concentrations up to 100µg/mL. The antiviral activity of the Silymarin was better on the concentration of 100µg/mL ($p < 0.0001$) decreasing greatly in lower concentrations on MTT assay and qRT-PCR. Silymarin presented good virucide effect and inhibition of viral penetration reducing the number of PFU in 3 and 5 logs respectively and 1 log for adsorption inhibition. **Conclusion:** This study opens new perspectives for development of new treatments for viral infections. Future perspectives include testing if Silymarin is capable of inhibit other steps of the ZIKAV cycle.

Acknowledgments: Federal University of Ouro Preto and CAPES.

MA307

High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCCmec type II and oxacillin-susceptible *mecA*-positive *S. aureus* isolated from tracheal secretion and blood of hospitalized patients in a tertiary hospital of southern Brazil

Duarte Felipe Crepaldi¹, Danelli Tiago¹, Tavares Eliandro Reis², Daga Ana Paula¹, Casonatto Alexandre¹, Vespero Eliana Carolina¹, Yamauchi Lucy Megumi², Yamada-Ogatta Sueli Fumie², Perugini Marcia Regina Eches¹. ⁽¹⁾ Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, BR. ⁽²⁾ Departamento de Microbiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade estadual de Londrina, Londrina, BR.

Background: Methicillin/Oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a global cause of infection in both the community and hospital settings. The acquisition of *mecA* gene is the main mechanism of resistance to methicillin. Here we evaluated the phenotypic and molecular characteristics of *S. aureus* isolated from patients hospitalized at the University Hospital of Londrina, Paraná, Brazil, during the years 2016 and 2017. **Methods and Results:** A total of 68 *S. aureus* isolates from tracheal secretion ($n=50$) and bloodstream ($n=18$) were included in this study. The Sequence Type (ST) and Clonal Complex (CC) were determined by High Resolution Melting Analysis of Single Nucleotide Polymorphisms assay. CC5 accounted for 37 (54.4%) isolates, which exhibited ST63 (9 isolates), ST6 (6 isolates) STs 5, 835 (5 isolates each), ST99 (4 isolates), ST9 (3 isolates), ST27 (2 isolates) and STs 169, 192, 1307 (1 isolate each). The antimicrobial susceptibility profile was determined by disk-diffusion and all isolates were susceptible to rifampicin, linezolid and tigecycline. Fifty five (80.9%) out of 68 were resistant to oxacillin and were classified as MRSA. Resistance to penicillin, erythromycin, clindamycin, ciprofloxacin, moxifloxacin, gentamicin and sulfamethoxazole-trimethoprim was observed in 98.5% (67), 82.4% (56), 80.9% (55), 77.9% (53), 77.9% (53), 4.4% (3) and 1.5% (1) of the isolates, respectively. The mechanism of methicillin-resistance was mediated by the *mecA* gene for most of MRSAs (53/55, 96.4%) that harbored SCCmec type I (8 isolates, 15.1%), type II (35 isolates, 66.0%), type III (1 isolate, 1.9%), type IV (8 isolates, 15.1%), and 1 was *non*-typable. Of note, 13 (19.1%) isolates phenotypically identified as oxacillin-susceptible harbored the *mecA* gene, which are known as OS-MRSA (oxacillin-susceptible MRSA). Seven STs and 7 CCs were identified among OS-MRSA and were as following: ST1/CC1 (1 isolate), ST14/CC15 (1 isolate), ST72/CC8 (3 isolates), ST101/CC101 (1 isolate), ST657/CC657 (5 isolates), ST835/CC5 (1 isolate) and ST1073/CC1073 (1 isolate). **Conclusions:** This study reports the prevalence of MRSA SCCmec type II exhibiting different STs, most of them belonging to CC5. Besides, the detection of OS-MRSA poses a therapeutic threat as it can be misidentified as an oxacillin-susceptible bacterium by phenotypic methods routinely used in most clinical microbiology laboratories.

We thank the development agencies Fundação Araucária, Fundação CAPES and CNPq for their support to research.

MA308

Infecção do trato urinário em pacientes ambulatoriais: prevalência e perfil de sensibilidade

Carlos Eduardo Mendes D'Angelis¹, Túlio Antunes Moreira¹, Geraldo Edson Souza Guerra Júnior², Luçandra Ramos Espírito Santo³, Karina Andrade Prince². ⁽¹⁾ Fisiopatologia, Medicina, Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, BR. ⁽²⁾ Medicina, Faculdades Integradas Pitágoras de Montes Claros, Montes Claros, BR. ⁽³⁾ Saúde Mental e Coletiva, Medicina, Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, BR.

Introdução: Infecção do trato urinário (ITU) é a segunda infecção mais comumente encontrada na população, gerando elevados custos nos cuidados de saúde. A ITU ocorre desde o recém-nascido ao idoso, sendo cada vez mais comum o isolamento de cepas resistentes em pacientes não internados. **Objetivo:** Este estudo teve como objetivo realizar um levantamento sobre os principais agentes da UTI e avaliar a resistência desses micro-organismos, no período de março de 2017 a janeiro de 2018, no Laboratório de Análises Clínicas de uma Clínica Escola da Cidade de Montes Claros/MG. **Metodologia:** Foi realizado um estudo transversal retrospectivo, baseado nos arquivos do setor de microbiologia do Laboratório de Análises Clínicas do Núcleo de Atenção à Saúde e Práticas Profissionalizantes (NASPP). Coletou-se dados de frequência de uropatógenos e seus perfis de sensibilidade avaliados pelo método de disco-difusão. Todas as uroculturas foram analisadas sem limite de idade e procedentes da demanda ambulatorial. Este estudo foi enviado para apreciação, aprovação e parecer de execução pelo Comitê de Ética em Pesquisa, sendo assentida (protocolo nº 2.007.972/2017). **Resultados:** Foram avaliadas 153 culturas de urina, das quais 38 (24,8%) eram positivas, com predomínio do sexo feminino (94,7%) e com idade entre 41 e 64 anos (44,7%). O micro-organismo isolado mais frequente foi *E. coli* (68,4%), seguido por *Enterobacter* (13,16%) e *Staphylococcus sp* (7,89%). Identificou-se alta taxa de resistência de *E. coli* a alguns antibióticos de escolha para o tratamento da ITU, como tetraciclina (54,54%), ácido nalidíxico (52,17%), cefalexina (50%), ampicilina (45,45%), sulfazotrin (42,1%) e ciprofloxacina (31,8%). O antibiótico que apresentou o maior índice de resistência, tanto para *E. coli*, quanto para os demais micro-organismos, foi a ampicilina e tetraciclina. **Conclusão:** Esses dados demonstram a necessidade de conhecer a realidade de cada região, contribuindo para a escolha antibiótica empírica segura e eficaz, quando não é possível realizar cultura e teste de susceptibilidade antimicrobiana, além de diminuir a morbimortalidade, os custos e o desenvolvimento de multirresistência bacteriana.



MA309

Antimicrobial activity of a compound derived from *Cinnamomum cassia* against clinical isolates of *Serratia marcescens*

Pereira Eduardo Willian A¹, Rocha Flaviane Maria G¹, Mendonça Aline Michelle S¹, Santos Julliana A. R², Pires Layna Kaanda S¹, Rocha Carlos Henrique L¹, Monteiro Cristina A¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia Aplicada, Universidade Ceuma, São Luís, Brasil. ⁽²⁾ Laboratório de Microbiologia Ambiental, Universidade Ceuma, São Luís, Brasil.

The antimicrobial properties of plant-derived products have been widely used in testing against various pathogens. Cinnamaldehyde is an example, a predominant active compound found in cinnamon oil (*Cinnamomum cassia*). We demonstrated that cinnamaldehyde was able to inhibit *in vitro* the growth of five clinical isolates of *Serratia marcescens*. All assays were performed using strains from the bacterial culture collection of the Clinical Microbiology Laboratory of the CEUMA University. A standard inoculum ($\sim 1.5 \times 10^8$ cells/mL) was prepared suspended in saline solution to perform the tests, following recommendations of the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), 2017. Initially, a screening through the agar diffusion test was performed to evaluate the sensitivity of the isolates to cinnamaldehyde followed by the microdilution assay to determine the minimum inhibitory concentration (MIC). Inhibition growth zones ranging from 12-15 mm were observed for all *S. marcescens* cultures when cultured in the presence of cinnamaldehyde (20 $\mu\text{g/mL}$) and for ciproflaxacin (5 $\mu\text{g/mL}$) used as positive control, were observed inhibition growth zone ranging from 4-8 mm. Cinnamaldehyde showed 100% inhibitory activity (MIC100) ranging from 250 to 500 $\mu\text{g/mL}$, whereas ciproflaxacin showed no MIC100 or MIC50. Cinnamaldehyde presents a promising approach of great interest for the treatment of infections caused by *S. marcescens*. Cytotoxicity assays and *in vivo* evaluations need to be performed to confirm the promising antimicrobial activity of this substance.

Universidade CEUMA.

MA310

Ação de derivado de tiossemicarbazonas frente às leveduras do complexo *Candida parapsilosis*

De Carvalho Barbara Mota³, Da Silva Carolina Maria¹, Carneiro Luiza Macedo³, Cabral Milena Gomes³, Neves Rejane Pereira¹, Oliveira Lima Julia Moraes³, Figueiredo Mariana Andrade², Milet Santos Rafael Zamys³. ⁽¹⁾ Departamento de Micologia, Laboratório de Micologia Médica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽²⁾ Departamento de Microbiologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, CPqAM Fiocruz, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽³⁾ Departamento de Microbiologia, Biomedicina, UNIFBV WYDEN, Recife, BR.

Introdução: Espécies do complexo *Candida parapsilosis* têm sido relatadas como importante causa de infecções hematogênicas, particularmente em neonatos e pacientes imunocomprometidos. Associada a emergência de casos de candidemia pelo complexo *C. parapsilosis* tem sido observada a ocorrência de baixa sensibilidade aos fármacos utilizados tradicionalmente na terapia, o que acarreta em aumento nos índices de mortalidade, apesar de já haver disponíveis no mercado agentes antifúngicos mais ativos e menos tóxicos. Neste contexto, a resistência antifúngica é uma ameaça crescente, conduzindo as falhas terapêuticas e piores prognósticos. Visando a obtenção de opções de tratamento efetivas e com toxicidade reduzida, substâncias sintéticas têm sido investigadas, entre elas derivados tiossemicarbazônicos, os quais são geralmente obtidos pela reação de condensação quimiosseletiva de tiossemicarbazidas com aldeídos e/ou cetonas. Diante do exposto, esta pesquisa teve como objetivo verificar a atividade antifúngica *in vitro* de nova formulação derivado da tiossemicarbazonas frente aos isolados clínicos do complexo *C. parapsilosis*. **Métodos:** O fluconazol foi utilizado como antifúngico padrão e os testes de sensibilidade antifúngica *in vitro* foram realizados de acordo com o protocolo descrito nos documentos M27-A3 e M27-S4 do *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Dentre os derivados de 2 (5-nitro-tiofeno) – tiossemicarbazonas foi selecionado o L-9, pois o mesmo demonstrou uma maior ação frente a fungos filamentosos demonstrado em experimento anterior, sendo testado na faixa de concentração 2 a 1024 µg/mL e o fluconazol na faixa de 0,125 a 64 µg/mL. **Resultados:** Foram avaliadas 16 leveduras do Complexo *C. parapsilosis*, sendo verificada sensibilidade ao fluconazol com faixa de concentração inibitória mínima (CIM) de 0,125-4 µg/ml. Já as concentrações do derivado L-9 capazes de inibir o crescimento foram de 4 a 16 µg/ mL, confirmando a ação antifúngica deste composto frente as leveduras avaliadas. **Conclusão:** Diante dos resultados obtidos é possível inferir que estudos com novos compostos bioativos, são necessários para determinar novas estratégias terapêuticas promissoras para o tratamento de infecções fúngicas invasivas, sobretudo por espécies do Complexo *C. parapsilosis*, que constituem importante agente etiológico de candidemia.



MA311

Molecular detection of yellow fever during epidemic in Brazil

Katharyna Gois^{1,2}, Fernando Fonseca³, Beatriz Alves³, Jorge Pinto⁴, Alípio Carmo⁴, Sandra Nunes⁵, Flávia Gehrke^{2,3,4}.

⁽¹⁾ Biomedicina, Chácara Santo Antônio, Paulista University, São Paulo, BR. ⁽²⁾ Health Sciences, Institute of Medical Assistance to the State Public Servant, São Paulo, BR. ⁽³⁾ Clinical Analysis, ABC Medical School, Santo André, BR.

⁽⁴⁾ Farmácia, Tatuapé, Paulista University, São Paulo, BR. ⁽⁵⁾ Biomedicina, Tatuapé, Paulista University, São Paulo, BR.

Introduction: Yellow fever virus (YFV) is an arbovirus belonging to the family Flaviviridae. The YFV has two cycles: the wild and the urban. The clinical manifestation may be nonspecific with symptoms such as fever, headache, myalgia; or the patient may present with a high fever, epigastric pain, involvement of the liver with hemorrhagic manifestations and icterus. Brazil has become epidemic for YFV due to the expansion of the circulation area of the vectors. Between July 2017 and February 2018, 545 cases were confirmed, of which 164 died. **Objective:** Molecular detection of YFV in patients with Yellow Fever. **Material and Methods:** A study was carried out with 187 samples from patients with clinical suspicion of Yellow Fever from the ABC region. From each patient 5 mL of peripheral blood were collected. The indirect immunofluorescence (IFI) test was performed to investigate IgG and IgM. Viral RNA was isolated from the patient's serum using the QIAamp[®] Viral RNA kit. The complementary DNA synthesis was performed from 1µg of viral RNA using the QuantiTect[®] Reverse Transcription kit. The quantitative Real Time-PCR was performed with the aid of the specific YFV primers and the endogenous RPL18 gene. The amplification reactions were performed on an ABI 7500 thermal cycler. **Results:** In the IFI test for YF 3/187 (2%) samples were IgG positive and 28/187 (15%) IgM positive. In the qRT-PCR test 7/187 (4%) patients had detection of viral genetic material, of these two came to death and one case of a newly vaccinated patient. **Conclusion:** YFV genetic material was detected in seven samples. For the patient a rapid diagnosis is important for proper clinical management in order to reduce the number of fatal cases. Anamnesis and patient health surveillance data are important to compose the patients diagnosis in addition to complementary tests, and molecular biology is the most recommended because it quickly detects the presence of the virus in the patients samples, giving a certainty diagnosis.

FAPESP – Projeto número 2016/14457-0.

MA312

Interacción de la nicotina y *Mycobacterium tuberculosis*

De Haro Acosta Jeny Patricia¹, Bruno Rivas Santiago², Eva Salinas Miralles¹, Alberto Trejo Martinez², Valdez Miramontes Claudia Elisa², Adrian Rodriguez Carlos², Ruiz De Avila Joselyn Lizeth², Marin Luevano Sara Paulina², Marin Luevano Sara Paulina², Marin Luevano Sara Paulina², Torres Juarez Flor De María², Santos Mena Alan Orlando². ⁽¹⁾ Centro de Ciencias Básicas, Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes, MX. ⁽²⁾ Unidad de Investigación Biomedica Zacatecas, Laboratorio de Inmunomodulación, Instituto Mexicano del Seguro Social, Zacatecas, MX.

Introducción: El tabaquismo es una adicción que causa millones de muertes. Tiene comorbilidad con enfermedades infecciosas microbianas como la tuberculosis. Los componentes del humo del cigarro son alrededor de 4000, uno de los más estudiados es la nicotina. La tuberculosis es causada por el agente *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Se sabe que la nicotina genera cambios en la respuesta inmune dando lugar a una respuesta pro-inflamatoria, pero se sabe poco de lo que pasa durante el proceso de infección. Desde el punto de vista del agente infeccioso la respuesta se encuentra poco estudiada, sobre todo cuando el huésped está en contacto con la nicotina. **Objetivo:** Determinar el efecto de interacción de la nicotina y *Mycobacterium tuberculosis*. **Metodología:** Se cultivó la cepa de Mtb H37Rv con diferentes concentraciones de nicotina y de extracto de cigarro. Al día 29 de cada repetición se realizaron unidades formadoras de colonias. Neumocitos tipo II humanos (A549) se infectaron con la cepa de Mtb previamente teñida, posteriormente las células infectadas se estimularon con nicotina. Después de 1 hora se estimuló, se fijaron, permeabilizaron y bloquearon. Se colocó el anticuerpo anti-nicotina hecho en ratón, seguido de una incubación con el anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con Alexa 532. Finalmente se incubó con DRAQ7. Las imágenes se adquirieron en el microscopio confocal DM 2500 de Leica en el software LASX, a 1000x. **Resultados:** La nicotina entra y se distribuye de manera uniforme en el citoplasma de las células, en las infectadas con Mtb se obtuvo una colocalización entre la nicotina y las micobacterias. Se propone que, gracias a la naturaleza lipófila, la nicotina atraviesa la membrana celular e interacciona físicamente con las micobacterias fagocitadas. También se demostró que la interacción entre la nicotina y la Mtb promueve el crecimiento alargando su fase de crecimiento exponencial. Es probable que la micobacteria tenga un receptor que reconoce a la nicotina y genera una respuesta. **Conclusión:** La interacción física entre la nicotina y Mtb en células infectadas se demostró mediante la colocalización por la microscopia confocal. La bacteria incrementa su crecimiento al interactuar con la nicotina.

FIS/IMSS, CONACYT.

MA313

Investigation of β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* isolates from Intensive Care Units in the Midwest of Brazil

Espínola Camila N.¹, Rodrigues Ana Claudia S.¹, Campos Caroline C.², Rezende Isadora N.², Roriz Nathalia F.³, Dario Corrêa Junior¹, Fragoso Mariana R.², Chang Marilene R.². ⁽¹⁾ Faculty of Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, BR. ⁽²⁾ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Food and Nutrition, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, BR. ⁽³⁾ University Hospital Maria Aparecida Pedrossian, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, BR.

Background: Infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria represent a serious challenge in the hospital environment due to the lack of therapeutic options and consequent high rates of morbidity and mortality. The resistance to β -lactam antibiotics in *Klebsiella pneumoniae* has been associated mainly to the expression of β -lactamases such as cephalosporinases, extended-spectrum β -lactamases (ESBL) and carbapenemases. The aim of this study was to investigate the production of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) and ESBL in *K. pneumoniae* and determine their susceptibility to antimicrobials. **Methods:** A total of 53 *K. pneumoniae* isolated from 2013 to 2014 in Intensive Care Units of two tertiary public hospitals in Midwest Brazil were studied. The identification was made by the VITEK-2 compact system and the antimicrobial susceptibility by the disk diffusion technique. Phenotypic detection of carbapenemase was evaluated by the Modified Hodge Test (MHT) and the presence of the *bla*KPC gene was confirmed by Simple Polymerase Chain Reaction (PCR). ESBL production was determined by the combined disk methodology. **Results:** *K. pneumoniae* was most frequently isolated from urine (43.4%), tracheal aspirates (26.4%) and blood samples (18.9%). The MHT was positive in 49 (92.4%) samples, and the *bla*KPC gene was detected in 48 (90.6%) of them. Fifty-two (98.1%) exhibited non-susceptibility to at least one agent in three or more antimicrobial categories and were considered multidrug-resistant. Resistance greater than 70% was observed against cephalosporins, carbapenems, piperacillin/tazobactam, ciprofloxacin and aztreonam. The ESBL testing demonstrated positive results in 20 (37.7%) of the *K. pneumoniae* isolates. **Conclusion:** The results demonstrate a high rate of resistance against antimicrobials in *K. pneumoniae*. There is a good correlation between MHT and PCR in the detection of KPC. The *bla*KPC gene is widely distributed in the studied hospitals and is probably one of the main mediators of carbapenem resistance in the Midwest region of Brazil.

Financially supported by the Foundation to Support the Development of Education, Science and Technology of the state of Mato Grosso do Sul (FUNDECT) and the Federal University of Mato Grosso do Sul (UFMS).

MA314

Anticuerpos séricos específicos y evaluación de su efecto bactericida contra *Salmonella* enterica serotipo Typhimurium, *Escherichia coli* enteropatógena atípica y *Escherichia coli* enteroagregativa en individuos pertenecientes a una zona endémica de Yucatán, México

Teresa Estrada-García¹, Jocelyn Hernández-Arreguín¹, Catalina Lopez-Saucedo¹, Mussaret B Zaidi^{2,3}. ⁽¹⁾ Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados- IPN (CINVESTAV-IPN), Ciudad de México, MX.

⁽²⁾ Departamento de Emergencias Pediátricas y Laboratorio de Investigación en Microbiología, Hospital General O'Horán, Unidad de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Mérida, Yucatán, MX. ⁽³⁾ Departamento de Epidemiología y Bioestadística, Michigan State University, Michigan, US.

Estudios epidemiológicos demuestran que *Salmonella*, *Escherichia coli* enteropatógena atípica (EPECa) y *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC), son los principales agentes etiológicos bacterianos asociados a diarrea en el estado de Yucatán (localizado en el sureste de México), en donde las infecciones intestinales son la segunda causa de morbilidad en niños menores de cinco años. Debido al riesgo que estos microorganismos representan para la población, es importante determinar si los sujetos en zonas endémicas producen anticuerpos contra estos microorganismos y si estos anticuerpos pudieran ser protectores. Por lo tanto nuestro objetivo fue determinar los títulos y el efecto bactericida de los anticuerpos específicos IgM e IgG contra *S. Typhimurium*, EPECa y EAEC en el suero de diez individuos pertenecientes a la comunidad de Buctzotz (ubicada a 89km de la ciudad de Mérida, Yucatán), que no habían presentado diarrea al menos en las últimas dos semanas. Los anticuerpos específicos se determinaron por ensayos de ELISA y la capacidad protectora de estos anticuerpos se determinó con el ensayo de actividad bactericida del suero dependiente de anticuerpos mediada por complemento. El intervalo de edad de los sujetos analizados fue de 38-77 años, con un promedio de 57 años y una mediana de 53.5 años. Todos los individuos presentaron títulos de IgM específicos contra *S. Typhimurium* (1:80-1:640), EPECa (1:320-1:1280) y EAEC (1:160-1:1280) significativamente menores ($p < 0.001$) que los títulos de IgG específicos (1:4000-1:32000 para *S. Typhimurium*, 1:8000-1:64000 para EPECa y EAEC). Los diez sueros analizados mostraron tener efecto bactericida contra las tres bacterias evaluadas. Al realizar el análisis de los títulos de anticuerpos bactericidas por individuo se observaron títulos similares contra EPECa y EAEC en 4 individuos y en otro individuo títulos de anticuerpos bactericidas muy diferentes para EPECa (1:12800) y EAEC (1:2000). En otro individuo se observaron títulos bactericidas de 1:4000 contra *S. Typhimurium* y EPECa; mientras que otro más tuvo títulos de anticuerpos bactericidas de 1:4000 contra *S. Typhimurium* y EAEC. Los individuos pertenecientes a la comunidad de Buctzotz, Yucatán se encuentran permanentemente en contacto con *S. Typhimurium*, EPECa y EAEC; lo que pudiera estar induciendo un estado de protección contra estas tres bacterias.

MA315

Caracterización fenotípica de Enterobacterias resistentes a carbapenémicos en el Valle del Cauca, Colombia

Aura Falco¹, Sandra Rivera^{2,1}, Carlos Aranaga¹, Olaya María Beatriz². ⁽¹⁾ Ciencias Naturales, Exactas y Estadística, Ciencias Básicas, Universidad Santiago de Cali, Cali, CO. ⁽²⁾ Laboratorio de Salud Pública Departamental del Valle del Cauca, Cali, CO.

Los carbapenémicos son antibióticos β -lactámicos de amplio espectro que se utilizan como terapia de primera línea para tratar pacientes con infecciones causadas por Enterobacterias. Estos antibióticos se caracterizan por ser agentes bactericidas efectivos, sin embargo, se ha reportado la selección de bacterias resistentes tanto en Colombia como a nivel mundial. En Enterobacterias, la resistencia a carbapenémicos se asocia con la presencia de carbapenemasas capaces de hidrolizar a todos los β -lactámicos disponibles en el mercado. En Colombia se ha reportado el incremento de la incidencia de infecciones causadas por Enterobacterias resistentes a carbapenémicos durante los últimos años, es por ello que el presente trabajo tiene como objetivo caracterizar fenotípicamente los aislados de Enterobacterias resistentes a carbapenémicos que circularon en el Valle del Cauca, desde Enero hasta Junio del 2017. Para ello se realizó un diseño descriptivo en el que se evaluaron 34 aislados de Enterobacterias recibidos por el Laboratorio de Salud Pública Departamental, a los que se les realizaron pruebas de susceptibilidad empleando métodos automatizados, de acuerdo con los parámetros establecidos por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Adicionalmente, se realizaron las pruebas fenotípicas confirmatorias como el test modificado de Hodge y las pruebas de sinergismo usando los inhibidores EDTA y ácido fenil borónico (APB). Los resultados indican que de los 34 aislados resistentes a una o más cefalosporinas de tercera o cuarta generación, que también presentaron resistencia o sensibilidad intermedia a al menos un carbapenémico, 23 aislados fueron *Klebsiella pneumoniae*, 8 *Enterobacter cloacae*, 2 *Klebsiella oxytoca* y uno *Serratia marcescens*. Una vez aplicadas las pruebas fenotípicas confirmatorias, se determinó que el 58,9% eran del tipo KPC (*Klebsiella* Productoras de Carbapenemasas), el 14,7% posibles productores de metalo-betalactamasas, el 8,8% posibles productores de KPC y metalo-betalactamasas, mientras que el 17,6% eran posibles productoras de oxacilinas. Éstas últimas deben ser confirmadas empleando pruebas moleculares. Se puede concluir que el microorganismo más frecuente que presenta resistencia a carbapenémicos en el Valle del Cauca es *Klebsiella pneumoniae*, mientras que el tipo de resistencia principal a estos antibióticos está mediado por la producción de enzimas tipo KPC.

Este trabajo fue financiado por la Dirección General de Investigaciones de la Universidad Santiago de Cali (Número 934-621118-9), Cali, Colombia.

MA316

Effects of proteinase-K on biofilm of multidrug resistant *Corynebacterium striatum* strains

Yuri Faria, Cabral Felipe Oliveira, Mota Higor Franceschi³, Oliveira Guilherme G C³, Da Silva Cecília Maria Ferreira³, De Oliveira Valmir W.A.³, Cucinelli Andrezza Do Espirito Santo³, Fernandes Lais M O^{3,1}, Pontes Allan M L^{3,2}, Oliveira Dryelle Rodrigues³, Santos Rondinele Silva³, Santos Cintia Silva³, Raphael Hirata Júnior³, Ana Luiza Mattos-Guaraldi³, Cassius Souza³. ⁽¹⁾ Departamento de Biomedicina, Faculdade de Biomedicina, Centro Universitário Estácio de Sá, Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Biomedicina, Faculdade de Biomedicina, Instituto Brasileiro de Medicina e Reabilitação, Rio de Janeiro, BR. ⁽³⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR.

Corynebacterium striatum has been related as a pathogen of severe infections in immunocompromised, immunocompetent individuals and patients using invasive devices. Recently, a nosocomial outbreak was related in Rio de Janeiro, Brazil and was detected presence of four PFGE profiles, including two multidrug resistant (MDR) strains. Besides, another study indicated a complex and organized structure in biofilm formation, suggesting presence of exopolysaccharides. The objective was evaluated the effects of proteinase-K on the biofilm. Therefore *C. striatum* strains isolated from different clinical sites, representative of four PFGE-types, multidrug-resistance (MDR; n=2) and multidrug-susceptible (MDS; n=2) profiles and ability of biofilm formation on polyurethane catheter surfaces, isolated from patients admitted in a hospital unit located at Rio de Janeiro metropolitan area. Congo red test was used as screening to indicate the level of the presence of polysaccharides as previously described. Disaggregation tests was used Proteinase-K as previously described. Congo red tests showed that all four strains presented red-darkening color, being classified as an intermediar or “*bordeaux*,”. Disintegration test, showed that all strains decreased biofilm when in the presence of proteinase K, indicating a presence of protein in biofilm de *C. striatum*. A strain 1987/MDR isolated de Bronchoauveolar lavage, showed higher reduction de biofilm, when compared to the others. Accordingly, the pathogenicity of *C. striatum* should not be underestimated and the virulence factors that support *C. striatum* infections related to the health service (HAIs).

CNPq, FAPERJ, CAPES, SR-2/UERJ, FIOCRUZ, UEZO.

MA317

Avaliação de fatores de virulência de *Candida* spp. isolados de pacientes com tuberculose

Ferreira Rayana Larissa Pinheiro S², De Macedo Alessandra Teixeira¹, Cutrim Heylane Ferreira⁵, Silva De Azevedo Conceição De Maria Pedrozo E³, Marques Sirlei Garcia⁵, Magalhães Diniz Yankee Costa⁵, Dos Santos Julliana Ribeiro Alves⁴. ⁽¹⁾ Maranhão, Universidade Ceuma, São Luis, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Microbiologia Ambiental, Universidade Ceuma, São Luis, BR. ⁽³⁾ Micologia médica, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, BR. ⁽⁴⁾ Microbiologia, Universidade Ceuma, São Luis, BR. ⁽⁵⁾ Microbiologia, Laboratório CEDRO, São Luis, BR.

A tuberculose é uma doença infecciosa causada por *Mycobacterium tuberculosis*, que ainda permanece como desafio para a saúde pública, principalmente devido aos casos de co-infecção com outros patógenos, como fungos e o vírus HIV. *Candida* spp. é um importante patógeno oportunista em indivíduos com tuberculose. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a formação de biofilme e a capacidade de aderência de *Candida* spp. isolados a partir de pacientes com tuberculose. Para isso, foram realizados testes de adesão com células epiteliais bucais e formação de biofilme em placas de poliestireno com isolados de *Candida* spp. de pacientes com tuberculose e um isolado de *C. albicans* de referência: ATCC 90028. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição. Doze isolados clínicos incluindo *C. albicans* e *C. tropicalis* foram testados para formação de biofilme e seis isolados de *C. albicans* para o teste de adesão em células epiteliais bucais (CEB). Todos isolados apresentaram capacidade de aderência e formação de hifas, com maior aderência para o isolado CA 06 de *C. albicans* (52,5%). Em relação à formação de biofilme, oito isolados apresentaram diferença significativa quando comparados ao isolado de referência ($p < 0,05$). O conhecimento sobre os fatores de virulência de espécies de *Candida* spp. é valioso em pacientes com co-infecção e relevante para um bom diagnóstico e início da terapia adequada do paciente, o que auxilia na redução das altas taxas de morbimortalidade.

FAPEMA, MS, DECIT, CNPq, SES.

MA318

Investigação de fungos patogênicos em areia da praia do Calhau, litoral de São Luis - MA, Brasil

Fernanda Rosa¹, Jessika Soares¹, Jessica Pereira¹, Josivan Farias¹, Nivia Soares¹, Cristina Andrade-Monteiro².

⁽¹⁾ Biomedicina, Estácio, Faculdade Estácio São Luis, São Luis, BR. ⁽²⁾ Pós-Graduação, Universidade Ceuma, São Luis, BR.

A qualidade ambiental das praias vem adquirindo uma importância crescente entre os critérios de escolha do destino por parte dos turistas, por razões ambientais e de saúde pública, sendo importante avaliar os impactos ambientais e a existência de microrganismos atípicos desse local. O objetivo dessa pesquisa foi analisar amostras de areia da praia do Calhau, Litoral de São Luís-MA, para detecção de fungos patogênicos. O local da pesquisa possui 7 km de extensão e está delimitado pelas coordenadas geográficas 2° 24' 27" e 2° 29' 32" de latitude sul e 44° 14'48" e 44° 17'19" longitude oeste. As amostras de areia foram coletadas de três pontos da praia, no período de fevereiro a abril de 2018. As amostras de areia foram coletadas de acordo com a ABAE que preconiza zonas distintas para a coleta: zona seca e úmida. Em laboratório procedeu-se as técnicas para decantação da areia espontaneamente. A análise micológica foi realizada pela técnica de espalhamento; para identificação dos fungos filamentosos utilizou-se a técnica de microcultivo e para leveduras utilizou-se a microscopia e testes bioquímicos. Foram encontrados no ponto 1, zona seca: *Aspergillus fumigatus*, *A. terreus*, *Chetonium globosum*, *Candida Krusei* e *C. tropicalis*; zona úmida: *A. fumigatus* e *A. penicillioides*. Ponto 2, zona seca: *A. fumigatus*, *A. ibericus* e *A. niger*; zona úmida: não houve crescimento. Ponto 3, zona seca: *A. ibericus*, *A. fumigatus* e *A. niger*; zona úmida: *A. niger*, *Trichophyton interdigitale* e *Candida albicans*. É evidente a prevalência do gênero *Aspergillus* nas amostras coletadas; que se trata de um fungo anemófilo, porém algumas espécies como o *A. fumigatus*, é saprófito onipresente, transportados pelo ar e um dos mais isolados de habitats humanos. Diante da lacuna existente na legislação do estado do Maranhão e do Brasil com relação a fungos, é de fundamental importância a realização de mais estudos que possibilitem o estabelecimento de parâmetros legais. Dessa forma, existe a necessidade de mais estudos baseados em evidências epidemiológicas de exposição e análises de risco microbiológico para o controle da qualidade sanitária da areia das praias.

UNIVERSIDADE ESTACIO DE SÁ.

MA319

Prevalence and profile of resistance to antimicrobials of isolated bacteria of traqueal secretion of patients of the ICU of a University Hospital of Recife – PE

Torres Marília KS¹, Lima Jailton LC², Morais Marcia MC³. ⁽¹⁾ Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽²⁾ Medicina Tropical, Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽³⁾ Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada, Universidade de Pernambuco, Recife, BR.

Introduction: Respiratory infections are among the most common infectious diseases affecting humans around the world. In addition, these are more important in terms of frequency, morbidity and mortality, especially in patients admitted to Intensive Care Units (ICUs). Objectives: To evaluate the prevalence and antimicrobial resistance profile of bacteria isolated from tracheal secretion cultures of patients admitted to the ICU of a University Hospital of Recife - PE.

Methodology: A descriptive study was carried out by means of a survey of the results of bacterial cultures of tracheal secretions of patients from the ICU, from May to July 2015, at that hospital. The identification of the isolates and the analysis of the susceptibility profile was performed by Vitek 2 automated system, bioMérieux. **Results:** A total of 105 samples were analyzed, of which 58 (55%) were positive. It was found a higher prevalence of *Acinetobacter baumannii* (31,03%) and *Pseudomonas aeruginosa* (17,24%), *Klebsiella pneumoniae* (15,52%), *Serratia marcescens* (12,07%) and *Staphylococcus aureus* (8,62%). Resistance to the isolates of *A. baumannii* was: ceftriaxone (100%), ceftazidime, cefepime, meropenem, imipenem and ciprofloxacin (94%) and sensitivity to: colistin (100%) and tigecycline (94%). In *P. aeruginosa*, resistance to ceftazidime and ciprofloxacin (80%), meropenem (70%) and piperacillin/tazobactam (67%) and sensitivity to: colistin (70%) and amikacin (50%). Among the isolates of *K. pneumoniae* resistance to: ampicillin / sulbactam, ceftazidime, ceftriaxone, cefepime and piperacillin/tazobactam (88.89%) and susceptibility to: colistin and amikacin (88.88%). And 44.44% of these isolates produced the amplified-spectrum beta-lactamases enzymes (ESBLs). The isolates of *S. marcescens* showed resistance to: ampicillin, ampicillin / sulbactam, cefoxitin (100%) and tigecycline (86%) and sensitivity to: amikacin (83%) and gentamicin (100%). Among *S. aureus* isolates, resistance to: oxacillin, erythromycin, clindamycin, ciprofloxacin (80%) showed 100% sensitivity to linezolid teicoplanin and vancomycin. In these isolates the cefoxitin screening detected the occurrence of 80% of MRSA. **Conclusion:** This study demonstrates the high prevalence of multidrug-resistant Gram negative bacteria in samples of tracheal secretion, emphasizing the need for antimicrobial therapy based on the correct diagnosis of the microorganism causing respiratory tract disease and the evaluation of its antimicrobial susceptibility to avoid dissemination of antimicrobial resistance in the ICU environment.



MA320

SmartJane™: A novel vaginal health assay that combines HPV detection and genotyping, STI detection, and vaginal microbiome analysis in a self-sampling format

Cardenas Juan P.², Bik Elisabeth M.¹, Bird Sara W.¹, Bustamante Juan P.², Leon Luis E.², Nieto Pamela A.², Gupta Sarah L.¹, Kira Harman¹, Jimenez Juan J.², Laurens Kraal¹, Felipe Melis-Arcos¹, Morales Eduardo H.¹, Harold Nuñez¹, Ossandon Francisco J.¹, Raul Pino², Katia Soto-Liebe², Ignacio Varas², Patricia Vera-Wolf², Almonacid Daniel E.¹, Ugalde Juan A.², Jessica Richman¹, Apte Zachary E.^{1,3}. ⁽¹⁾ Research and Development department, uBiome, San Francisco, US. ⁽²⁾ Research and Development department, uBiome Chile SpA, Santiago, CL. ⁽³⁾ Biochemistry and Biophysics, University of California San Francisco, San Francisco, US.

A woman's reproductive and general health is in part associated with the composition of the vaginal microbiome and the presence of pathogens involved in sexually transmitted infections (STI). Comprehensive vaginal microbiome screening is not currently part of healthcare practices in most countries, where screening programs often are limited to the detection of individual pathogens, such as high-risk human papillomavirus (hrHPV), the predominant cause of cervical cancer. Here, we describe SmartJane™, a novel inclusive women's health assay that includes genotyping and detection of 14 hrHPV types, 5 low-risk HPV types (lrHPV), as well as the relative abundance of 32 bacterial taxa of clinical importance, and 4 pathogens involved in STI. For each of these taxa, healthy ranges, sensitivity, specificity, and reproducibility was determined. The HPV detection portion of the test was evaluated against the digene High-Risk HPV HC2 DNA test. For hrHPV genotyping, agreement was 95.3% with a kappa of 0.804 (601 samples); after removal of samples in which the digene hrHPV probe showed cross-reactivity with lrHPV types, the sensitivity and specificity of the hrHPV genotyping assay were 94.5% and 96.6%, respectively, with a kappa of 0.841. For lrHPV genotyping, agreement was 93.9% with a kappa of 0.788 (148 samples), while sensitivity and specificity were 100% and 92.9%, respectively. The SmartJane™ assay has been designed to complement conventional cervical cancer screening. Its self-sampling format can encourage women who would otherwise not participate to be screened, while at the same time get additional information about the composition of the vaginal microbiome and the presence of pathogens.

MA321

Estudio molecular de la resistencia a antibióticos β -lactámicos y quinolonas de cepas clínicas de *Escherichia coli*, en Puebla, México

Aguilar-Solorio Jose Carlos¹, Patricia Lozano-Zarain¹, Edwin Barrios-Villa¹, Miranda Herrera-Uriostegui², Rosa Del Carmen Rocha-Gracia¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias. Posgrado en Microbiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, MX. ⁽²⁾ Licenciatura en Biomedicina, Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, MX.

La lista de prioridad global de la OMS de bacterias resistentes a antibióticos dictamina el estudio de las Enterobacterias resistentes a Carbapenémicos y a cefalosporinas de 3era generación y productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). *Escherichia coli* es un comensal del tracto intestinal pero también puede actuar como un patógeno provocando cuadros de diarrea e infecciones de vías urinarias y meningitis. Estas cepas son capaces de generar resistencia a múltiples familias de antibióticos sobre todo a los β -lactámicos y quinolonas, que son de las primeras opciones de tratamiento para estas infecciones. En este estudio se incluyeron 36 cepas aisladas de pacientes con diferentes patologías provenientes del Hospital Regional ISSSTE de Puebla, México. En estas cepas se ensayó la sensibilidad a 18 antimicrobianos de diferentes familias por el método de Kirby-Baüer (CLSI, 2017) y se realizó la detección fenotípica de la producción de BLEE mediante la prueba de difusión con doble disco. Además, se realizó PFGE para determinar la relación clonal de estas cepas y aquellas cepas que resultaron multidrogoresistentes se caracterizaron genotípicamente mediante la amplificación y secuenciación de los genes codificantes para BLEE, los genes cromosómicos y plasmídicos responsables de la resistencia a quinolonas y se determinó el patotipo y grupo filogenético. Se identificaron 30 cepas de *E. coli* por caracterización bioquímica. El antibiograma detectó multirresistencia en el 97% (27/30); la resistencia a los β -lactámicos fue por arriba del 80 % para 6 antibióticos: AMP, CTX, CRO, ATM, CAZ y FEP; de igual manera para las quinolonas NA y CIP. El análisis por PFGE mostro que existe una amplia diversidad de clonas. Sin embargo, 6 cepas mostraron fenotipo BLEE positivo y fueron resistentes a quinolonas, de las cuales solo una resulto ser UPEC por la presencia de la PaI CFT073 y del filogrupo B2, mientras que las otras 5 resultaron ser extraintestinales procedentes de los filogrupos B1 y F. Es importante realizar estudios para investigar la multidrogoresistencia en cada hospital, ya que esta varía de acuerdo al cuadro de medicamentos utilizados. Los pacientes con infecciones causadas por bacterias multidrogoresistentes tienen peor pronóstico y mayor índice de mortalidad.



MA322

Effects of chlorhexidine in self-ligating and conventional brackets for orthodontics contaminated with *Streptococcus mutans* biofilm

Gonçalves Letícia Machado¹, Ana Paula Dias¹, Diniz Rafael Soares¹, Paschoal Marco Aurélio Beninni¹, Sousa Eduardo Martins². ⁽¹⁾ Post-Graduate Program in Dentistry, Ceuma University, Ceuma University, São Luís, BR. ⁽²⁾ Post-Graduate Program in Parasite Biology, Ceuma University, Ceuma University, São Luís, BR.

Background: Although there is increasing evidence about the application and use of chlorhexidine (CHX), there are few studies discussing its use in different designs of orthodontic brackets and comparing chemical antimicrobial action on cariogenic biofilms, useful information for orthodontic community. This study aimed to assess the adherence of *Streptococcus mutans* biofilms grown over conventional (CL) or self-ligating brackets (SL) for orthodontics, and the bacterial viability of biofilms after 0.12% CHX treatment. **Methods:** The sample consisted of 48 metallic orthodontic brackets divided randomly in two groups: Conventional Ligature - CL (N=24) and Self-Ligating brackets – SL (N=24). *S. mutans* biofilms were grown over the bracket surface for 96 hours and submitted to CHX or 0.9% Phosphate-Buffer Saline (PBS) (control group) treatment for 1 minute. Biofilm analysis was performed by Colony Forming Units (CFU) quantification. Fluorescence microscopy was performed aiming to illustrate the outcomes. The tests were done in triplicate into three different times (N=9). The results were analyzed using ANOVA and Tukey test with a significance level of 5%. **Results:** Statistical significance differences in the *S. mutans* biofilm viability were found to both brackets submitted to CHX treatment compared to control group ($p < 0.001$), indicating antimicrobial activity for both studied materials. The lowest CFU counting was observed in SL group ($p < 0.05$), which was visually verified by fluorescence microscopy. **Conclusion:** It was concluded that *S. mutans* biofilms were susceptible to chlorhexidine treatment to both studied brackets, and a lower colonization was achieved in self-ligating brackets.

The authors would like to thank the Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão, FAPEMA (Portuguese acronym for the Maranhão State Research Foundation), for supporting this study.

MA323

Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos comerciais de própolis brasileiras

Da Silva Lorena Cristina Fernandes¹, Orsi Daniela Castilho², Barreto Livia Cristina De Sá¹. ⁽¹⁾ Ciências da Saúde, Faculdade de Saúde - FS, Universidade de Brasília - UnB, Brasília, BR. ⁽²⁾ Universidade de Brasília - UnB, BR.

Vários estudos comprovam o potencial da própolis para diversas aplicações farmacológicas e confirmam a sua eficácia como antiinflamatório e antimicrobiano. Atualmente um grande número de bactérias desenvolveu resistência contra várias classes de antibióticos e o que se tem notado é uma intensa busca por novos medicamentos, com destaque para a própolis. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana por ensaio de difusão em disco de diferentes extratos de própolis brasileiras. Foram testados cinco extratos de própolis: dois extratos alcoólicos de própolis verde elaborados com 30% de própolis in natura, um extrato alcoólico de própolis marrom elaborado com 30% de própolis in natura, um extrato aquoso de própolis elaborado com 30% de própolis in natura e um extrato alcoólico de própolis verde elaborado com 70% de própolis in natura. Os inóculos utilizados foram cepas de bactérias ATCC ajustadas à turvação 0,5 da escala de Mc Farland. Os inóculos foram semeados na superfície de placa de ágar Müller-Hinton, até a obtenção de um esfregaço uniforme. Após a secagem dos inóculos, foram aplicados discos de papel de filtro impregnados com 20 µL dos extratos de própolis. Os testes foram realizados em triplicata e as leituras foram realizadas após 24 horas de incubação a 37 °C, por meio da medição dos halos de inibição do crescimento em milímetros de diâmetro. Foi observado que todos os extratos de própolis testados apresentaram atividade antimicrobiana frente à bactéria gram positiva *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, apresentando halos de inibição de 20 à 33 mm. No entanto não houve atividade antimicrobiana para os microrganismos gram negativos testados (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1706 e *Salmonella enteritidis* ATCC 14028). As bactérias Gram-negativas são menos susceptíveis à ação da própolis devido ao fato de possuírem uma parede celular com um maior teor lipídico, o qual restringe a difusão de compostos hidrofóbicos através de parede celular. Assim o emprego da própolis como antibiótico natural seria possivelmente mais viável para o tratamento de infecções provocadas por bactérias gram-positivas.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

MA324

Evaluación de la cobertura de vacunación con BCG del Plan Estratégico Colombia Libre de Tuberculosis 2006-2015

González Cecilia María¹, Gutierrez Juan Pablo ¹, Vera Lina María³, Carolina Becerra², **Wellman Ribón**³. ⁽¹⁾ Morelos, Instituto Nacional de Salud Pública de México, Cuernavaca, MX. ⁽²⁾ Santander, Salud - Bucaramanga, Universidad Manuela Beltrán, Bucaramanga, CO. ⁽³⁾ Santander, Salud - Bucaramanga, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, CO.

Introducción: Durante las últimas décadas, la tuberculosis ha sido una enfermedad infecciosa de considerable incidencia y mortalidad en el mundo. Organismos nacionales e internacionales han establecido políticas y protocolos, como guía a los países, para el manejo de la tuberculosis y el logro de las metas de disminución de la transmisión y erradicación de la enfermedad. En Colombia, no se ha evaluado la cobertura de vacunación con BCG, como uno de los indicadores del Plan Estratégico Colombia Libre de Tuberculosis (PECLT), por lo que es necesario aportar evidencia objetiva a los entes de salud, que permita la valoración y creación de nuevas estrategias, para optimizar la cobertura total de vacunación con BCG en el país. **Objetivo:** analizar la cobertura de la vacuna BCG a nivel nacional, para evaluar el impacto del PECLT 2006 -2015 en este indicador específico. **Metodología:** se llevó a cabo un análisis de series de tiempo interrumpidas, para evaluar el impacto del PECLT en la variación de la cobertura de la BCG, a nivel nacional de 2000 a 2015, tomando como año de implementación el 2006. Los datos se tomaron a partir del año 2000. **Resultados:** la tendencia de la cobertura de vacunación, previa al PECLT, era hacia el incremento (0,5%) mientras que tras la implementación esta fue hacia la disminución (1,6%). El porcentaje estimado de cobertura en el año de base, 2000, fue de 88,5%, para posteriormente disminuir en 2006 1,4% y, de ahí en adelante, anualmente 0,8%. No obstante, esta reducción en el porcentaje no resultó estadísticamente significativa ($p>0,05$). Lo anterior indica que, para la meta de este indicador, de forma separada a los demás, el PECLT no ha sido determinante para lograr la cobertura del 95% en población colombiana, por lo que para el periodo del PECLT no se alcanzó la meta propuesta de cobertura BCG. **Conclusión:** un diseño mixto, con evaluación cualitativa del diseño de la estrategia, para la verificación del indicador planteado, sería un complemento a los análisis aquí presentados, con los cuales se podrían evaluar de forma integral las acciones de mejora para el objetivo esperado, en lo referente a cobertura de vacunación con BCG.

MA325

Resistance profile of microorganisms involved in urinary tract infections in patients attended in hospitals of a Brazilian pre-Amazon region

Pereira Wellison Amorim¹, Penha Lustosa Borges Andréa Gomes¹, Silva Martins Cleidiane Souza¹, Rodrigues Nogueira Francisco Jonathas¹, Martins Morais Marcos Vinicius¹, Melonio Luciana Conceicao², Marques Sirlei Garcia^{2,3}, Abreu Afonso Gomes¹. ⁽¹⁾ Laboratory of Environmental Microbiology, Ceuma University, São Luís, BR. ⁽²⁾ Microbiology, CEDRO Laboratory, São Luís, BR. ⁽³⁾ Microbiology, Federal University of Maranhão, São Luís, BR.

Urinary tract infection (UTI) affects about 150 million people annually. In Brazil it is estimated that up to 80% of outpatient complaints are related to the disease. Some of those seeking care show serious complications resulting from previous failed treatments, long periods of latency or resistance to antibiotics. In this context, the objective of this study was to evaluate the resistance profile of microorganisms in patients attended in public and private hospitals of a Brazilian pre-Amazon region. To this end, the project was approved by the Research Ethics Committee of the CEUMA University under protocol No. 2,221,431 / 17. The samples were obtained for convenience in hospitals of São Luís, Maranhão, in the first semester of 2017. Urine cultures were used, means used for sowing and counting of colonies and the isolates identified by MALDI-TOF. Antibiogram was performed using the Vitek2 automatized method. Of the 1,365 analyzed samples, 25.42% (n = 347) were positive, 64.55% (n = 224) of the female sex. The age group older than 50 years was the most affected, mainly among hospitalized patients. The most isolated microorganisms were Gram-negative bacteria, especially *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and the fungus *Candida albicans*. The microorganisms showed high resistance to the antibiotics ciprofloxacin, ampicillin and gentamicin. On the other hand, carbapenems, nalidixic acid, amikacin, linezolid and nitrofurantoin were more effective in the treatment of UTIs. In general, fungus presented sensibility to the most antimicrobials tested. Only *C. albicans* showed resistance to fluconazole. Therefore, this study showed a high rate of patients with UTI, as well as a bacterial resistant profile to the main antimicrobial agents.

FAPEMA.



MA326

Aislamiento de hongos filamentosos productores de Ocratoxina A presentes en granos de café de Chiapas procesados por vía natural

Aguilar-Álvarez María E¹, Gerardo Saucedo-Castañeda¹, Noël Durand², Isabelle Perraud¹, Morales-Estrada Aurea I¹, Jiménez-Santiago Luis F¹, Isabel Champion-Martínez¹, Gabriela Rodríguez-Serrano¹. ⁽¹⁾ Biotecnología, Iztapalapa, Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, MX. ⁽²⁾ Seguridad de alimentos, Agricultural Research for Development, Montpellier, FR.

La Ocratoxina A (OTA) es una toxina producida por hongos filamentosos, principalmente de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Alternaria*. En las últimas décadas, la presencia de esta toxina en el café se ha estudiado por la importancia que representa en la seguridad e inocuidad alimentaria, ya que presenta características nefrotóxicas, inmunosupresoras, teratogénicas y carcinogénicas. De acuerdo con la Agencia Internacional de Investigación de Cáncer (IARC por sus siglas en inglés), se ha clasificado como un posible carcinogénico del grupo 2B. México es el onceavo productor de café a nivel mundial y Chiapas ocupa el primer lugar en el cultivo y producción del país. Actualmente no hay estudios reportados sobre hongos filamentosos productores de OTA y la presencia de esta toxina en café mexicano. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo consistió en aislar hongos filamentosos presentes en lotes de café de Chiapas de las variedades robusta (*Coffea canephora*) y arábica (*Coffea arabica*), procesados por el método natural. Las muestras analizadas correspondieron a cerezas recién cortadas y cerezas secadas al sol por 4 y 8 días en el caso de los granos de robusta y, de 10 y 15 días en caso del café arábica. Se aislaron en total 169 cepas de hongos filamentosos sembrados en medio PDA y se estudió su potencial ocratoxigénico mediante la técnica HPLC. Las muestras de café también fueron sometidas al análisis de OTA por la misma metodología en las cuales no se detectó la presencia de la micotoxina. Del total de las cepas aisladas solo 5 mostraron una baja producción de OTA que se encuentra por debajo de los límites máximos permitidos por la Unión Europea para la ingesta de OTA en café tostado

Becaria del SEP-COSDAC-Unidad de Educación Media Superior Tecnológica Agropecuaria y Ciencias del Mar. Proyecto CONACYT-259874/ANR-15-CE21-0018-01 y productores de café del estado de Chiapas.

MA327

Comportamento de *Lactobacillus casei* em co-cultura com *Streptococcus thermophilus* durante a fermentação em e na presença de polpa de *Syzygium cumini* em bebida láctea isenta de lactose

Garcia Sabrina Laís Alves¹, Florentino Eliane Rolim², Buriti Flávia Carolina Alonso³, Queiroga Anna Paula Rocha De⁴, Da Silva Gabriel Monteiro⁴. ⁽¹⁾ Departamento de Farmácia, Faculdade de Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, BR. ⁽²⁾ Departamento de Química, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, BR. ⁽³⁾ Departamento de Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Química Industrial, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, BR.

Estima-se que 70% da população mundial sofre com algum grau de intolerância à lactose. Por esse motivo a produção de uma bebida láctea com baixo teor deste dissacarídeo torna-se importante, na perspectiva de atender esse público alvo. Esse tipo de produto é um excelente meio para incorporação de probióticos e a utilização de frutas melhora o valor nutricional e sensorial do produto final. O objetivo deste estudo é avaliar a viabilidade da incorporação de *Lactobacillus casei* BGP93 em co-cultura com *Streptococcus thermophilus* TA40 em uma bebida láctea fermentada com baixo teor de lactose e seu comportamento frente à adição da polpa do *Syzygium cumini* (jambolão). Para produção da bebida, preparou-se a base láctea contendo soro de queijo minas frescal, leite em pó desnatado e açúcar. A base láctea foi mantida na presença da enzima β -galactosidase por 24 h para a total hidrólise da lactose. A cultura *starter* de *S. thermophilus* TA 40 foi adicionada nas duas formulações, experimental e controle, e a cultura probiótica comercial de *L. casei* BGP93 apenas na experimental. Ao término da fermentação, ao se atingir acidez superior a 0,7 g de ácido láctico/100 g, a polpa de fruta foi adicionada. Foram produzidos três lotes de cada bebida e monitorou-se a viabilidade das culturas adicionadas antes e depois da fermentação, além da bebida adicionada de *S. cumini*. A bebida láctea produzida se mostrou um ótimo veículo para a cepa probiótica BGP93, uma vez que a mesma atingiu 8,66 log UFC/ml ao final da fermentação e manteve-se em 8,52 log UFC/ml após a adição da polpa, mostrando que a fruta não prejudicou a viabilidade do probiótico. A cultura *starter* se desenvolveu bem no processo fermentativo e manteve-se viável no produto final, atingindo população superior a 9,00 log UFC/mL. O pH das bebidas manteve-se inferior a 4,90 após a adição da polpa do jambolão em ambas formulações. O desenvolvimento da bebida láctea fermentada isenta de lactose adicionada de polpa de jambolão se mostrou um promissor alimento funcional, com quantidade de probióticos acima do recomendado pela literatura (6 log UFC/mL) e que pode ser consumido por intolerantes àquele dissacarídeo.

MA328

Práticas de ordenha e a contaminação bacteriana do ambiente, ordenhadores, animais e leite

Miyoshi Luany Yone¹, Rocha Suzana Maria Da¹, **Galvão Julia Arantes**¹. ⁽¹⁾ Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, BR.

Neste trabalho, o objetivo foi verificar a associação da contaminação bacteriana do leite com práticas de ordenha. Foram caracterizados os perfis socioeconômicos de produtores e, microbiológico dos principais pontos de contaminação na ordenha e do leite em seis propriedades. Foram enumerados aeróbios mesófilos (AM), coliformes totais (CT), estafilococos coagulase positiva (ECP) e pesquisada *Salmonella* spp. Em média os produtores tinham 47 anos de idade, 24 deles dedicados à leiteria. Em cada propriedade havia, em média, 11 vacas lactantes, produzindo 175 litros/dia (17 L/vaca/dia). A maioria delas não possuía água tratada, mas havia água encanada, pia e/ou torneira, além de piso e iluminação elétrica no local de ordenha. Para limpeza de equipamentos e utensílios eram utilizados: detergentes alcalino e/ou ácido, produtos domésticos, detergente e sabão e, para desinfecção água quente, água sanitária e/ou NaOH. Eram realizadas duas ordenhas/dia por 83% dos produtores e três por 17% deles. O sistema mecânico do tipo “balde ao pé” predominou, já bezerro ao pé não foi observado em nenhuma propriedade, 67% dos produtores não lavava as mãos antes da ordenha, 50% desprezava os três primeiros jatos de leite no chão, 67% lavava o úbere das vacas, 67% usava papel toalha descartável, 33% usavam panos e, 87% não realizava pré e pós-dipping. Todos os produtores alimentavam as vacas, refrigeravam o leite após a ordenha e higienizavam utensílios e equipamentos, secos de forma invertida (67%). As contagens médias de AM (UFC/cm² ou mL) foram 2,5x10⁴ na água; 2,3x10² nas mãos; 1,8x10⁵ nos tetos; 8,4x10⁴ nas teteiras; 1,3x10⁴ nos utensílios; e, 9,7x10⁴ no leite. As contagens médias de CT (UFC/cm² ou mL) foram 1,9x10¹ na água; 1,0x10⁰ nas mãos; 6,0 nos tetos; 5,4x10¹ nas teteiras; 3,0 nos utensílios; e, 1,3x10³ no leite. ECP (UFC/cm² ou mL) não foram detectados na água, teteiras e utensílios, mas ocorreram nas mãos, com a média 3,7x10¹; tetos (1,3x10²); e, leite (3,2x10²). Não foi detectada *Salmonella* spp. As práticas incorretas observadas acarretaram nos principais pontos de contaminação da ordenha, no entanto, considerando que práticas importantes não foram executadas, não era esperado que o leite atendesse aos padrões recomendados pela legislação nacional para AM.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES. Universidade Federal do Paraná - UFPR.



MA329

Potencial deteriorante da microbiota isolada de leite cru da microrregião de Caxias-Maranhão, Brasil

Araújo Lorena Gonçalves¹, Lopes Joyce Bitencourt Athayde¹, Cesar Kellyane Karen Ferreira Aguiar¹, Alves Bruno Kaik¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia, Ifma Campus Caxias, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão- IFMA, Caxias, BR.

O leite é considerado um alimento altamente nutritivo, conseqüentemente, se torna o ambiente propício para a proliferação de microorganismos. Atualmente no Brasil, é exigido que o leite seja refrigerado até três horas após a ordenha, esta prática é utilizada para reduzir atividade microbiana deteriorante assim aumentando a vida útil do leite. Neste estudo objetivou-se avaliar o potencial deteriorante da microbiota isolada leite cru da microrregião de Caxias - Maranhão, Brasil. Foram realizadas 2 coletas em 4 propriedades, sendo 3 na cidade de Caxias e 1 em São João do Sóter totalizando 8 amostras, estas coletas ocorreram após a ordenha com o leite sem nenhum tipo de tratamento. Os testes laboratoriais ocorreram no Laboratório de microbiologia do Instituto Federal do Maranhão – Campus Caxias e no Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal – LIPOA. Realizou-se Contagem Bacteriana Total (CBT) da qual foram selecionadas 112 cepas, para teste quanto as suas capacidades acidificantes e de realizar lipólise e proteólise nas temperaturas de 35°C (Mesófilos) e 7°C (Psicotróficos). Os dados foram submetidos ao teste Qui-quadrado. Os resultados mostraram elevada contagem bacteriana (UFC/mL) (Miníma: 5,0x10³, Média: 3,1x10⁶ e Máxima: 1,2x10⁷), porém, não existe padrão na Instrução Normativa (IN) 62 para este tipo de leite. Os testes de deterioração indicaram que a 35°C, 102 (91%) cepas apresentaram atividade deteriorante, e a 7°C, 57 (50%) apresentaram-se deteriorantes. Indicando que a refrigeração a 7°C foi o suficiente para reduzir, mas que ainda permite atividade microbiana moderada. O teste Qui-quadrado comprovou a diminuição da atividade deteriorante em temperatura de refrigeração(7°C), bem como a alta atividade em temperatura de crescimento (35°C). Desta forma conclui-se que o leite cru coletado na microrregião de Caxias inapropriado para o consumo e apresenta alto potencial deteriorante.

Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão - FAPEMA e Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão – IFMA.

MA330

Pesquisa *Listeria monocytogenes* em linguiças artesanais no município de Uruguaiiana, Rio Grande do Sul, Brasil

Carolina Araujo¹, Stela Schaefer¹, Matheus Padilha¹, Juliano Pereira¹, Vanessa Soares². ⁽¹⁾ Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiiana, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiiana, BR.

As linguiças do tipo frescal são embutidos de origem cárnea com grande apelo comercial no Rio Grande do Sul, sul do Brasil. Devido à forma que é fabricada e comercializada, existe risco de contaminação por bactérias, como *Listeria monocytogenes*, um importante patógeno veiculado por alimentos obtidos e manipulados em locais com condições higiênicas deficientes. Embutidos do tipo frescal geralmente apresentam alta palatabilidade e baixo valor agregado, conquistando com isso, grande parcela dos consumidores de produtos de origem animal. Na Fronteira Oeste do Estado, onde está situado o município de Uruguaiiana, são recorrentes os estabelecimentos que fabricam seus próprios embutidos. Neste caso, nem sempre as regras das Boas Práticas de Fabricação (BPF) são seguidas, mesmo porque, muitos desses estabelecimentos de pequeno porte não são registrados junto ao Serviço de Inspeção Oficial, adquirindo, muitas vezes, matéria-prima de origem clandestina. Assim, o presente trabalho teve como objetivo, pesquisar presença *L. monocytogenes* em linguiças de fabricação artesanal, provenientes de estabelecimentos comerciais, como supermercados e açougues da cidade de Uruguaiiana, estado do Rio Grande do Sul. Foram coletadas 84 amostras de diferentes tipos de linguiças, como mista (n=66), frango (n=9) e suína (n=9), em 12 estabelecimentos durante os meses de maio a junho de 2017. As amostras foram submetidas à pesquisa e confirmação bioquímica de *L. monocytogenes* por metodologia oficial. O patógeno foi isolado de 16 amostras, sendo 10 em linguiças mistas, 4 de frango e 2 de suíno. Fato que chamou a atenção é que 7 (43,75%) das amostras positivas eram de um mesmo estabelecimento, indicando uma possível persistência do patógeno no ambiente, visto que as amostras foram positivas foram coletadas em diferentes momentos (intervalo de dois meses). A presença do patógeno no ambiente e conseqüentemente nos produtos amostrados, pode indicar falhas no processo de higienização, uma vez que *L. monocytogenes* tem a capacidade de se aderir em superfícies de trabalho formando biofilme. A presença de *L. monocytogenes* nas amostras analisadas demonstra a necessidade da implantação de práticas de higiene e sanitização nos estabelecimentos amostrados, uma vez que os produtos por eles produzidos podem veicular patógenos de importância em saúde pública como *L. monocytogenes*.

MA331

Enzimas involucradas en la producción de compuestos de aroma y sabor por lactobacilos con impacto en productos fermentados de soja

G Natividad Avila Hael¹, Nacchio Bárbara L¹, Medina Roxana B^{1,2}, Garro Marisa S¹. ⁽¹⁾ CCT-CONICET Tucumán, Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-CONICET), Tucumán, AR. ⁽²⁾ Facultad de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de Tucumán (UNT).

Diacetilo y acetoina (D-A), componentes esenciales de aroma y sabor en productos fermentados, surgen del metabolismo de fuentes carbonadas a través del metabolismo del piruvato. Estos compuestos importantes en la industria alimenticia, por contribuir al "flavor", son producidos por algunas cepas de bacterias lácticas (BAL). La formación de D-A es catalizada por la α -acetolactato sintasa (α -ALS) que genera α -acetolactato (α -AL) por condensación de dos moléculas de piruvato. En presencia de fuentes adicionales de carbono, como ser el citrato, algunas BAL que tienen la enzima citrato permeasa (CP), permiten que ingrese carbono extra para la formación de piruvato, incrementando la producción de D-A. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de las enzimas α -ALS y CP en *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* CRL 207, *L. zae* CRL 981 y *L. fermentum* CRL 251. Las cepas fueron incubadas en caldo MRS a 37°C por 18 hs, se centrifugaron y el pellet se rompió en prensa, obteniendo un extracto libre de células. La actividad enzimática de α -ALS se midió siguiendo el método de Cogan. La presencia de la enzima CP se evidenció empleando el medio agar citrato de calcio en el cual las cepas fueron sembradas por estrías. La aparición de un halo claro alrededor de las colonias es indicador de transporte y metabolismo de citrato. Los resultados indicaron presencia de actividad α -ALS en las tres cepas estudiadas, presentando una mayor actividad enzimática la cepa CRL 207 (1,20 UE/mg). Mientras que CRL 981 y CRL 251 presentaron valores menores (0,20 y 0,07 UE/mg respectivamente). En cuanto a la utilización de citrato, dio positivo para las cepas CRL 251 y CRL 207, con un halo refringente alrededor de las colonias mucho mayor en la cepa CRL 251. Estos resultados indican que las cepas estudiadas son productoras de D-A por vía de la enzima α -ALS, con mayor eficiencia la cepa CRL 207. La producción de D-A en productos fermentados de soja podría incrementarse usando las cepas 207 y 251 con adición de fuentes de citrato a la matriz alimenticia, disminuyendo la percepción de sabores desagradables que se generan en el producto fermentado.

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPyCT-FONCYT).

MA332

Antimicrobial resistance profile of *Salmonella* sp. isolated in slaughter and processing chicken cutting

Neila Rita Carbonera³, Rodrigues Carolina Dias¹, Kadigia Pegoraro³, Sereno Mallú Jagnow³, Schmiedt Jhennifer Arruda², Barcellos Vinicius Cunha³, **Bersot Luciano S.**³. ⁽¹⁾ DCV, Programa de Residência em Medicina Veterinária, UFPR, Palotina, BR. ⁽²⁾ DCV, Graduação em Medicina Veterinária, UFPR, Palotina, BR. ⁽³⁾ DCV, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, UFPR, Palotina, BR.

Salmonella is among the main pathogens causing gastroenteritis associated with the consumption of animal products, such as poultry meat. This fact is essential to carry out studies on this pathogen. The objective of this study was to investigate the antimicrobial resistance profile of *Salmonella* spp. isolated in the line of slaughter and processing of broilers in a large establishment qualified to export located in the State of Paraná. The samples were collected from the transport cages, carcasses, final products, table, knives and hands of manipulators, a total of 125 isolates of *Salmonella* spp. The test of susceptibility to antimicrobial was carried out according to the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) by Kirby Bauer disc diffusion method. All 125 isolates were resistant at least two classes of antimicrobials, 121 (96.8%) presented multidrug resistant. High levels of resistance can also be observed for tetracycline, doxycycline and nalidixic acid (100%), ampicillin (86.4%), amoxicillin plus clavulanic acid (80.8%), cefotaxime (80%), aztreonam and ceftriaxone (76%), ceftazidime (74.4%), tobramycin and gentamicin (62.4%). All the isolates were sensitive to the carbapenems (meropenem and imipenem), these antimicrobials are the first choice to combat infections caused by microorganisms producers of beta-lactamases. As of the 125 isolates, 94 presented resistance to ceftazidime or cefotaxime or both and these isolates were subjected to the test for the production of extended-spectrum beta-lactamases enzymes (ESBL) by European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Guidelines. Twenty-four isolates that presented standard phenotypic compatible with the production of these enzymes in which 23 belonged to the *S. Heidelberg*. According to the results obtained in this study it was possible to verify that most of the isolates were multidrug to the main antimicrobials normally used in poultry farming being a factor of importance in the occurrence of foodborne outbreaks and for public health.

CNPq, CAPES.

MA333

Occurrence of *Salmonella* spp. and hygiene indicators in frozen chicken carcasses and cuts in the retail market

Schmiedt Jhennifer Arruda¹, Tezini Marina Vaccari¹, Tais Luana Pinto¹, Thiago Henrique Bellé², Bonesso Bernardo Lazzarotti¹, Barcellos Vinicius Cunha², **Bersot Luciano S.**². ⁽¹⁾ DCV, Graduação em Medicina Veterinária, UFPR, Palotina, BR. ⁽²⁾ DCV, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, UFPR, Palotina, BR.

The safety and quality of chicken meat can be predicted by the count of hygienic indicator microorganisms (HIM), such as the coliforms, which are widely used for evaluation of contamination during slaughter and processing, indicating hygiene practices inadequate. High counts of these HIM may be related to the presence of enteropathogenic bacteria, such as *Salmonella* spp., of great importance in the occurrence of foodborne outbreaks, mainly in the chicken chain. Microbiological standards for chicken meat are established by the Ministry of Health (MS) of Brazil being allowed up to 4 log CFU/g with no standard for *Salmonella*. Thus, the aim of the present study was to verify the occurrence of *Salmonella* spp. and the adequacy of MS in frozen poultry carcasses and cuts evaluated at the point of sale. Forty-three samples were acquired in supermarkets in the western region of Paraná, Brazil, and transported in isotherms boxes to the laboratory (LACOMA), UFPR, Palotina, for presence/absence evaluation of *Salmonella* spp./25g, for the quantification of *Salmonella* spp. by mMPN/g and for the count of thermotolerant coliforms (TC) by the technique of the multiple tubes (PN/g). Of the 43 samples analyzed, nine (20.9%) presented *Salmonella* sp. but all samples were within MS standards for TC. This data indicated that even with good hygienic conditions, pathogenic microorganism contamination may occur. It was not possible to quantify *Salmonella* spp. by the technique used. The results obtained verified that, from a hygienic standpoint, the samples were adequate but revealed the presence of *Salmonella* spp. indicating a potential risk to the health of consumers, even in low quantities.

CNPq.



MA334

Implicance of biofilm structure on *Salmonella* Enteritidis survival under stress conditions

Claudia Muñoz², Alfredo Adriasola¹, Catalina Peña², Patricio Retamal², **Marlen Barreto**¹. ⁽¹⁾ Institute of Biomedical Research, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratory of Infectious Diseases, Faculty of Veterinary and Animal Sciences, University of Chile, Santiago, CL.

During the past 20 years *Salmonella enterica* has been a major cause of foodborne infections (ETAs) to humans. *Salmonella* infections are one important public health problem in developed and developing countries, causing illness in millions of animals and human, and losses of economic resources worldwide. In the Chilean population, Salmonellosis is an endemic disease and serovar with the highest importance is *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (*S. Enteritidis*), it is responsible of more than 65% of the cases that occur in the country. Increased prevalence rates of Salmonellosis is caused by several factors, where the most important are related to natural reservoirs of infection and the intrinsic properties of the bacterium. The permanence of the bacteria in different ecological niches depends on their ability to survive in adverse conditions where biofilm formation plays an important role. In these aggregations, bacteria are protected by the layer of exopolysaccharides surrounding them, which increases survival under stressful conditions (low pH, extremes temperature, starvation, disinfectants, antibiotics, etc.), and favors the bacterial persistence. The working hypothesis is that the quality of biofilm formed by *S. Enteritidis* isolates is associated with their resistance to stress conditions. 45 strains of *S. Enteritidis* isolated have shown high variability respect to their ability of biofilm formation, including the kind of EPS (exopolysaccharide) that produce, for this reason the aim of this work was to evaluate its relationship with *Salmonella* Enteritidis survival under stress conditions. The biofilm formed by the different *S. Enteritidis* isolates was challenged with stressful conditions as starvation, oxidative stress, desiccation and regarding antimicrobial resistance. The survival on biofilm was determined by XTT-reduction assay and the relationship with the EPS produced and the structure of biofilm (weak and strong) was determined with Pearson's correlation. The survival of *S. Enteritidis* to stress conditions and antimicrobials was higher in isolates forming biofilm, although no relationship was found with the quality of biofilm formed. All isolates showed better resistance to antimicrobials and stress conditions in biofilm than in planktonic state. Neither cellulose nor curly are a fundamental component of biofilm to *S. Enteritidis* survival in stress conditions.

This Project was financed by Universidad Autónoma de Chile, Internal Project DPI 61-2015.

MA335

Pesquisa de *Salmonella* e micro-organismos indicadores em carnes *in natura* comercializadas no Município de Uruguaiana/RS - Brasil

Padilha Matheus B.¹, Guerra Maria Eduarda M.¹, Schneider Fernando A.¹, Soares Vanessa M.², Pereira Juliano G.¹.

⁽¹⁾ Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, BR.

O município de Uruguaiana, localizado no oeste do Estado do Rio Grande do Sul, tem como tradição e hábito alimentar o consumo acima da média nacional de carne *in natura*. Muitos estabelecimentos que comercializam carnes suínas, bovinas e avícolas não possuem condições de higiene adequadas, o que pode resultar na presença de micro-organismos patogênicos como *Salmonella*. Mesmo fiscalizados pelos serviços municipais de vigilância sanitária, nem sempre as Boas Práticas de Fabricação (BPF) são seguidas. O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade higiênico-sanitária de carne *in natura* (avícola, bovina e suína) comercializadas no município de Uruguaiana – RS - Brasil, por meio de contagem de micro-organismos indicadores (mesófilos e enterobactérias) e pesquisa de *Salmonella* spp. Foram coletadas 154 amostras de carnes *in natura* (avícola n=63; bovina n=56; suína n=35) durante os meses de outubro de 2017 a abril de 2018 em 19 estabelecimentos comerciais, dentre eles açougues, mercados e supermercados. As amostras foram submetidas à contagem de micro-organismos mesófilos e enterobactérias (log UFC/g), além da pesquisa de *Salmonella* spp. (ausência ou presença em 25 g). A média das contagens de mesófilos foi de 6,64 log UFC/g em carne bovina, 5,27 log UFC/g em carne suína e 4,37 log UFC/g em carne avícola. A média das contagens de enterobactérias foi de 5,55 log UFC/g em carne bovina, 3,16 log UFC/g em carne suína e 2,11 log UFC/g em carne avícola. Não foi detectada a presença de *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras. As contagens obtidas denotam condições inadequadas de higiene durante a manipulação e armazenamento das carnes nos estabelecimentos. Ainda que a legislação brasileira considere que carne *in natura* com ausência de *Salmonella* spp. em 25 g de amostra seja liberada para consumo humano, a presença de altas contagens de micro-organismos indicadores demonstra falhas no cumprimento das boas práticas de higiene e manipulação dos alimentos, além das possíveis alterações de temperatura nos locais de armazenamento, propiciando o crescimento bacteriano. As amostras de carnes analisadas apresentaram alto índice de contaminação por indicadores, o que pode comprometer a qualidade higiênico-sanitária, evidenciando a necessidade de maior fiscalização na garantia da segurança dos alimentos.



MA336

Estrategias para disminuir *Listeria monocytogenes* en carne

Giannina Brugnini¹, Soledad Rodriguez Cortes¹, Sofia Inario Oribe¹, Caterina Rufo D'Addario¹. ⁽¹⁾ Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, Universidad de la República.

En este trabajo se evaluó el efecto combinado de la aplicación de ácido láctico y radiación UV-C para reducir *Listeria monocytogenes* en un corte de carne (peceto: músculos Bíceps femoral y Semitendinoso), utilizando la cepa de *L. monocytogenes* LM100A1 aislada de un establecimiento frigorífico uruguayo. Para ello, se utilizó un diseño experimental de superficie de respuesta (central compuesto) de dos factores con cinco puntos centrales usando el programa Design-Expert. Las variables independientes fueron: concentración de ácido láctico entre 0-5% y dosis de UV-C aplicada entre 0-802 mWs/cm². Las variables dependientes fueron: recuento de *L. monocytogenes* y color. Se inocularon 21 trozos de carne de 10 gramos con 5.8 log ufc de LM100A1 y luego de 10 minutos para permitir la fijación del inóculo se aspersaron con 1.5 ml de ácido láctico. Inmediatamente se aplicaron dosis variables de UV-C según el diseño. Se realizaron recuentos en placas de agar Palcam de LM100A1. Se realizó un set adicional de muestras para efectuar las medidas instrumentales de color usando un colorímetro (medidor de Cromo Minolta C10) en el espacio de color L*, a*, b*. Los resultados del ANOVA indican que tanto la concentración de ácido láctico como la aplicación de UV-C en los rangos estudiados tienen un efecto significativo (P<0.0001) en la reducción de LM100A1 en carne con un nivel de confianza del 95%. Mientras que para la medida de color el ácido láctico es la única variable significativa. Según el modelo obtenido la máxima reducción de LM100A1 sin cambios de color significativo respecto al control (sin ácido láctico y sin UV-C) es de 1.6 Log y se obtiene con 2.8% de ácido láctico y una dosis de UV-C de 787 mWs/cm². Estos resultados muestran el potencial que tiene la aplicación combinada de UV-C y ácido láctico para reducir la contaminación por *L. monocytogenes* en carne. Dado que estas estrategias son de fácil aplicación pueden implementarse sin mayores inconvenientes a nivel industrial. Se están realizando estudios para evaluar la eficacia de la aplicación combinada de ácido láctico y UV-C sobre otros patógenos.

MA337

Aislamiento y detección de cepas de *Vibrio parahaemolyticus* potencialmente patogénicas desde moluscos

Paulina Orellana¹, Daniel Levet¹, Sebastian Guerrero¹, Viviana Cachicas¹. ⁽¹⁾ Microbiología de Alimentos, Departamento de Salud Ambiental, Instituto de Salud Pública de Chile, Santiago, CL.

Vibrio parahaemolyticus (VP) es una bacteria halofílica de estuarios marinos, bioacumulable en moluscos y productora de gastroenteritis. En Chile, en la última década, los casos clínicos han disminuido a menos de 10 por semana epidemiológica, excepto durante una pronosticada ola de calor en la Región de Los Lagos en el verano del 2013, donde los casos aumentaron a 120 las siguientes dos semanas. Paralelamente, el aislamiento de VP patogénico en muestras de alimentos ha sido dificultoso, debido principalmente a su baja concentración y flora acompañante del mismo género y especie. Con el objeto de aislar y caracterizar VP presente en los moluscos con relación a sus factores de virulencia y riesgo gastroenteritis para la población, en este periodo estival se aislaron 43 cepas de VP desde 204 moluscos vendidos en la comuna de Ñuñoa. Los moluscos se analizaron como especímenes en el enriquecido y en cepas aisladas. Las especies analizadas fueron mejillones, almejas y ostras. El periodo estudiado fue entre el 17 de diciembre y 25 de marzo. Las muestras fueron maceradas y suspendidas en 1/10 de su volumen en Agua Peptonada Alcalina pH 8.6. Incubadas a 35 °C por 18 h y analizadas por PCR en tiempo real para detectar la presencia de genes asociados a patogenicidad como hemolisina directa termoestable (*tdh*) y Sistema de Secreción Tipo Tres (SSTT), así como genes marcadores de especie (hemolisina termo labil, *tlh*). Las muestras de almejas y ostras adquiridas en la semana del 5 de febrero, resultaron positivas para patogenicidad en el enriquecido. Se aislaron fácilmente 18 cepas desde 3 ostras resultando positivas para el gen *tdh* y SSTT, ambos genes relacionados con la isla de patogenicidad N°7, considerada la más importante. Los resultados no se correlacionaron con variables ambientales de aumento significativo de temperatura en la zona productora ni casos clínicos del mismo período. Este hallazgo reafirma la importancia de realizar estudios de riesgo de cada centro productor en relación a su ubicación geográfica y presencia de potenciales patógenos, como la caracterización de los genotipos ambientales presentes anualmente.

Instituto de Salud Pública de Chile.

MA338

Avaliação microbiológica de hortaliças consumidas cruas em serviços de alimentação localizados em Niterói-RJ, Brasil

Beltrão Jhonathan C. C.¹, Gonzalez Alice M. G.¹. ⁽¹⁾ Departamento de Bromatologia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, BR.

A ingestão de hortaliças cruas é uma ótima fonte de nutrientes, fibras, vitaminas e minerais, estando intimamente ligado a manutenção do bem estar do indivíduo, e a redução da incidência de algumas doenças crônicas (obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares). No entanto, seu consumo pode estar relacionado à transmissão de doenças microbianas e parasitárias provenientes do cultivo e manipulação inadequada ao longo do processo produtivo, normalmente associados à ausência de práticas adequadas de higiene. O presente estudo teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de saladas de hortaliças cruas em restaurantes comerciais, além da identificação das enterobactérias isoladas. Foram coletadas 27 saladas de hortaliças individuais e mistas no período de outubro de 2017 a abril de 2018, provenientes de nove restaurantes *self service* localizados na cidade de Niterói, estado do Rio de Janeiro, Brasil. A avaliação da qualidade microbiológica, foi realizada de acordo com a legislação brasileira, através da contagem de coliformes termotolerantes e pesquisa de *Salmonella* spp, além disso, foi realizada a Contagem Bacteriana Total (CBT), pesquisa de *Listeria monocytogenes* e contagem de enterobactérias. As colônias típicas de enterobactérias em meio Violet Red Bile Glicose (VRBG) foram submetidas a identificação através da técnica de espectrometria de massa MALDI-TOF. Nenhuma amostra apresentou *Salmonella* spp. No entanto, 22% das amostras estavam impróprias para o consumo por apresentarem coliformes a 45°C acima do padrão estabelecido pela legislação (2 log UFC/g). As amostras de saladas de hortaliças cruas apresentaram média de 5,27 log UFC/g de CBT, e média de enterobactérias de 4,56 log UFC/g indicando falha de higiene no processamento. Nenhuma amostra apresentou *Listeria monocytogenes*. Doze espécies de enterobactérias foram identificadas, *Klebsiella pneumoniae* (54), *Klebsiella oxytoca* (2), *Klebsiella variicola* (1), *Enterobacter cloacae* (10), *Enterobacter asburiae* (4), *Enterobacter cowanii* (2), *Enterobacter gergoviae* (1), *Escherichia coli* (8), *Raoultella ornithinolytica* (4), *Kluyvera ascorbata* (2), *Pectobacterium carotovorum* (1) e *Cronobacter sakazakii* (1), além de três espécies não fermentadoras *Acinetobacter baumannii* (10), *Acinetobacter haemolyticus* (1) e *Stenotrophomonas maltophilia* (1). De acordo com os resultados as saladas de hortaliças cruas podem oferecer risco à saúde do consumidor, por apresentarem espécies potencialmente patogênicas e carreadoras de multirresistência a antimicrobianos.

Fundação CAPES.

MA339

Produção e estudo cinético de celulose bacteriana em meio de cultura de melão e chá preto

Olga M. Marques¹, Alyson T.C. Jaques², **Susana Carvalho**³, Karina Souza⁴, Gloria M. Vinhas⁵. ⁽¹⁾ Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽²⁾ Engenharia de Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽³⁾ Departamento de Micologia, Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. ⁽⁴⁾ Química industrial, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽⁵⁾ Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR.

A celulose bacteriana (CB) é um biopolímero constituído de fibras nanométricas e dotado de propriedades físicas e químicas superiores às da celulose de origem vegetal. É um produto de vasta aplicabilidade, podendo ser usado na medicina nas indústrias de alimentos, química, farmacêutica, de cosméticos e de materiais. O estudo da produção do biopolímero de celulose utilizando a bactéria *Komagataeibacter rhaeticus*, em regime de batelada, com meio de cultivo a base de melão e chá preto foi o objetivo deste trabalho. Inicialmente foi avaliada a influência das variáveis pH (4, 5, 6), concentração do melão g/L (50, 100, 150) e da concentração do chá preto g/L (4,6,8), na produção da celulose bacteriana. Os parâmetros foram otimizados através de um planejamento fatorial 2³ e os resultados foram utilizados nos ensaios subsequentes. Estudos cinéticos em batelada foram conduzidos comparando-se o melão hidrolisado ao não hidrolisado ambos suplementados com chá preto. Foi realizado ainda estudo cinético com o meio obtido com melão hidrolisado, chá preto e com acréscimo dos nutrientes: peptona, extrato de levedura e ácido cítrico. Os resultados do planejamento fatorial mostraram que a concentração de chá, na faixa de valores testados, não exerceu influência na produção do biopolímero, enquanto que a concentração melão e o pH inicial do meio foram bastante significativos para o processo de produção. Foi observado que houve uma interação entre o pH e melão e que os maiores valores foram obtidos no pH maior (6,0) e com o melão na concentração menor (50g/L). O estudo cinético mostrou que a hidrólise do melão beneficia o processo porque eleva o percentual de açúcar disponível, favorecendo a atuação das bactérias e conseqüentemente elevando a produção do biopolímero. Observou-se ainda que suplementação do meio com peptona, extrato de levedura e ácido cítrico, elevou ainda mais o percentual de produção. A cinética da formação da celulose bacteriana na melhor condição ocorreu em 10 dias com 91,03% dos açúcares consumidos e com uma produção máxima de 12,931g/L do biopolímero. A produtividade foi de 0,054 g.L⁻¹h⁻¹ e o coeficiente de conversão de substrato em produto (YP/S) de 0,2311g/g.

MA340

Qualidade microbiológica de queijo minas padrão

Castro Bruna Godoi¹, Garcia Lorena N. Haber¹, Encide Sampaio Aryele Nunes Da Cruz¹, Silva Felipe Chaimsohn¹, Azevedo Everton Cruz¹, Velame Marise Santiago¹, Pinto José Paes¹, Baldini Eduardo Delbon¹, Possebon Fábio Sossai¹, Germano Biondi¹, Martins Otávio Augusto¹. ⁽¹⁾ Serviço de Orientação à Alimentação Pública do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, São Paulo, BR.

O queijo minas padrão é um produto elaborado com leite pasteurizado, fermentado com culturas mesófilas e adição de coalho. Esse queijo passa por um processo de maturação artesanal, possui uma casca firme de cor amarelada, sabor mais marcante e ácido. O presente trabalho tem por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de queijo minas padrão. Quarenta amostras foram coletadas de duas microrregiões (Uberlândia e Patos de Minas) da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba do Estado de Minas Gerais, Brasil. Os ensaios microbiológicos foram contagens de enterobactérias, *Escherichia coli*, coliformes a 35°C, *Staphylococcus* coagulase positiva e pesquisa de *Salmonella* spp. As quantificações foram realizadas a partir de alíquotas das diluições 10⁻², 10⁻³ e 10⁻⁴ e incubadas em aerobiose a 35±1°C durante 48 horas cultivados em Placa 3M™ Petrifilm™ específicos de enterobactérias, coliformes a 35°C e *Escherichia coli*, e ágar Baird-Parker para *Staphylococcus* coagulase positiva acrescido do teste da coagulase em plasma de coelho. Foram realizadas na pesquisa de *Salmonella* spp. as etapas de pré-enriquecimento em Água Peptonada Tamponada, enriquecimento seletivo em Caldo Tetratoato e Caldo Rappaport Vassiliadis, plaqueamento seletivo em Ágar Xilose Lisina Desoxicolato e Ágar Sulfito de Bismuto, identificação bioquímica presuntiva em Ágar ferro-açúcar triplo e Ágar Lisina Ferro e identificação antigênica antissoro polivalente, e incubações sob aerobiose 35±1°C por 24 horas entre as etapas, exceto 42±0,5°C no enriquecimento seletivo. Em Uberlândia, os resultados foram de 55 %, 30 %, 35 % e 25 % superiores a 10³ UFC/g para as contagens de enterobactérias, *Escherichia coli*, coliformes a 35°C e *Staphylococcus* coagulase positiva, respectivamente. Em Patos de Minas, os resultados foram de 45 %, 35 %, 20 % e 20 % superiores a 10³ UFC/g para as contagens de enterobactérias, *Escherichia coli*, coliformes a 35°C e *Staphylococcus* coagulase positiva, respectivamente. 5 % das amostras analisadas foram positivas à pesquisa de *Salmonella* spp. na microrregião de Uberlândia. Levando em consideração a microrregião analisada (Uberlândia e Patos de Minas), concluímos que (a) qualidade microbiológica do queijo minas padrão é inadequada para o consumo humano pela péssima condição higiênica; e (b) os órgãos governamentais precisam intensificar a fiscalização na produção.

MA341

Cepas bacterianas nativas como potenciales agentes de biocontrol para *Monilinia fructicola* en carozos

Bárbara Oliva², Josinna Barahona², Fabián Figueroa¹, Claudia Reinoso², Javier Nuñez¹, **Miguel Castro**². ⁽¹⁾ Escuela de Agronomía, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás, Santiago, CL.

La Moniliasis o podredumbre parda es causada por el hongo *Monilinia fructicola*, está distribuida mundialmente y afecta principalmente frutales de carozos tanto en pre como poscosecha. Esta enfermedad, anualmente genera grandes pérdidas la industria nacional. Actualmente, el control de *M. fructicola* está basado en la aplicación de fungicidas químicos sintéticos de alta toxicidad, una alternativa para disminuir la utilización de este tipo de sustancias es el desarrollo de sistemas eficientes de control biológico, los cuales, en las últimas dos décadas han surgido como una estrategia eficaz de defensa contra otros hongos fitopatógenos. El objetivo de este trabajo es evaluar la eficiencia de cepas bacterianas nativas como biocontroladores para el hongo fitopatógeno *M. fructicola* en campo. Previamente a partir de muestras de suelo, tejidos vegetales y agua procedente de campos infectados con el hongo se obtuvo tres aislados bacterianos que mostraron actividad antifúngica estable *in vitro* contra *M. fructicola* denominados JMA, JMH2 y JMC1. Mediante el uso de técnicas microbiológicas y moleculares se determinó que JMA pertenece al género *Staphylococcus* mientras que JMH2 y JMC1 corresponden a *Bacillus*. Los tres aislados se utilizaron en forma independiente como principio activo de una formulación base para su aplicación en campo. La metodología experimental consistió en un Diseño en Bloques Completos al Azar, con un factor que constó de 6 tratamientos fungicida, más un testigo o control y la unidad experimental fue de 3 plantas. Finalizado el ensayo, se determinaron los niveles de incidencia del hongo sobre la fruta al momento de la cosecha. Se observó que la fruta proveniente del tratamiento convencional con agroquímicos mostró significativamente menor cantidad de fruta afectada. Por otro lado, al comparar los resultados de las bacterias evaluadas se determinó que el efecto protector de JMH2 es comparable al ejercido otros controladores biológicos existentes en el mercado.

MA342

Desarrollo de películas antifúngicas basadas en nanopartículas de plata dispersas en una matriz mixta de zeolita-polímero

Carolina Chiericatti¹, Débora Caribaux¹, María Sol Rodríguez¹, Vanesa Ludemann², Juan Manuel Zamaro³. ⁽¹⁾

Departamento de Tecnología de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, AR. ⁽²⁾ Departamento de Ciencia y Tecnología, Facultad de Ingeniería de Alimentos, Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, AR. ⁽³⁾ Instituto de Investigaciones en Catálisis y Petroquímica, INCAPE (FIQ, UNL-CONICET), Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, AR.

La contaminación de alimentos con hongos es un problema para la industria alimentaria y la aplicación de fungicidas no siempre es conveniente, ya que no solo aumentan el costo de la producción sino que además varios mohos han adquirido capacidad de resistencia. Una opción, es la aplicación mediante un film funcional que dosifique el ingrediente activo. En este trabajo estudiamos la inmovilización de Ag-zeolita en una película de matriz polimérica, que se evalúa contra *Penicillium roqueforti* moho representativo como contaminante de productos lácteos que desarrolla a baja tensión de oxígeno. Se preparó Ag (10% p/p)-mordenita por intercambio iónico de Na-mordenita y luego se estudiaron alternativas para inmovilizar dichas partículas en films poliméricos de Polieterimida (PEI), Polisulfona (PSF) y Poliimida (PI). Se analizó la actividad antifúngica de los films colocándolos en tubos con 9 ml de de cultivo CEM (caldo extracto de malta), sembrados con 1 mL de una suspensión de concentración 10^5 - 10^6 propágulos fúngicos/mL. Se incubó a 28°C en condiciones de baja tensión de oxígeno y luego se realizó el recuento en placa (UFC/mL) a 0, 12, 24, 48 y 72 h en medio de cultivo MEA (agar extracto de malta). Paralelamente, se realizaron los recuentos (UFC/mL) de las cepas ensayadas sin el antifúngico, como control. Los resultados obtenidos mostraron que Ag (10 %p/p)-mordenita presenta una muy buena acción antifúngica frente a *P. roqueforti*, reduciendo 6 log a las 12 h de incubación. Cuando se evaluaron los films de matriz mixta, el obtenido con PEI fue el más eficaz ya que logró bajar 5 log a las 12 h de incubación en tanto, PSF y PI lograron una reducción de 1,7 log y 2 log, respectivamente a las 72 h. Se obtuvieron películas mixtas Ag-zeolita/polímero que presentaron buena integridad física. Los cristales de Ag-zeolita exhibieron una elevada actividad antifúngica, y ésta se redujo parcialmente en los films conteniendo polisulfona y poliimida. Sin embargo, las películas de Ag-zeolita/polieterimida fue la más efectiva de todas. El estudio demuestra la viabilidad de una alternativa nanotecnológica para la conservación de alimentos susceptibles de degradación por hongos.

Se agradece el apoyo financiero de la Agencia Santafesina de Ciencia, Tecnología e Innovación (ASaCTel) Proyecto N° 2010-037-16 y de la ANPCyT Proyecto PICT N° 896.

MA343

Análise do perfil de resistência antimicrobiana em *Enterococcus faecalis* de isolados de alimentos de origem animal

Christiano Franciele D.P.¹, Falcão Daiane A¹, Frazzon Ana P. G¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia e Imunologia, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR.

Bactérias do gênero *Enterococcus* apresentam-se como cocos Gram-positivos de cadeia curta. São micro-organismos da microbiota intestinal dos seres humanos e de diferentes nichos. Nos alimentos desempenham papel ambíguo, enquanto algumas linhagens possuem um papel benéfico durante a maturação de determinados produtos fermentados outras cepas estão relacionadas à deterioração de alimentos. Outra característica importante é a capacidade de adquirir diferentes determinantes genéticos que lhes conferem resistência a antimicrobianos, uma vez que através da cadeia alimentar pode ser transferida ao ser humano. O objetivo do estudo foi determinar o perfil de resistência aos antimicrobianos de *E. faecalis* isolados de alimentos provenientes da cidade de Porto Alegre-RS (Brasil). Ao todo 89 *E. faecalis* isolados de queijo-colonial (n=36-), ricota (n=36) e carne de frango crua (n=17) previamente identificados por PCR e Maldi-TOF foram selecionados. O teste para susceptibilidade aos antimicrobianos foi realizado pelo método de Ágar-difusão onde 12 antibióticos comumente empregados na clínica humana e veterinária foram testados. A presença de genes de resistência foi determinada por PCR somente nas cepas que apresentaram resistência ou resistência-intermediária aos antimicrobianos: Eritromicina (genes *ermA*, *ermB*, *ermC* e *msrC*), Ciprofloxacina/Norfloxacina (gene *gyrA*), Tetraciclina (genes *tetL*, *tetM*, *tetS*) e Gentamicina (gene *aac(6)/aph(2)*). Todas as cepas selecionadas foram sensíveis a Ampicilina, Cloranfenicol, Nitrofurantoína, Norfloxacina e Vancomicina. Dezoito (20,22%) cepas apresentaram fenótipo de resistência a Ciprofloxacina, 15 (16,85%) Estreptomicina, quatro (4,49%) a Gentamicina e nove (10,11%) a Linezolida. Os maiores índices de resistência foi observado para Eritromicina (60-67,42%), Rifampicina (39-43,82%) e Tetraciclina (55-61,79%). Em relação as genes de resistência, 27,7% cepas isoladas de frango apresentaram o gene *aac(6)/aph(2)*, 38,8% o *ermB*, 58,3% o *tetM* e 58,3 o *tetL*. Dos isolados de queijo-colonial, 52,7% cepas apresentaram o gene *ermB*, 5,5% o *msrC* e 63,8% o *tetM*. Nos isolados provenientes de ricota, 17,64% das cepas foram positivas para o gene *gyrA*, 23,62% o gene *ermB*, 11,76% o gene *msrC* e 35,29% o gene *tetM*. Estes dados sugerem atenção especial aos micro-organismos provenientes de todos os três grupos de alimentos utilizados como fontes de isolamento devido a resistência antimicrobiana encontrada. Também serve de alerta para a importância da cadeia alimentar na disseminação e transferência de genes.

PIBIC/Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

MA344

Ocorrência de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. em carcaças de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) em um Abatedouro frigorífico de Uberlândia, MG, Brasil

Yago Nascimento¹, Priscila Costa¹, Amanda Moura¹, Sthéfany Dias¹, Nayla Ventura¹, Letícia Costa¹, Débora Garcia¹, Frederico Costa², Marcus Cossi¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, BR. ⁽²⁾ Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, BR.

A rã-touro é atualmente a principal espécie utilizada na ranicultura no Brasil. O consumo de sua carne tem se mostrado um mercado em ascensão, principalmente pelos benefícios que a carne de rã representa para a saúde do consumidor. Por esse motivo, tem sido cada vez mais importante o cuidado quanto à contaminação microbiológica dessa carne durante todo seu processamento. O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. na linha de abate de rãs-touro em um abatedouro frigorífico de Uberlândia-MG, Brasil. 98 carcaças de rã-touro foram analisadas em dois pontos da linha de abate: após a insensibilização (A) e antes da embalagem (B). Para análise de presença de *E. coli* utilizou-se o Petrifilm™ EC e para *Salmonella* spp. seguiu-se a ISO 6579 com confirmação por PCR (gene *ompC*). Isolados confirmados pelo PCR foram submetidos ao teste de sensibilidade à nove antimicrobianos, sendo classificados em resistentes ou sensíveis de acordo com a CLSI (2003). A frequência de positividade entre as etapas A e B foi avaliada pelo Teste Qui-quadrado para *E. coli* e Teste Exato de Fisher para *Salmonella* spp. ($p < 0,05$). Na etapa A 88,8% das amostras apresentaram presença de *E. coli*, enquanto na etapa B foram apenas 53,1% positivas ($p < 0,05$). Cinco carcaças da etapa A foram positivas para *Salmonella* spp. (5,1%), enquanto na etapa B somente três foram positivas (3,1%) ($p > 0,05$). Dos oito isolados obtidos de *Salmonella* spp., um foi resistente a ampicilina (AMP), cefalexina (CFE), ciprofloxacina (CIP) e cefotaxima (CTX), um resistente a AMP, CIP e CTX, um resistente a azitromicina (AZI) e CFE e um resistente a apenas AMP. Todos foram sensíveis à meropenem (MER), ceftriaxona (CRO), neomicina (NEO) e tobramicina (TOB). Os resultados obtidos indicam que *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. estão presentes na linha de abate de rã-touro, porém a baixa prevalência na etapa B indica que o processo de abate está contribuindo para a redução da contaminação final na carcaça. Já a resistência de alguns isolados de *Salmonella* aos antimicrobianos testados, alerta para a importância do monitoramento do abate no intuito de reduzir os riscos para a saúde do consumidor.

Fundação de Amparo à Pesquisa de MG (FAPEMIG).

MA345

Viability of microorganisms isolated from Brazilian kefir grains after freeze drying

Karen Costa¹, Guimarães Gabriele Moreira¹, Mendes Ingrid Sandy¹, Costa Mariana Silva¹, Ribeiro Gabriel Ferrari¹, Miranda Vivian Correia¹, Júnior Mário Abatemarco¹, Nicoli Jacques Robert¹, Elisabeth Neumann¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, BR.

Kefir is a fermented beverage produced by inoculating the kefir grains into substrates like milk and water with brown sugar. The grains are composed by a diversified microbiota of lactic acid bacteria (LAB), acetic acid bacteria (AAB) and yeasts, surrounded by a polysaccharide matrix. Several benefits are related to kefir consumption, however in Brazil the production of the beverage is restricted to the domestic environment, since the differences in the microbiome of the grains hinder its standardized industrial production. Herein, we proposed to evaluate the viability and revival capacity microorganisms isolated from Brazilian milk and water kefir grains, after freeze drying and storage at 25 ° C and 5 ° C, to select strains that can compose a starter culture for industrial kefir production in Brazil. For this purpose, we aimed to select strains that maintain their viability and good growth capacity when inoculated into substrate after dehydration process. Five yeast strains of the genus *Saccharomyces*, *Kazachstania* and *Lachancea* and six strains of LAB (*Lactobacillus* spp., *Lactococcus lactis* and *Leuconostoc mesenteroides*) were freeze dried in the presence of three cryoprotectants (sucrose 15%, skim-milk 10% and trehalose 5%). Immediately after lyophilization and during storage at 25°C and 5°C, the enumeration of viable cells was performed. At the same times, the revival capacity of lyophilized strains was evaluated by measuring the growth after inoculum in specific broth. For all strains, the presence of cryoprotectants increased the ability to resist the freeze-drying process when compared to the lyophilized control without adding them. The temperature of 5°C proved to be more efficient for the maintenance of viability and revival capacity. *Saccharomyces cerevisiae* 9M, *Lactobacillus casei* 17U, *Lactococcus lactis* 4U and *Leuconostoc mesenteroides* 11U have maintained the number of viable cells at the level established by *Codex Alimentarius* for kefir (4.0 and 7.0 log cfu/g of yeast and LAB, respectively) during the trial time. For these reasons, these cultures were selected as candidates to compose a starter culture for kefir production.

Financial support: FAPEMIG, CNPq, CAPES e PRPq/UFMG.

MA346

Identificação de *Salmonella* spp. em etapas da linha de abate de rãs-touro (*Lithobates catesbeianus*) e avaliação da resistência à antimicrobianos

Nayla Kellen De Oliveira Ventura², Pedro Henrique Gomes Costa², Luiz Felipe Dias Dos Santos Costa¹, Priscila Cristina Costa², Letícia Roberta Martins Costa², Yago Fernandes Nascimento², Phelipe Augusto Borba Martins Peres², Frederico Augusto De Alacântara Costa², **Marcus Vinicius Coutinho Cossi²**. ⁽¹⁾ INGEB, Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, BR. ⁽²⁾ Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, BR.

Dentre os diversos elos da cadeia de produção da rã-touro, o abate se destaca como um dos mais importantes do processo, pois possui características que influenciam a contaminação, principalmente microbiológica, das carcaças. Assim, o presente estudo teve como objetivo identificar *Salmonella* spp. na linha de abate de rãs em um abatedouro frigorífico localizado no município de Uberlândia-MG-Brasil e avaliar os perfis de resistência dos isolados à antimicrobianos. Coletou-se dados de 30 carcaças, nas seguintes etapas do abate: após a insensibilização (A), após a esfolagem (B), após evisceração (C), antes da embalagem (D). Para identificação de *Salmonella* spp. seguiu-se o protocolo ISO 6579 com confirmação por PCR (gene *ompC*). Isolados positivos foram submetidos ao teste de resistência à cinco antimicrobianos, sendo classificados em resistentes ou sensíveis de acordo com a CLSI (2003). As frequências de amostras positivas em cada etapa do abate foram comparadas pelo Teste Exato de Fischer ($p < 0,05$). Oito carcaças foram positivas para *Salmonella* spp. (6,6%) sendo elas: três na etapa A (3/30 - colônias A1, A2a; A2b; A7); três em B (3/30 - B2; B3; B6); duas em C (2/30 - C4 e C8) e nenhuma na etapa D. Não foi observada diferença entre a distribuição do patógeno entre as etapas do abate ($p > 0,05$). A avaliação da resistência dos nove isolados de *Salmonella* spp. aos antimicrobianos indicou que 78% (7/9) foi resistente à Ampicilina (AMP); 67% (6/9) à Eritromicina (ERI), 33% (3/9) à Cefalexina (CFE), 22% (2/9) à Cefotaxima (CTX) e todas foram sensíveis à Ciprofloxacina (CIP). Nota-se que as colônias A2a e A2b foram oriundas de uma mesma carcaça, porém, apresentaram perfis de resistência diferentes, sendo a primeira resistente à AMP, ERI e CTX e a segunda à AMP e ERI. Este resultado pode indicar a existência de mais de um clone do patógeno nesta carcaça. Conclui-se que apesar da presença do patógeno na linha de abate de rã-touro a toaleta tem sido eficiente na remoção da bactéria, porém a existência de isolados resistentes aos antimicrobianos testados é motivo de preocupação e o monitoramento é indicado para diminuição dos riscos à saúde do consumidor.

FAMEV; PROPP-UFU; PET-MEC; CAPES; FAPEMIG.

MA347

Potencial antifúngico do óleo essencial de cravo no controle da antracnose em mamão pós-colheita

Batista De V. S Daniele¹, Silva Franceli Da¹, Reis Ronielli Cardoso², Almeida Jamille Mota³, Jesus Jaciene Lopes De².

⁽¹⁾ CCAAB, Programa de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BR.

⁽²⁾ Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BR.

⁽³⁾ Farmácia, Faculdade Maria Milza, Governador Mangabeira, BR.

A antracnose é uma das principais doenças do mamão (*Carica papaya*). A forma de controle se dá por meio da utilização de fungicidas sintéticos que podem induzir resistência ao *Colletotrichum* sp. O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial antifúngico do óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*) no controle da antracnose em mamão pós-colheita. Os experimentos foram realizados nos laboratórios de Fitoquímica da UFRB e de Ciência e Tecnologia de Alimentos/Embrapa Mandioca e Fruticultura. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger por 150 min e armazenado em frasco de vidro sob refrigeração. Os mamões da variedade THB foram adquiridos no estágio 1 de maturação (até 15% da casca amarela), sanitizados e submetidos a inoculação artificial com o *Colletotrichum* sp. e incubados em câmara úmida por 24 horas. Após esse período procedeu-se a aspersão da solução de óleo essencial de cravo nas concentrações: T1 – 750 µL. L-1; T2- 1250 µL. L-1; T3- 1750 µL. L-1; T4- 2250 µL. L-1; T5- 2750 µL. L-1; T6- controle Tween; T7- controle com fungo. Os frutos permaneceram em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $70 \pm 5\%$ UR) até atingirem o estágio 5 de maturação (75% ou mais da casca amarela). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em triplicata, com 10 frutos por tratamento. Avaliou-se diariamente a incidência e o desenvolvimento da lesão por meio da medida dos diâmetros em dois sentidos diametralmente opostos. Observou-se a incidência da antracnose em todos os tratamentos. As menores lesões (0,294 cm; 0,326 cm e 0,348 cm) foram observadas nos tratamentos com os maiores teores de óleo essencial, T3, T4 e T5, que não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0.05$). Possivelmente esse comportamento está associado ao eugenol, que é um dos compostos majoritários do óleo essencial de cravo, com reconhecida ação antifúngica. Recomenda-se a concentração 1750 µL. L-1 de óleo essencial de cravo no controle da antracnose no mamão, por apresentar o efeito satisfatório e utilizar menor quantidade de óleo em comparação aos demais tratamentos.

CAPES, CNPq, UFRB, EMBRAPA.

MA348

Avaliação da atividade antimicrobiana de extracto de própolis vermelha de Alagoas frente a cepas *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*

Dabbur Flavia Scigliano¹, Vasconcelos Camila Calado². ⁽¹⁾ Pharmacy Department, LaCos, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, BR. ⁽²⁾ Laboratório Farmácia Escola, Centro Universitario, Centro Universitario Cesmac, Maceio, BR.

A própolis é uma importante alternativa terapêutica do ponto de vista econômico e de eficácia farmacológica por ser de fácil obtenção e por apresentar inúmeras propriedades ativas, como antisséptica, antifúngica, anti-inflamatória, antibacteriana e antioxidante. Em 2006 a própolis produzida no estado de Alagoas foi classificada como pertencente ao grupo 13, sendo observado que as abelhas coletavam o exsudato vermelho da superfície da planta *Dalbergia ecastophyllum* (L), localizada nos manguezais, sugerindo a origem botânica da própolis vermelha. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana de seis extratos etanólicos da própolis vermelha obtidos de diferentes produtores, sendo as amostras adquiridas por compra direta. A atividade antimicrobiana foi realizada frente aos micro-organismos (MO) *Escherichia coli* ATCC 51446 e *Staphylococcus aureus* ATCC 9144 através da técnica de difusão em disco em meio de cultura ágar Muller Hinton. Utilizou-se o cloranfenicol como controle positivo e o álcool 80 % como controle negativo, sendo todas as análises efetivadas em triplicata. As placas foram incubadas por 24 h a 37 °C e os resultados foram obtidos através do diâmetro dos halos de inibição bacteriana. Verificou-se que para todas as amostras não ocorreu formação de halo de inibição frente ao MO *Escherichia coli*. Já frente ao *Staphylococcus aureus*, todas as amostras apresentaram halo de inibição, sendo a amostra "A" aquela que apresentou maior halo. Desta forma, este trabalho ratifica a atividade antimicrobiana do extrato etanólico de própolis vermelha frente ao *Staphylococcus aureus*. Entretanto, deve-se levar em consideração o método de extração realizado, em função da variação dos compostos bioativos extraídos, responsáveis pela atividade antimicrobiana.

Centro Universitário Cesmac.

MA349

Molecular analysis of *Salmonella* spp. by Pulsed-Field Gel Electrophoresis

Dantas Stéfani T. A.¹, Rossi Bruna F.¹, Bonsaglia Erika C. R.¹, Ary Fernandes Júnior¹, Campos Fernanda C.¹, Caroline Faganello¹, Vivian Ricardo C.², Pinto José P.A.N.², Giovannetti Ivana C.¹, Camargo Carlos H.³, Tiba-Casas Monique R.³, Rall Vera L. M.¹. ⁽¹⁾ Department of Microbiology and Immunology, Institute of Biosciences, São Paulo State University, Botucatu, BR. ⁽²⁾ Department of Veterinary Hygiene and Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, São Paulo State University, Botucatu, BR. ⁽³⁾ Bacteriology Division, Adolfo Lutz Institute, São Paulo, BR.

Salmonella is a major causative cause of foodborne diseases and contamination occurs primarily through poultry and contaminated egg consumption, causing mild intestinal disorders or more severe symptoms, such as septicemia or death. Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) has been described as one of the most widely used molecular methods for typing and consists of DNA fragments separation obtained by bacterial chromosome digestion with restriction endonucleases, and then electrophoresis in a pulsating field, discriminating fragments of different sizes. We evaluate *Salmonella* Heidelberg, *S. Enteritidis*, *S. Ohio*, *S. Agona* and *S. Kentucky* persistence in two different types of mats (canvas and polystyrene) in a poultry slaughterhouse during 20 consecutive weeks. In each collection, 6 samples from each type of mat were analyzed by swabs moistened with peptone water, and preincubated in this medium for 35°C/24h, followed by enrichment in the Tetrathionate and Rappaport Vassiliadis broths, and plated on to XLD and SS agar. After characterization, strains were serotyped by Oswaldo Cruz Foundation, RJ (Fiocruz) and the biofilm production assay was performed in polystyrene microplate, using brain heart infusion broth (BHI) added with 0,5% glucose. PFGE was performed with 11 isolates of *Salmonella* Heidelberg, 7 of *S. Enteritidis*, 5 of *S. Ohio*, 3 of *S. Agona* and 2 strains of *S. Kentucky*, according to PulseNet's standard protocol, using XbaI as a restriction enzyme, and ran at the CHEF Mapper lasting 18 hours. Pattern comparisons were made using Bionumerics software (5.0), with tolerance and optimization at 1.5%. Our results revealed clusters with more than 80% similarity between strains of same group, showing clone's persistence and dispersion of these clones in the environment, since these isolates were obtained up to 18 weeks of collection and in both mat materials studied. The classification of some isolates as biofilm producers may favor the persistence of these strains in the environment increasing the risk of carcass contamination, compromising the entire production line.

Capes (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel).

MA350

Viabilidade de *Lactobacillus mucosae* CNPC007 em bebida láctea isenta de lactose e com polpa de *Syzygium cumini* L

Dantas Débora Santos¹, Buriti Flávia Carolina Alonso², Silva Girlênia Santos³, Florentino Eliane Rolim², Dos Santos Karina Maria Olbrich⁴. ⁽¹⁾ Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba ⁽²⁾ Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, BR. ⁽³⁾ Química Industrial, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, BR. ⁽⁴⁾ Engenharia de Alimentos, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, BR.

O número de indivíduos com intolerância à lactose vem aumentando consideravelmente. Diante disto, a enzima β -galactosidase tem sido uma alternativa viável para produção de bebidas lácteas fermentadas com baixo teor ou isentas desse açúcar. A adição de cepas probióticas nativas e de frutas regionais otimiza sensorial e nutricionalmente o produto final, além de reduzir seu custo e valorizar a biodiversidade local. O estudo avaliou a viabilidade do probiótico nativo *Lactobacillus mucosae* CNPC007 e do starter *Streptococcus thermophilus* TA40 em bebidas lácteas adicionadas (A = teste) ou não (B = controle) de β -galactosidase e da polpa de *Syzygium cumini* L. (jambolão). As bases lácteas foram preparadas usando soro de leite, leite em pó desnatado e açúcar. A base A foi tratada com 0,03 g/L de enzima por 24h sob refrigeração a 4 ± 2 °C. Os microrganismos starter e probiótico fermentaram as bases a 43 ± 2 °C por cerca de 7h. A polpa de fruta (15 g/100 mL) foi adicionada ao final da fermentação e as bebidas foram armazenadas a 4 ± 2 °C. Foram avaliados o pH e a viabilidade das culturas starter e probiótica durante a fermentação nos tempos inicial (T0) e final (TF) e no produto final refrigerado por 1 dia (D1). A multiplicação de *S. thermophilus* nos produtos (T0; TF; D1: 6,37; 9,31; 9,13 log UFC/mL e T0; TF; D1: 6,23; 9,00; 8,91 log UFC/mL, A e B, respectivamente) foi maior que de *L. mucosae* (A – T0; TF; D1: 6,82; 7,00; 6,91 log UFC/mL e B – T0; Tf; D1: 6,69; 7,14; 7,20 log UFC/mL) por se tratar de uma cultura inicializadora, porém o probiótico alcançou viabilidade superior ao recomendado para efeito *in vivo* (6,00 log UFC/mL), tanto na presença da enzima como do jambolão. A adição da polpa resultou em um discreto aumento do pH nas duas bebidas (A – TF; D1: 4,60; 5,06 e B – TF; D1: 4,76; 4,98). Os resultados sugerem que a adição de β -galactosidase e de *S. cumini* L não afetaram o desenvolvimento das culturas, tornando o produto mais funcional e promissor no mercado como alternativa para intolerantes à lactose.

MA351

Avaliação bacteriológica e físico-química dos produtos de pescado em conserva durante a validade comercial posterior à abertura da lata comercializada no mercado brasileiro

De Assis Letícia Oliveira^{1,2}, Maria Carmela Kasnowski², Maia Juliana G. O.², Franco Robson Maia². ⁽¹⁾ Programa de Pós-Graduação em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense. ⁽²⁾ Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, BR.

A validade comercial é o período de tempo em que o produto deve manter o padrão de qualidade exigido posterior ao processamento. Seu estudo visa garantir à segurança do alimento destinado a população. Objetiva-se, avaliar mediante análises bacteriológicas e físico-químicas, a eficiência do processo de esterilização comercial e condições de armazenamento dos enlatados abertos e estocados em refrigeração (4°C) durante o prazo comercial. Cada amostra era composta por quatro latas, em perfeito estado físico, mesma marca comercial (A, B, C e D), espécie de pescado, lote e meios de cobertura (molho de tomate e/ou óleo comestível). O conteúdo foi homogeneizado e dividido para os dias de análises: dia 0 (dia de abertura da lata), dia 1 (24 horas), dia 2 (48 horas) e dia 7 (168 horas). As amostras dos dias 1, 2 e 7 foram mantidas sob refrigeração em sacos estéreis. As análises bacteriológicas incluíram: contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas, contagem de bactérias heterotróficas aeróbias termófilas, contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrófilas, contagem de bactérias anaeróbias sulfito redutoras a 46°C, contagem de *Bacillus* spp., contagem de bactérias esporuladas e contagem de bactérias produtoras de aminas biogênicas. A análise físico-química procedida foi determinação do potencial hidrogeniônico (pH). Todas as análises seguem legislações nacionais e internacionais vigentes. Das seis amostras analisadas com base no meio de cobertura de molho de tomate, foram observados crescimento de mesófilas, termófilas, psicrófilas, esporuladas e *Bacillus* spp. nas marcas A e B. Na marca C houve apenas crescimento de mesófilas e termófilas. Somente B e C houve crescimento de bactérias produtoras de histamina. Em relação às amostras com cobertura de óleo comestível, as marcas A e B houve desenvolvimento de mesófilas, termófilas, esporuladas e *Bacillus* spp. Na marca D foi detectado apenas o crescimento de mesófilas e termófilas. Somente na marca B verificou-se o crescimento de psicrófilas. B e D tiveram bactérias produtoras de histamina. Todas as amostras apresentaram valores de pH dentro dos padrões das legislações. Conclui-se que o binômio tempo/temperatura utilizado pelas indústrias de todas as marcas não foi adequado para redução da microbiota vegetativa e esporulada, para obtenção de alimento seguro.

Este estudo foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

MA352

Aproveitamento dos resíduos madeireiros de espécies florestais da Amazônia no controle alternativo de fungos aflatoxigênicos

Sousa Sara Freitas¹, Kasper Aline Aparecida München¹, Sousa Júnior José Jeosafá Vieira², Liberal Talita Cunha², Escher Sílvia Katrine Silva², Moutinho Victor Hugo Pereira³, Barata Lauro Euclides Soares¹. ⁽¹⁾ Laboratório P&DBio - Pesquisa & Desenvolvimento de Produtos Naturais Bioativos, Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Microbiologia, Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Tecnologia da Madeira, Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, BR.

O consumo de alimentos contaminados, além da exposição dos seres humanos à micotoxinas tornou-se uma questão de saúde pública em proporção mundial, sendo que a contaminação destes alimentos podem ocorrer nos mais variados lugares, e em diferentes condições, desde o campo, antes e após a colheita, no transporte, e durante o tempo de armazenamento do produto. A redução e eliminação deste fator tornou-se um desafio constante, sendo importante o estudos de novos métodos e produtos alternativos efetivos. Desta forma, foi avaliado o potencial de aplicação de extratos etanólicos dos resíduos (galhos) de *Hymenaea* spp. e *Manilkara* spp. no controle alternativo de fungos aflatoxigênicos. Os resíduos florestais (galhos) de árvores de Jatobá (*Hymenaea* spp.) e Maçaranduba (*Manilkara* spp.) provenientes de uma área de manejo florestal próximo a cidade de Santarém, Pará, Brasil, foram desdobrados e obtidos a serragem, e posteriormente secos em estufa a 40°C por 96 horas para a extração dos metabólitos secundários com álcool etílico em aparelho Soxhlet. Foi então avaliado o rendimento dos extratos brutos e a ação antifúngica através de microdiluição em caldo para determinação da concentração mínima inibitória (CMI) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) contra *Aspergillus niger* e *Aspergillus parasiticus*. Para as extrações, foram obtidos materiais de 3 árvores, sendo cada uma com 3 repetições. Para o gênero *Hymenaea* spp. o rendimento médio do extrato bruto foi de 16,09% e para *Manilkara* spp. de 6,33%. O extrato etanólico de Maçaranduba foi ativo até a concentração de 1000 µg/mL para *A. niger* e 125 µg/mL para *A. parasiticus*. O extrato etanólico de *Hymenaea* spp. foi ativo contra as duas espécies de *Aspergillus* até a concentração de 125 µg/mL. O fungicida comercial Azimut® a 1% (controle) não foi efetivo contra nenhum dos microrganismos testados. Diante do exposto, verifica-se que tanto o extrato bruto de *Hymenaea* spp. como de *Manilkara* spp. foram ativos no controle desses patógenos, comprovando que os resíduos madeireiros podem ser uma fonte alternativa de moléculas antifúngicas efetivas no controle de fungos aflatoxigênicos do gênero *Aspergillus*.

À Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) e a Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas do Pará (FAPESPA).



MA353

Producción y caracterización de sustancias antimicrobianas producidas por *Streptococcus lutetiensis* cepa A45212 aislada de un alimento fermentado tradicional de México

Gloria Díaz¹, Gabriela Mellado¹, Elizabeth Lara¹, Sandra Pérez¹, Carmen Wachter¹. ⁽¹⁾ Alimentos y Biotecnología, Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, MX.

Entre las bebidas y los alimentos fermentados autóctonos de México se encuentra el pozol, bebida de maíz de origen maya que forma parte de la alimentación básica de muchos grupos étnicos del sur de México (Wacher, 2014). La microbiota del pozol está constituida por bacterias, mohos y levaduras. Entre las bacterias que habitan el pozol, destacan las bacterias del ácido láctico (BAL) (Wacher y col., 2000). En un trabajo previo, se evaluó la capacidad de una colección de cepas de *Streptococcus* de producir sustancias antimicrobianas de tipo proteico (Maldonado, 2016). Se seleccionó la cepa *S. lutetiensis* A45212 por presentar el mejor efecto antimicrobiano frente a bacterias patógenas y de descomposición presentes en alimentos. El objetivo de este proyecto es determinar las mejores condiciones para el crecimiento y la producción de proteínas con actividad antimicrobiana por *S. lutetiensis* A45212, así como precipitar y caracterizar dichas sustancias. Para evaluar el efecto del pH inicial (5.5, 6, 6.5, 7, 7.5 y 8) y de la temperatura (30 y 37°C) en el crecimiento y la producción de sustancias proteicas con actividad antimicrobiana, se utilizó el medio MRS inoculado al 1% con *S. lutetiensis* A45212. Las mejores condiciones de pH y temperatura se determinaron ensayando la actividad antimicrobiana sobre *L. monocytogenes* con el método de difusión en agar, cuantificando proteína total y la concentración de la bacteria durante 24 horas de incubación en cada una de las condiciones. Para concentrar las proteínas con actividad antimicrobiana se utilizaron los métodos de precipitación con sulfato de amonio y de adsorción-desorción. Mediante una electroforesis SDS-PAGE se estimó el peso molecular de la proteína y mediante un zimograma, se observó su actividad antimicrobiana. Se determinó que el mejor crecimiento de la bacteria y la mayor producción de proteína con acción antimicrobiana en el medio MRS fue a 37°C y con un valor de pH inicial de 7.5. El mejor método para concentrar las proteínas con acción contra *L. innocua* fue el de adsorción-desorción. El peso molecular estimado de la proteína con actividad antimicrobiana es menor a 15 kDa.

PROYECTO PAPIIT/UNAM IN-223917.



MA354

Phenotypic and genotypic characterization of *Salmonella* sp. isolated in slaughter and processing chicken cutting

Neila Rita Carbonera³, Dianin Karlize Cristina Smith³, Rodrigues Carolina Dias¹, Ana Paula Perin³, Sereno Mallú Jagnow³, Kadigia Pegoraro³, Schmiedt Jhennifer Arruda², **Bersot Luciano S.**³. ⁽¹⁾ DCV, Programa de Residência em Medicina Veterinária, UFPR, Palotina, BR. ⁽²⁾ DCV, Graduação em Medicina Veterinária, UFPR, Palotina, BR. ⁽³⁾ DCV, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, UFPR, Palotina, BR.

Salmonella is among the main pathogens causing gastroenteritis associated with the consumption of animal products, such as poultry meat. This fact is essential to carry out studies on this pathogen. The objective of this study was to investigate the serovars and genetic similarity of *Salmonella* spp. isolated in the different stages of the line of slaughter and processing of broilers in a large establishment qualified to export located in the State of Paraná, Brazil. Sampling was carried out along the slaughter line, in the stages of poultry reception, slaughter and processing. 125 cultures of *Salmonella* sp. submitted to serotyping tests and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). In this analysis, in addition to the *Salmonella* cultures of the present study, 10 cultures obtained from frozen chicken cut samples of the retail trade. Among the 125 isolates evaluated, three different serovars were identified, with the highest occurrence being *Salmonella* Heidelberg with 123 isolates, followed by *Salmonella* Abony and *Salmonella* O:4,5 each isolate, showing the predominance of *S. Heidelberg* (98.4%). In the PFGE results, it can be observed that isolates with identical genetic profiles were obtained from poultry transport cages, carcasses and cuts from the slaughter and processing stage and cuts purchased in the retail trade. Isolated from *S. Heidelberg* demonstrated the permanence in the environment in prolonged periods, above to one year, and influence of the field in the contamination of the industrial environment.

CNPq, CAPES, FUNDAÇÃO ARAUCÁRIA.

MA355

Análise microbiológica de manipuladores e superfícies de uma unidade de alimentação e nutrição de Salvador-BA, Brasil

Da Conceição Eliane Dos Santos¹, Sacramento Joselita Moura², Silva Marcos Da Costa³. ⁽¹⁾ Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular, Instituto de Ciência da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BR. ⁽²⁾ Departamento de Ciências da Vida, Universidade do Estado da Bahia, Salvador, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Microbiologia, Universidade do Estado da Bahia, Salvador, BR.

A Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) é o órgão de uma instituição cuja função é produzir refeições. Essa produção deve atender aos padrões higiênico-sanitários previstos nas legislações brasileiras, para que as refeições sejam seguras e não ofereçam riscos à saúde do consumidor. **Objetivo:** Avaliar as condições microbiológicas das mãos e secreções da orofaringe de manipuladores e as superfícies da área de produção de uma UAN de Salvador-BA, Brasil. **Metodologia:** Pesquisa descritiva, com corte transversal, realizada na UAN de uma Clínica Psiquiátrica de Salvador-BA, Brasil. Foram coletadas amostras das mãos, da secreção orofaríngea de 19 funcionários, e de cinco superfícies da área de produção das refeições: pia do açougue, bancada de distribuição dos alimentos, cortador de legumes, mesa de patissaria e mesa de apoio para o preparo das saladas. O material foi obtido por meio da passagem de “Swabs” estéreis, sendo que, após a coleta foi inoculado em meios de cultura específicos para: *Staphylococcus aureus*, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *Bacillus cereus* e mantido em temperatura de 37° C na estufa. Após 24/48 horas realizou-se a identificação dos micro-organismos. **Resultados:** 89,5% dos manipuladores apresentaram contaminação na cultura do material das mãos e secreções orofaríngeas. Observou-se a prevalência de *Staphylococcus aureus* (73,7% nas mãos; 68,4% na orofaringe), coliformes totais (31,6% nas mãos; 42,1% na orofaringe) e *Escherichia coli* (5,3% nas mãos; 5,3% na orofaringe), *Salmonella sp* (10,5% nas mãos e orofaringe), *Shigella sp* (31,6% nas mãos; 36,8% na orofaringe), *Bacillus cereus* (75% nas mãos). Houve contaminação em todas as superfícies. Somente na mesa de patissaria foi verificado crescimento de todas as bactérias, nas demais como pia do açougue não se observou o desenvolvimento de *Escherichia coli* e *Bacillus cereus*; na bancada de distribuição dos alimentos não ocorreu à presença de *Bacillus cereus*; no cortador de legumes não houve o crescimento de *Salmonella sp*, *Shigella sp* e *Bacillus cereus*; na mesa de apoio para preparo das saladas não se observou o desenvolvimento de *Escherichia coli* e *Salmonella sp*. **Conclusão:** Os manipuladores e as superfícies da UAN apresentaram condições microbiológicas inadequadas para o trabalho, indicando risco para saúde dos consumidores.

MA356

Atividade antimicrobiana de plantas alimentícias não convencionais (PANCs) sobre algumas bactérias

Paulino Larissa G¹, Geromel Mairto R¹, **Fazio Maria Luiza S¹**. ⁽¹⁾ Nutrição, Nutrição, IMES-Instituto Municipal de Ensino Superior, Catanduva, BR.

Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCs) são frutos, frutas, folhas, flores, rizomas, sementes e outras estruturas ou partes das plantas que podem ser consumidas pelo homem tanto *in natura* e após algum tipo de preparo culinário. Muitas dessas plantas apresentam usos medicinais diversos. Considerando o mencionado, essa pesquisa teve como objetivo verificar a possível ação antibacteriana das plantas alimentícias não convencionais: folhas de amora (*Morus nigra* L.), folhas de carrapicho (*Cyathula prostrata*), raiz do falso açafrão (*Curcuma zedoaria*), folhas de picão-preto (*Bidens pilosa*) e folhas de tamarindo (*Tamarindus indica* L.). Os testes foram realizados com as plantas individualmente e também combinadas. Extratos aquosos das plantas foram impregnados em discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro, próprios para antibiograma, colocados em placas de Petri com meio de cultura apropriado, semeado previamente com os seguintes microrganismos: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis e *Staphylococcus aureus*, posteriormente incubadas a 35 °C / 24 – 48 horas. Após este período, foram considerados de ação antimicrobiana eficaz aqueles que apresentaram halos iguais ou superiores a 10 mm. Com relação ao micro-organismo *B. cereus*, foi constatada a ação eficiente do extrato de folhas de picão individual (halo de 16 mm). Para a atividade sobre *S. aureus*, temos destaque para a combinação entre folhas de amora e raiz do falso açafrão (halo de 17 mm). O extrato individual de folhas de carrapicho (halo de 15 mm) e o extrato combinado de raiz do falso açafrão e folhas de tamarindo (halo de 19 mm) inibiram de maneira eficaz *S. Enteritidis*. A bactéria inibida de forma eficiente pelo maior número de extratos (4) foi *B. subtilis*, destacando-se a ação do extrato combinado de folhas de amora e de tamarindo (halo de 18 mm), do extrato combinado de folhas de amora e de picão (halo de 17 mm) e do extrato de folhas de picão individual (halo de 15 mm). Os melhores resultados foram observados para os extratos combinados de folhas de amora e de picão; folhas de amora e de tamarindo.

MA357

Validación de un método para la caracterización de un candidato a material de referencia a nivel de ADN de *Escherichia coli* O157:H7 por PCR digital

Tere-Peña Claudia P.¹, Calderon O. Martha N., Leguizamón G. John E.². ⁽¹⁾ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, CO. ⁽²⁾ Subdirección de Metrología Química y Biomedicina, Grupo de Metrología en Bioanálisis, Instituto Nacional de Metrología, Bogotá, CO.

Escherichia coli es una bacteria comensal, presente en el intestino de mamíferos usada como indicador de contaminación fecal. Algunos serotipos de este género se encuentran asociados a enfermedades transmitidas por alimentos, entre estos, *E. coli* O157:H7 es enterohemorrágica y productora de toxinas Shiga, por ello se requieren metodologías para su detección y cuantificación. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que amplifica fragmentos de ADN, es una técnica rápida, altamente sensible y específica, actualmente utilizada en el análisis de microorganismos. La trazabilidad y exactitud en la cuantificación de ADN son los parámetros que garantizan la calidad de los resultados del método de análisis. Es así, que la PCR digital (dPCR), una técnica novedosa considerada como un método potencialmente primario, que permite la cuantificación absoluta de ácidos nucleicos sin el uso de estándares, se proyecta como una metodología ideal para la caracterización de materiales de referencia en cuanto a su contenido de ADN. Con el fin de desarrollar un candidato a material de referencia de *E. coli* O157:H7 a nivel de ADN, que permita la comparabilidad de resultados obtenidos por métodos de PCR en tiempo real, en este trabajo se presenta el proceso de validación de un método por dPCR para la cuantificación absoluta de este microorganismo. Se amplificaron fragmentos de siete genes de diferentes serotipos de *E. coli* y se evaluó el desempeño del método valorando parámetros de linealidad, especificidad, precisión, límite de detección, límite de cuantificación e incertidumbre. Los resultados mostraron que los genes *uidA*, *lacY*, *eaeA*, *rfbE*, *stx1*, *stx2* y *Z3276* permiten el tamizaje entre serotipos de *E. coli* patogénicos relacionados con *E. coli* O157:H7. Los fragmentos presentaron eficiencias de amplificación >86% por PCR tiempo real. Mediante dPCR se determinó un comportamiento lineal en un intervalo de tres órdenes de magnitud y una sensibilidad a nivel de 1 copia/μL. El método desarrollado podrá ser usado para caracterizar ADN de *E. coli* en la producción de materiales de referencia, que contribuyan a la inocuidad de alimentos como control de calidad de los métodos de ensayo que cuantifiquen este patógeno.

A la División de Investigación de la sede Bogotá (DIB) (código 37670) y a COLCIENCIAS por la financiación (contrato 018-2017). Al Instituto Nacional de Salud (INS) por su asesoría a la investigación.

MA358

Identificação molecular e potencial antagonista de microbiota láctica autóctone de leite de ovelha

Ferreira Marcia De Aguiar¹, Ribeiro Jaqueline L¹, Poggiani Sabrina SC¹. ⁽¹⁾ Medicina Veterinária, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, BR.

O leite de ovelhas apresenta alto valor nutricional e comercial e possui maiores teores de sólidos totais quando comparado ao leite de vaca e cabra, resultando em melhor rendimento na produção de queijos e de outros derivados lácteos. Este estudo objetivou a enumeração, a identificação molecular, a caracterização do potencial antagonista e a atividade bacteriocinogênica da microbiota láctica autóctone de leite de ovelhas de rebanhos do Distrito Federal, Brasil. Foram coletadas 126 amostras de leite cru de ovelhas e 78 isolados de bactérias ácido lácticas (BAL) foram testados quanto ao potencial antagonista frente a quatro cepas de *Listeria monocytogenes*, quatro cepas de *Staphylococcus aureus* e uma cepa de *Lactobacillus sakei*; em seguida, com base nos perfis dos produtos de reação de Rep-PCR esses isolados foram submetidos ao sequenciamento genético. Também foi avaliada a atividade bacteriocinogênica desses isolados. Observou-se desenvolvimento de BAL em 80,2% (101/126) das amostras analisadas, com contagem média de $2,25 \times 10^3$ UFC/mL. A partir da formação de halos de inibição verificou-se que todos os isolados apresentaram reação de antagonismo contra os micro-organismos testados sendo que 47,4% isolados apresentaram ação antagonista contra *S. aureus* ATCC 25923; 42,3% contra *S. aureus* ATCC 12598; 11,5% para *S. aureus* ATCC 12600; 10,3% para *S. aureus* 26BP6; 29,5% contra *L. monocytogenes* ATCC 7644; 23,1% para *L. monocytogenes* 537; 11,5% para *L. monocytogenes* ATCC 49594; 11,5% para *L. monocytogenes* ATCC 15313 e 91% produziram halo de inibição para *Lactobacillus sakei* ATCC 15521, que é conhecido como sensível às substâncias produzidas por BAL. O sequenciamento genético do gene 16S rRNA identificou os isolados como: *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* (42,3%), *Lactococcus garvieae* (1,3%), *Enterococcus faecium* (20,5%), *Enterococcus faecalis* (17,9%), *Enterococcus casseliflavus* (2,6%), *Pediococcus pentosaceus* (12,8%) e *Streptococcus salivarius* (2,6%). Nenhum isolado apresentou produção de bacteriocinas, sugerindo que a atividade antagonista possa estar relacionada à produção de outras substâncias. A diversidade de BAL encontrada demonstrou que o leite de origem ovina produzida na região, mesmo quando proveniente de raças não especializadas, apresenta microbiota de grande importância para a indústria de laticínios, em especial relacionada a *Lactococcus lactis*, com possibilidades de exploração tecnológica para a produção de lácteos.

MA359

Potential mycotoxigenic fungi in Chilean buttery cheese

Camila Aranda¹, Isabel Soto², Carlos Montesinos², Nelson Lima³, Cleir Santos². ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, CL. ⁽²⁾ Departamento de Ciencias Químicas, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, CL. ⁽³⁾ CEB- Centre of Biological Engineering, Braga, Portugal, Universidade do Minho, Braga, PT.

Important fungi can grow on cheese (e.g. *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, and *Trichoderma*). Cheeses such as Camembert and Roquefort are intentionally inoculated with fungi (e.g. *Penicillium camemberti* and *P. roqueforti*). These two fungal species play a significant role in appearance, texture, and flavour development of fungal-ripened and blue-veined cheeses. Moreover, both of these fungal species are also known for their potential ability to produce several mycotoxins. The most hazardous mycotoxins found in cheese, Ochratoxin A and Aflatoxin M1, are produced by unwanted fungal species either via direct cheese contamination or indirect milk contamination. Cheese is an important agro-food product for the Chilean bioeconomy. In January 2017, the exportation of Chilean cheese reached 996 tonnes, 93% more than in January 2016. Mexico was the biggest importer of Chilean cheese in this period (46%). There is no clear information on the literature about the impact of mycotoxigenic potential of the indigenous fungal population on cheese produced in the different Chilean Regions. Therefore, the main aim of this work was to assay the mycobiota associated with buttery cheese in Chile, focusing on the potentially mycotoxigenic fungal genera. Twenty-eight samples of buttery cheese were obtained from different supermarkets located in two cities in southern Chile (Temuco and Valdivia). Isolated fungal strains were identified using classical macro- and micromorphology and MALDI-TOF MS techniques. In general, within the results, 2 genera of dominant fungi were observed in this study. In cheese samples from Valdivia *Penicillium* was the most dominant genus, with 97% of the total fungal strains isolated (90 strains); followed by *Aspergillus* (2%, 2 strains) and *Fusarium* (1%, 1 strains). On the other hand, for the cheese samples from Temuco the most predominant genus was *Aspergillus* with 70% of the total fungal strains isolated (40 strains), followed by *Penicillium* (17,5%, 7 strains), *Fusarium* (10%, 4 strains) and *Geomyces* (2.5%, 1 strains). In order to obtain a reliable fungal identification at the species level, a molecular biology analysis is currently underway. These results demonstrate the importance of knowing even more the mycobiota and the mycotoxigenic fungi present in the buttery cheese marketed and produced in Chile.

CONICYT Chile PhD n° 21171975. The Portuguese Foundation for Science and Technology (FCT). It was under the scope of funding of the UID/BIO/04469/2013, COMPETE 2020 (POCI-01-0145-FEDER-006684) and the BioTecNorte (NORTE-01-0145-FEDER-000004).

MA360

Evaluación del diagnóstico microbiológico para la identificación de *Corynebacterium bovis* aislada de Lana Sisal en ovinos Merino de la Patagonia

Abdala Alejandra Mariana¹, Farber Marisa Diana³, Robles Carlos Alejandro². ⁽¹⁾ INTA-CONICET, Salud Animal, IFAB (Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales Bariloche), Bariloche, AR. ⁽²⁾ EEA-Bariloche, Grupo Salud Animal, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Bariloche, AR. ⁽³⁾ CONICET, Instituto de Biotecnología, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires, AR.

La Lana Sisal es una dermatitis ovina caracterizada por manchones oscuros en el vellón con presencia de fibras aglutinadas. De zonas afectadas se aísla el agente causal identificado por secuenciación genómica como *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*). *C. bovis* es causal de mastitis en vacas y nunca fue aislada de ovinos. Dado que los resultados de la caracterización fenotípica de *C. bovis* reportados son incongruentes entre laboratorios, el objetivo de este trabajo es evaluar la factibilidad de un diagnóstico microbiológico para el agente causal de Lana Sisal. Para intentar establecer un patrón microbiológico se trabajó con 42 aislamientos ovinos y 15 aislamientos bovinos aportados por LactoDiagnósticoSur, todos identificados como *C. bovis* por Maldi-Tof, y se realizó una caracterización microbiológica utilizando 17 pruebas. Por ser una bacteria lipofílica, la diferencia de resultados entre laboratorios podría deberse a falta de crecimiento bacteriano en los medios utilizados. Entonces se evaluó si adicionar Tween80-1% influye en el resultado de la fermentación de Glucosa, Lactosa, Maltosa y Sacarosa, sobre 15 aislamientos ovinos y 10 bovinos. En todos los casos, para afirmar resultado negativo se constató el crecimiento bacteriano. Las cepas resultaron positivas para: Catalasa, Lipofilia, PyrA, Fosfatasa y crecimiento en *Corynebacterium* Agar; negativas para: Nitrato, DNAsa, Sacarosa y ACT; se obtuvo resultado variable entre las cepas para: Oxidasa, Ureasa, ONPG, Pirazinamidasa, Dimorfismo y fermentación de Glucosa, Maltosa y Lactosa, siendo todas estas últimas pruebas claves para diferenciar las especies de corinebacterias. La adición de Tween generó más resultados positivos respecto al medio sin aditivo para la fermentación de Glucosa (80% vs. 30%), Maltosa (50% vs. 8%) y Lactosa (45% vs. 5%) y siempre negativo para Sacarosa. Sin embargo, en bibliografía *C. bovis* se informa mayormente como Glucosa y Maltosa positivo y Lactosa y Sacarosa Negativo. A partir de estos resultados se confirma la dificultad de la identificación de *C. bovis* por métodos tradicionales, corroborándose también para aislamientos ovinos. Esto es un impedimento para estandarizar un diagnóstico microbiológico tanto por la variabilidad de respuesta a entre cepas a pruebas claves como por la dificultad de desarrollo de esta bacteria. Se pone en evidencia así la falta de robustez de estos métodos en el género y la necesidad de métodos moleculares para lograr un diagnóstico preciso de la Lana Sisal.

Proyecto INTA PNSA 1115055 - PE Enf. de ovinos, caprinos y camélidos sudamericanos.

MA361

Frecuencia de los ocho grandes serogrupos de aislados de *Escherichia coli* productores de toxina Shiga obtenidos de materia fecal de ganado bovino de Paraguay

Patricia Acuña¹, Melisa Florentín¹, Federico Escobar¹, Claudia Salinas¹, Fátima Rodríguez¹, Marcelo Sanz², Analia Echeverría², Padola Nora Lía², Rosa Guillén¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, PY. ⁽²⁾ Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, AR.

Si bien *E. coli* O157:H7 ha sido asociado con mayor frecuencia a los casos de Síndrome Urémico Hemolítico (SUH), otros serotipos como O104:H4 y los serogrupos O26, O45, O103, O111, O121 y O145, denominados como “big six”, han sido implicados en más del 70% de las infecciones por STEC no-O157. Paraguay no cuenta con datos de circulación de estos serotipos en ganado bovino. Este estudio descriptivo de corte transversal se realizó con el objetivo de evaluar la frecuencia de las “big six”, en adición de los serogrupos O104 y O157 en materia fecal de ganado bovino. Se analizaron 269 cepas STEC aisladas de materia fecal de 50 bovinos del Dpto de Cordillera en el año 2016, los cuales, portaban los genes *stx1* en un 6,3% (17/269), *stx2* en un 53,2% (143/269), *stx1* y *stx2* de forma simultánea en un 40,5% (109/269), *hlyA* en un 87% (234/269), *saa* en un 80,7% (217/269) y *eae* en 0,4% (1/269). La identificación de serogrupos se realizó por PCR mutliplex en el total de aislados y 47 fueron sometidas a serotipificación para 146 antígenos “O”. No se detectaron los serogrupos pertenecientes a las “big six”, O157 y O104 por PCR, con resultados congruentes por serotipificación de las 47 cepas analizadas. Estas fueron identificadas como O22, O54, O74, O76, O83, O87, O88, O91, O115, O128, O130, O132, O133, O141, O150 y O176. Estos son los primeros datos generados acerca de los serogrupos STEC circulantes en el ganado bovino de Paraguay y el primero en estudiar la portación de “big six” y O104 en ganado bovino. Si bien no se detectan estos serogrupos es importante prestar atención a O91 y O130 que han sido considerados como virulentos en la región.

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

MA362

Characterization of multidrug resistant *Salmonella enterica* serovars isolates from poultry production of Northeast Brazil

Brito Daniela A. Penha¹, Paiao Fernanda Gonzales², Alexandre Oba³. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia, Zootecnia, IFMA, São Luis, BR. ⁽²⁾ Ciencia e Tecnologia do leite e derivados, UNOPAR, Londrina, BR. ⁽³⁾ Departamento de Zootecnia, Zootecnia, UEL, Londrina, BR.

The poultry and poultry products were considered as predominant sources of *Salmonella enterica* and important reservoirs of antimicrobial resistance bacteria. This study aimed to identify phenotypes multidrug resistance to drugs (MDR) in *Salmonella* and investigate genes encoding antibiotic resistance in isolates from different sources of the production chain of broilers, Maranhão state, Northeast Brazil. In total, 121 *Salmonella enterica* strains of different serovars were evaluated for antimicrobial susceptibility testing and resistance genes detection by PCR technique. Antimicrobial resistance was found in 81% *Salmonella* isolates and 56.19% had multiple drugs resistance (MDR). The isolates were resistant to sulfanamides (58.7%), trimethoprim (48.8%), tetracycline (45.4%), nalidixic acid (44.6%), amoxicillin (26.4%), ampicillin (26.4%), cefazolin (22.3%), streptomycin (21.5%), nitrofurantoin (2.5%), imipenem (1.6%), chloramphenicol (1.6%) and gentamicin (0.8%). There was not antimicrobial resistance to norfloxacin, ciprofloxacin, and florfenicol. *Salmonella enterica* serovars Schwarzengrund (n = 24 / 70.5%), Albany (n = 24 / 66.5%) and Enteritidis (n = 6 / 66.5%) had the highest resistant rates to two or more antibiotics class simultaneously. In 50 samples of *S. enterica* serovars Schwarzengrund, Albany, Enteritidis, Heidelberg and Typhimurium were detected the resistance genes: *bla*CTX M (n = 11), *bla*CTX-M2 (n = 6) and *bla*SHV (n = 3), *sul*1 (n = 27), *sul*2 (n = 5), *tet*A (n = 13), *tet* B (n = 28), *tet*C (n = 22), *tet*E (n=4), *dfr*A12 (n = 13) and *dfr*A1 (n = 7). The results showed a high incidence of multiple resistance *Salmonella enterica* phenotypes to conventional antibiotics in the poultry production intended for human consumption.

Fundacao de Amparo a Pesquisa e Desenvolvimento Cientifico e Tecnologico do Maranhao (FAPEMA).

MA363

Isolation and characterization of cypermethrin degrading bacteria from Northern Chilean Patagonia

Patricia Isabel Aguila¹, Mauricio Gonzalez², Jaime Figueroa³. ⁽¹⁾ Escuela de Tecnología Médica, Sede Puerto Montt, Universidad Austral de Chile. ⁽²⁾ INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL.

Contamination of aquatic ecosystem due to pesticide is a current environmental problem. Chilean salmon farms have been severely impacted by *Caligus rogercresseyi* parasite. Cypermethrin (antiparasitic pesticide) is used to treat, prevent, and mitigate parasitic infestations produced by *Caligus rogercresseyi*. The release of pesticides into marine ecosystems in Northern Chilean Patagonia is increasing. The objective of this study was isolate and characterize cypermethrin degrading bacteria from local environment and evaluate their characteristics for the purpose of bioremediation of cypermethrin contaminated sediment. Native bacteria were isolated from cypermethrin-contaminated sediments (n=9) near salmon farm in the Manao Bay, located in the Commune of Chiloé (S41°85'39" W73°48'32), in april 2018. Using enrichment culture techniques, several bacterial species were isolated. Sediment sample was added to a 250 mL Erlenmeyer flask containing 50 mL of sterilized BH enrichment medium with an initial concentration at 50 mg L⁻¹cypermethrin and incubated at 28°C in a rotary shaker at 140 rpm for 5 days. After that, 5 mL of enrichment culture was inoculated into 50 ml of fresh BH medium containing 100 mg L⁻¹ cypermethrin. After that, enrichment culture was incubated five days in fresh enrichment medium containing 200 mg L⁻¹ of cypermethrin. The final culture was serially diluted and spread on BH agar plates containing 50 mg·L⁻¹ cypermethrin for incubation at 28°C for five days. Growth curve experiments revealed that nineteen bacterial isolates were able to grow in the presence of cypermethrin as sole carbon and energy source suggesting that degradation of this pesticide is carried out. Morphological analysis of these colonies showed that they correspond to Gram negative *bacilli* bacteria (n=7) and Gram positive *cocci* (n=12). The 16S rDNA gene sequences of the isolated native strains were analysed. Native bacterial isolates that degrade cypermethrin, belonging to the genera *Pseudomonas*, *Nocardia*, *Moraxella* and *Rhodococcus*. Native cypermethrin degrading bacteria were isolated and characterized, which will assist as potential biocatalysts for bioremediation of aquatic environments contaminated with cypermethrin.

Proyecto Investigación 54613903/54611210 Universidad Austral de Chile, Sede Puerto Montt, Escuela de Tecnología Médica, Universidad Austral de Chile, Sede Puerto Montt y Vicerrectoría Universidad Austral de Chile, Sede Puerto Montt.

MA364

Infektividad, patogenicidad y virulencia de un aislado de *Piscirickettsia salmonis* en *Salmo salar*

Cristian Andrade-Madrigal¹, Pilar Candia¹, Sebastian Tapia¹, Deborah Vargas¹, Eugenio Spencer^{1,2}. ⁽¹⁾ Consorcio Tecnológico de Sanidad Acuícola ICTIO Biotechnologies S.A., Centro de Biotecnología Acuícola (CBA), Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Virología, Centro de Biotecnología Acuícola (CBA), Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL.

Piscirickettsia salmonis es un patógeno bacteriano intracelular con capacidad de infectar múltiples tejidos de *Salmo salar*, *Oncorhynchus mykiss* y *Oncorhynchus kisutch*. Puede ser cultivada en diferentes líneas celulares derivadas de estos salmónidos, respectivamente SHK-1, RTG-2 y CSE-119, y otras de peces no salmónidos como CHSE/F (*L. macrochirus*). Sin embargo, existen pocos reportes sobre la estandarización de ensayos *in vivo* en *Salmo salar* con *Piscirickettsia salmonis* en condiciones de mortalidad. En este trabajo se compara el número de bacterias producidas en diferentes líneas celulares, por los métodos de TCID50, recuento en cámara de Petroff-Hausser, cuantificación absoluta del 16S de *P. salmonis* por qPCR, y citometría de flujo con el kit LIVE/DEAD™ BacLight™, determinando que hay diferencias significativas en los valores obtenidos por cada método. Los primeros dos métodos son poco precisos debido a que dependen del criterio del investigador para la determinación. Por otro lado, aunque la cuantificación absoluta del 16S por qPCR produce resultados precisos, hay una diferencia de hasta mil veces al comparar estos con los valores obtenidos en la citometría. La cuantificación por citometría presenta la ventaja de poder determinar con exactitud el número de bacterias, al seleccionar por tamaño, forma y fluorescencia, pudiendo diferenciar claramente los restos celulares de las bacterias. Se analizó la virulencia de *Piscirickettsia salmonis* mediante ensayos de mortalidad por inyección en *Salmo salar*, en los que se utilizaron diferentes dosis cuantificadas por citometría. Así se determinó que la LD50 de nuestro inóculo es de $1,1 \times 10^5$ bacterias. El efecto máximo correspondiente al 96% de mortalidad se alcanzó con la dosis de 1×10^6 bacterias a los 19 días post-inyección. El mismo efecto se consigue con una dosis 10 veces mayor, no obstante, este se alcanza 4 días antes. Inesperadamente, la carga bacteriana determinada por qPCR es menor en los peces inyectados con 1×10^7 bacterias en comparación a los peces inyectados con las dosis menores. En estos resultados se observa que existe una relación dosis-respuesta entre el número de bacterias inyectadas y el porcentaje de mortalidad de los peces.

PROYECTO CORFO 13CTI-21527.

MA365

Caracterización fenotípica y molecular de aislados de *Piscirickettsia salmonis* perteneciente a distintos genogrupos

Pamela Aravena¹, Javiera Ortiz³, Alexis Gaete¹, Rodrigo Pulgar¹, Verónica Cambiazo^{1,2}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Macul, CL. ⁽²⁾ Center for Genome Regulation (CGR), Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Laboratorio de Microbiología de Sistema, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Macul, CL.

Piscirickettsia salmonis es el agente etiológico de la septicemia rickettsial del salmón, una enfermedad sistémica que causa grandes pérdidas económicas a la industria salmonera nacional. Recientemente, los genomas de diversas cepas de *P. salmonis* han sido secuenciados, determinando mediante análisis filogenéticos que las cepas se separan en dos genogrupos, denominados A y B. En este trabajo, nos propusimos caracterizar las diferencias fenotípicas y moleculares entre aislados de ambos genogrupos. Fenotípicamente, se evaluó el crecimiento bacteriano, la sensibilidad a antibióticos mediante sensidiscos, y la morfología celular de las cepas utilizando microscopía electrónica. Se observó que las bacterias del genogrupo A son hasta 2,6 veces más grandes que las bacterias del genogrupo B y su distribución de tamaños es más heterogénea. Mediante ensayos de infección *in vitro* se observó una mayor virulencia en las cepas del genogrupo B medida por su efecto sobre la viabilidad celular. Análisis bioinformáticos permitieron seleccionar un grupo de enzimas de restricción que diferencian las cepas en genogrupos A o B. Utilizando la técnica de campo pulsado se observó un patrón genómico distinto al digerir los genomas de los aislados con las enzimas *NotI* y *FseI*, permitiendo diferenciar entre los genogrupos. En el caso de la secuencia del 16S rDNA, la enzima *XapI* permitió clasificar los aislados en los genogrupos A o B, en base al tamaño de los fragmentos generados. De esta forma, se desarrolló una metodología rápida, sencilla y altamente específica para la clasificación de aislados clínicos *P. salmonis*, mediante el uso de partidores universales y la técnica del PCR-RFLP.

Este trabajo fue financiado por el Proyecto FONDECYT Regular 1160802, FONDECYT de Iniciación 11161083 y por el Proyecto FONDAP N°15090007.

MA366

Efecto de componentes de pared celular de cepas probióticas de origen aviar sobre la adhesión a células epiteliales intestinales

Eloy Argañaraz Martínez^{1,3}, Oscar Isa¹, Jaime Babot², Milena Bertani^{1,2}, Clara Silva^{1,2}, Adriana Perez Chaia^{1,2}. ⁽¹⁾ Instituto de Microbiología, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán, AR. ⁽²⁾ CERELA (Centro de Referencia para Lactobacilos), Centro Científico Tecnológico CCT – TUCUMAN, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET, San Miguel de Tucumán, AR. ⁽³⁾ Centro Científico Tecnológico CCT – TUCUMAN, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET, San Miguel de Tucumán, AR.

Algunas propiedades funcionales atribuibles a los probióticos se asocian frecuentemente a características químicas y estructurales de la superficie celular. Los polisacáridos de tipo capsular y/o exopolisacáridos, al igual que los ácidos teicoicos y proteínas, podrían participar en los procesos de adhesión, exclusión de patógenos, captación de lectinas citotóxicas, estimulación del sistema inmune y resistencia al estrés propio de la conservación. El objetivo de este trabajo fue evaluar la contribución de polisacáridos, ácidos teicoicos presentes en la pared celular de cepas probióticas y el efecto de la digestión intestinal (DI), sobre la adhesión a células epiteliales intestinales (CEI). Las cepas de *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium* y *Propionibacterium* se activaron en MRS, MRS + cisteína 0.05% y LAPTg, respectivamente. Las células se lavaron y se resuspendieron en 1 mL de metaperiodato 0,05 M (Met) o bien en 1 mL de ácido tricloroacético 30%(TCA) y se dejó actuar por 1 h a 37 °C. Por otro lado, se sometieron a un modelo de DI durante 3h. Finalizado los tratamientos, las cepas se lavaron y resuspendieron en PBS. Se realizaron recuento de células viables y fueron sometidas a la adhesión a CEI en condiciones de microaerofilia a 41°C 1h, obteniendo el índice y porcentaje de adhesión a través de coloración de Gram. Conjuntamente fueron fijadas para microscopía electrónica de transmisión y barrido. Las cepas resultaron sensibles a los tratamientos con Met y TCA. Al analizar la adhesión, ésta se vio afectada en las células tratadas, lo que estaría indicando la contribución de estos elementos estructurales a la interacción con las CEI. Luego del tratamiento digestivo, las cepas permanecieron viables y con capacidad de adherirse a CEI, propiedad que fue variable y dependiente de cepa. Por microscopía electrónica, se observó en algunas cepas, fibrillas que emergen de la superficie celular que fueron eliminadas luego de los tratamientos. Estos resultados demostraron la participación de exopolisacáridos y ácidos teicoicos durante la adhesión. Estudios más complejos de los componentes de pared involucrados en características probióticas, permitirán determinar estas estructuras para su protección durante los escalamientos tecnológicos para el desarrollo de un producto aplicable en la industria avícola.

Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica ANPCyT PICT2015 - 3714 / PICT2016 - 0528. CONICET PIP2015-678. Secretaría Ciencia, Arte e Innovación Tecnológica SCAIT UNT. PIUNT2018 D643.

MA367

Estudio de cepas de *Bifidobacterium sp* para su potencial uso probiótico en aves de corral

Sonia Grande^{1,3}, María Fernández², María Quiroga¹, Cristina Apella², Adriana Perez Chaia^{1,2}, Eloy Argañaraz Martínez^{1,3}.

⁽¹⁾ Instituto de Microbiología, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán, AR. ⁽²⁾ CERELA Centro de Referencia para Lactobacilos, Centro Científico Tecnológico CCT - TUCUMAN, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET, San Miguel de Tucumán, AR. ⁽³⁾ Centro Científico Tecnológico CCT - TUCUMAN, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET, San Miguel de Tucumán, AR.

En los últimos años el estudio de la microbiota intestinal de aves de corral ha sido foco de numerosas investigaciones debido a su vinculación con la producción y sanidad animal. El género *Bifidobacterium* ha sido asociado positivamente a la salud del huésped, sin embargo éste ha sido escasamente estudiado. El objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes propiedades fisiológicas y funcionales de 14 cepas de *Bifidobacterium* de origen aviar aisladas por este grupo. Cultivos activos de las cepas fueron inoculados en medio MRS con cisteína 0,05% e incubados por 48 h a 37 y 41 °C. El crecimiento fue medido por absorbancia DO560nm y recuento de células viables a distintos tiempos. Todas las bifidobacterias evidenciaron crecimiento satisfactorio en ambas temperaturas. Seguidamente, se evaluó su resistencia a digestión gastrointestinal en un modelo estandarizado. Las pérdidas de viabilidad fueron bajas y cepa dependiente. A partir de estos resultados, un medio natural de agua cecal (AC) obtenido de pollitos (15 días) y aves adultas fue utilizado para evaluar el comportamiento de las bifidobacterias en condiciones de nutrientes limitantes y metabolitos producidos por la microbiota residente. Todas las cepas permanecieron viables en AC de aves adultas luego de 12 h de incubación, lo cual difiere en AC de pollitos, donde las pérdidas de viabilidad fueron cepa dependiente. Por último, se estudió la adhesión a células epiteliales intestinales (CEI), ya que ésta evita la remoción rápida del microorganismo por el tránsito intestinal y determina su competición frente a patógenos. Las bifidobacterias en contacto con CEI fueron capaces de adherir en un rango medio de entre 22,01 y 44,91 %. En este trabajo las bifidobacterias evaluadas para su potencial uso como probióticos en aves demostraron buena capacidad de adaptación a la temperatura fisiológica intestinal (41°C), alta resistencia a condiciones gastrointestinales, conservación de su viabilidad en AC y porcentajes altos de adhesión a CEI. Nuestros resultados aportan al conocimiento del género *Bifidobacterium* en el intestino de las aves de corral y proporcionan evidencia de su potencial para el desarrollo de productos tecnológicos de aplicación en la industria avícola.

Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica ANPCyT PICT2015 - 3714 / PICT2016 - 0528. CONICET PIP2015-678. Secretaría Ciencia, Arte e Innovación Tecnológica SCAIT UNT. PIUNT2018 D643.



MA368

Isolation, molecular characterization and serology of *Leptospira santarosai* in swine of the São Paulo State - Brazil

Carla R Bastos¹, Santos Renata F¹, Silva Higor O¹, Santos Romeu M², Jaeger Lauren H³, Walter Lilenbaum³, Mathias Luis A¹. ⁽¹⁾ Department of Preventive Veterinary Medicine and Animal Reproduction, School of Agricultural and Veterinarian Sciences, São Paulo State University (UNESP), Jaboticabal, BR. ⁽²⁾ Department of Veterinary Pathology, School of Agricultural and Veterinarian Sciences, São Paulo State University (UNESP), Jaboticabal, BR. ⁽³⁾ Department of Microbiology and Parasitology, Instituto Biomédico, Fluminense Federal University (UFF), Niterói, BR.

Leptospirosis is a systemic infectious disease, which stands out as an important anthroponosis, often neglected. For being a disease that affects a wide variety of animal species, it is important to know the epidemiology of the disease, especially the hosts and the serovars present in the region. The objective of the study was to isolate and perform the serological and molecular characterization of *Leptospira spp.* of swine in São Paulo State. For this purpose, samples of blood, urine and kidney tissue from clinically healthy swines were collected at a slaughterhouse located in Ribeirão Preto Mesoregion, São Paulo State, Brazil, coming from a Farm in Monte Azul Paulista - SP, in February 2016. For the serological analysis, the microscopic agglutination test (MAT) was used with a collection of 34 different *Leptospira* serovar antigens. The urine and kidney samples were seeded in Fletcher and EMJH culture media incubated at 28°C, and examined weekly for 24 weeks. For confirmation and characterization of bacterial cultures, the techniques of serogrouping and conventional PCR for pathogenic *Leptospira* detection (*lipL32* gene) were used. The species identification and genotyping were performed by nucleotide sequencing of the *rrs* and *secY* genes. By MAT, 24.63% (17/69) of the samples were positive, presenting as most common serogroups Autumnalis, Icterohaemorrhagiae and Shermani. A bacterial culture was obtained from swine urine after 3 months of incubation, named UNESP 3. It was serogrouped as belonging to serogroup Sejroe, presenting antibody titles of 12,800, 6,400 and 1,600 to Hardjoprajitno, Hardjobovis and Wolffi serovars, respectively. *lipL32*-PCR of the isolate was positive. The species identification revealed 99% identity with the *L. santarosai* sequences. In conclusion, the isolation of *Leptospira santarosai* of swine intended for slaughter highlights the importance of these host in the dissemination of this pathogen in the environment and its potential as carrier of this bacteria. In addition, the characterization of leptospires circulating in a region is important for a better understanding of the epidemiology of leptospirosis and the development of effective prevention strategies.

National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) – Brazil.

MA369

Estudo de arbovírus em primatas não-humanos mantidos cativos na Amazônia

Bernal Marcella Katheryne Marques¹, Aguirra Luien Roberta Valente De Miranda¹, Andrade Sara Leticia Santos¹, Filho Sebastião Tavares Rolim¹, Chiang Jannifer Oliveira², Pereira Washington Luiz Assunção¹. ⁽¹⁾ Patologia Animal, Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, BR. ⁽²⁾ Arbovirologia e Febres Hemorrágicas, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, BR.

Na Amazônia vivem mais de 100 espécies de primatas não-humanos. Essa diversidade mastofaunística gera diversos estudos, que incluem investigações sobre a sanidade e inter-relação homem-animal-meio ambiente, possibilitando o registro de agentes etiológicos de caráter zoonótico, como é o caso dos arbovírus, que são microorganismos virais de ciclo enzoótico e são transmitidos pela picada de artrópodes hematófagos. Desse modo, objetivou avaliar a ocorrência de arbovírus em primatas não-humanos (PNH) cativos no Estado do Pará, utilizando testes sorológicos de Inibidores de Hemaglutinação e Neutralização. Para tanto, foram utilizadas amostras de soro de 43 PNH de cativeiros localizados nos municípios de Santarém e Capitão poço. Os soros foram analisados no Laboratório de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas. Dos animais analisados, 25 (58,13%) apresentaram anticorpos positivos para um ou mais dos 19 arbovírus testados, sendo 39,52% (17/25) fêmeas e 18,60% (8/25) machos. Quanto ao tipo de recinto, os espécimes do berçário demonstraram soronegatividade 0% (0/2), ao passo em que 38,46% (5/14) dos animais que habitavam na quarentena e 71,42% (20/28) dos que compartilhavam o mesmo recinto eram positivos. A soropositividade ≥ 20 no teste de Inibição da Hemaglutinação para arbovírus foi observada em 7 espécies de PNH (*Atelles marginatus*, *Atelles paniscus*, *Cebus albifrons*, *Chiropotes albinasus*, *Chiropotes Satanas*, *Leontopithecus chrysomelas* e *Sapajus apella*). Além disso, das 25 amostras soropositivas para arbovírus, 12 (27,96%) tiveram reações heterotípicas para *Flavivírus* e 20 (46,61%) reações monotípicas para as espécies: *Encefalite Equina Lestes*, *Encefalite Equina Oeste*, *Mayaro*, *Mucambo*, *Ilhéus*, *São Luís*, *Bussuquara*, *Oropouche* e *Icoaraci*. Apenas uma amostra foi positiva para arbovírus *Oropouche* que apresentou titulação ≥ 1280 , sendo submetida ao teste de neutralização, cujo resultado do Índice de Logarítmico de Neutralização (ILN) foi de $\geq 1,9$ e, portanto, considerada positiva com $ILN \geq 1,7$, sugerindo que tal primata apresenta uma infecção recente para *Oropouche*. A presença de anticorpos para os principais arbovírus de ocorrência na Amazônia em PNH, sugere que tais animais foram infectados pelos vírus em alguma fase de sua vida. Além do que pressupõem a manutenção dos arbovírus no habitat silvestre, o que representa um perigo ao homem que possui contato com este ambiente.

MA370

Analysis of Chilean isolates of the fish pathogen *Renibacterium salmoninarum*: genomes, virulence factors and expression of iron acquisition related genes

Jorn Bethke^{1,2}, Eloisa Arias-Muñoz^{1,2}, Rute Irgang^{1,2}, Alejandro Yañez^{2,4}, Ruben Avendaño-Herrera^{1,2,3}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola, Facultad Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Viña del Mar, CL. ⁽²⁾ INCAR, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research. ⁽³⁾ CIMARQ, Centro de Investigación Marina Quintay. ⁽⁴⁾ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL.

Background: *Renibacterium salmoninarum*, a slow-growing facultative intracellular pathogen belonging to the high C+G content Actinobacteria phylum, is the causative agent of bacterial kidney disease, a progressive granulomatous infection affecting salmonids worldwide. This Gram-positive bacterium has existed in the Chilean salmonid industry for more than 30 years, but little or no information is available regarding the virulence mechanisms and genomic characteristics of Chilean isolates. The genomes of two Chilean isolates (H-2 and DJ2R) were sequenced and attention was driven on detecting genes and proteins involved in virulence and pathogenicity, and the results obtained were compared to the type strain ATCC 33209T genome. **Methods:** Reads were obtained using Illumina MiSeq, assembled against the *R. salmoninarum* ATCC 33209T reference genome (accession number NC_010168.1) using Geneious v10.1 and annotation was made using Prokka v1.12. The aim of the analysis was to search for possible virulence and antibiotic resistance factors by using crb-blast against the Virulence Factors Database (VFD) and Comprehensive Antibiotic Resistance Database (CARD). A known factor that is essential for pathogenicity of several bacteria is iron-uptake, therefore IdeR/DtxR binding sites and associated iron-acquisition related genes were pursued. Finally, expression of genes associated to iron was evaluated by RT-qPCR using ARN extracted from *R. salmoninarum* grown under iron limitation conditions. **Results:** The H-2 and DJ2R genomes were assembled into 3,155,332 bp and 3,155,228 bp respectively showing 99.99% average nucleotide identity with type strain ATCC 33209T. The *in silico* genome analysis revealed a genes related to tricarboxylic acid cycle, glycolysis, iron transport and others metabolic pathway. Many genes had high identity with *Mycobacterium* species, a known pathogenic Actinobacteria bacterium. The iron-acquisition related genes associated to IdeR binding sites showed an induced expression when bacteria were grown under iron limited condition, and the induction was higher in the Chilean isolate compared to ATCC 33209T. **Conclusion:** This is the first report to provide crucial genomic information of genes involved in virulence and pathogenicity of two Chilean *R. salmoninarum* isolates.

CONICYT FONDECYT N° 1150695, FONDAP N° 15110027, CONICYT Doctoral Scholarship N° 21140421.

MA371

Efecto del virus de la necrosis pancreática infecciosa en la expresión de marcadores del sistema inmune innato en *Salmo salar*

José Antonio Blanco¹, F Lagos^{1,2}, J Figueroa^{1,2}, D Hausmann^{1,2,3}. ⁽¹⁾ Instituto de Bioquímica & Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. ⁽²⁾ Centro FONDAP, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Valdivia, CL. ⁽³⁾ Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás.

El virus IPN (IPNV) es el agente causante de la necrosis pancreática infecciosa, enfermedad que afecta principalmente a salmónidos en agua dulce y causa pérdidas millonarias a la acuicultura. En peces teleósteos, el sistema inmune innato es la barrera más importante en la defensa contra patógenos. Dentro del sistema inmune innato se encuentran diferentes proteínas que modulan la respuesta inmune. El IPN es catalogado como Enfermedad de alto riesgo por SERNAPESCA, por lo que es necesario el estudio de cómo el virus afecta al sistema inmune; para ello se estudió el efecto del IPNV en la expresión de transcritos del sistema inmune innato en cinéticas de infección *in vitro* en cultivo primario de cabeza de riñón de salmónes (*Salmo salar*). Para este estudio se propagó una alícuota de IPNV en la línea celular CHSE-214 para titular el virus. Posteriormente se purificaron células en un cultivo primario de cabeza de riñón el cual fue sometido a una cinética de infección contra el IPNV, para finalmente cuantificar por medio de qPCR la expresión de marcadores que inician la respuesta inmune innata de IRFs 2/3/9 y STATs 1/2/4 durante 3, 6, 9, 12, 24, 48 y 72 horas post-infección (hpi). Se observó cambios en la expresión de IRFs y STATs, en células sometidas a infección por IPNV, los cuales son expresados en las primeras hpi, constituyendo la respuesta inicial frente a una infección viral. Además de eso, se hizo una Inmunofluorescencia Indirecta contra NFκ-B en la línea celular SHK-1 sometida a una infección por IPNV durante 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 y 6 hpi, donde se ve una traslocación de NFκ-B temprana al núcleo, dicha traslocación marca el inicio de la respuesta inmune innata, activando los IRFs. Este estudio se complementa con trabajos previos del laboratorio con peces naturalmente infectados con el virus y colaborará en la comprensión del proceso de infección viral y como el hospedero reacciona frente a esta infección.

Proyecto FONDECYT 1130069 y FONDAP 15110027.

MA372

Relevancia de la D-alanil D-alanina carboxipeptidasa en la infección del tracto urinario y formación de biofilms *in vivo* de *Proteus mirabilis*

Ana Caetano¹, Victoria Iribarnegaray¹, González María José¹, Steffen Härtel², Pablo Zunino¹, Paola Scavone¹. ⁽¹⁾

Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Universidad de la República, Montevideo, UY. ⁽²⁾ Laboratorio de Procesamiento de Imágenes Científicas (SCIAN-Lab), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Los biofilms son comunidades microbianas, adheridas entre ellas y de forma irreversible a un sustrato, inmersas en una matriz de producción propia. Muestran un fenotipo distinto con respecto a sus contrapartes planctónicas en la velocidad de crecimiento y en la transcripción génica. *Proteus mirabilis* es un bacilo Gram-negativo formador de biofilms, principal agente causal de las infecciones urinarias asociadas a catéteres (ITU-C). Diferentes factores de virulencia son importantes para el establecimiento de la infección, colonización y la formación de biofilms. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar el rol de la D-alanil,D-alanina carboxipeptidasa, enzima involucrada en la síntesis de peptidoglicano, en la capacidad de infectar el tracto urinario(TU), en la formación de biofilms en el modelo de cateterización y en la bioarquitectura de biofilms *in vivo*. Con este fin, se empleó una mutante por transposición a partir de una cepa salvaje de *P. mirabilis*. La infectividad se evaluó por recuentos bacterianos de vejigas y riñones en el modelo de ITU en ratón. La formación de biofilms en el modelo de cateterización fue evaluada a través de recuento bacteriano en orina, peso y cortes histológicos de vejigas y observación microscópica. La bioarquitectura del biofilm *in vivo* fue evaluada en el modelo de cámaras intraperitoneales de difusión (CID) en ratas, analizando descriptores morfo-topológicos por Microscopía Laser Confocal. Los resultados mostraron que la mutante presentó una disminución significativa para infectar el TU con respecto a la cepa salvaje. En el modelo de cateterización, el recuento bacteriano de vejigas infectados con la cepa salvaje y la mutante fue similar aunque el peso de la vejiga fue significativamente menor en el caso de la mutante. El daño histológico fue mayor para la cepa salvaje y en el epitelio vesical se observaron bacterias tanto en los animales infectados con la cepa salvaje como con la cepa mutante. El modelo de las CID mostró que la cepa mutante formó biofilms menos compactos con respecto a la cepa salvaje. De acuerdo a estos resultados, se concluye que la D-alanil,D-alanina carboxipeptidasa es relevante en el establecimiento de la ITU y en la formación de biofilms en distintas condiciones.

Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por el proyecto FCE_1_2014_1_104760 y beca de Maestría POS_FCE_2015_1_1005255 (Uruguay).

MA373

Nanopartículas de quitosano, una alternativa de tratamiento frente a cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas desde mastitis bovina

Carlos Alarcon², Jeffrey Barbosa², Cristian Tapia¹, Nicole Ehrenfeld², Nelson Caro². ⁽¹⁾ Tecnología Química y Ciencia de los Alimentos, Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Investigación, Ciencias, Centro de Investigación AustralBiotech-UST, Santiago, CL.

La mastitis bovina es una de las infecciones bacterianas más prevalentes y una de las enfermedades más costosas en términos económicos en los predios lecheros. Se ha descrito que más del 95% de los casos son provocados por bacterias Gram positivos tales como *Staphylococcus aureus*, entre otros y, se ha evidenciado la presencia de cepas multiresistentes a antibióticos (AB) aisladas desde vacas infectadas, convirtiéndose en un problema de salud pública. Es por estas razones, que resulta interesante evaluar el uso de moléculas alternativas a los AB para el control y tratamiento de la mastitis, disminuyendo con esto la aparición de resistencia bacteriana a los AB. Hemos fabricado mediante gelificación inotrópica, nanopartículas de quitosano (NQo), hidrocoloide polimérico, abundante, biodegradable, económico y listado como GRAS por la FDA. Las NQo, presentaron una estructura esférica de ~60 nm, las propiedades fisicoquímicas de la formulación de NQo mostraron una viscosidad cinemática de 1,1 (mm²/s), Tensión superficial de 73,2 (mN/m), un Radio Hidrodinámico de 310,4 nm, una carga superficial de +49,9 (mV) y un PDI de 0,4. Estas NQo, fueron enfrentadas, a cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas desde 15 muestras de leche extraídas desde vacas diagnosticadas con mastitis clínica, para evaluar su capacidad antimicrobiana (CAM). La concentración inhibitoria mínima de las NQo fue de 0,4 µg/mL. Por otro lado, a través del método de difusión en disco fue determinada la zona de inhibición de crecimiento de las NQo y su CAM fue comparada con AB comúnmente aplicados en la terapia de esta enfermedad. Los resultados sugieren que a idénticas concentraciones, las NQo evidenciaron un efecto inhibitorio de 2,9 y 20,3 veces más potentes que Ampicilina y Gentamicina, respectivamente. Utilizando concentraciones subletales de NQo, evaluamos la formación de biofilm *in vitro* en *S. aureus*, principal mecanismo de virulencia asociado a esta enfermedad, en donde es evidenciado que esta concentración (0,2 µg/mL) permite la disminución de 2,8 veces el fenotipo respecto al control sin tratamiento. Estos hallazgos indican que el uso de nanopartículas, elaboradas a partir de quitosano, puede contribuir en el desarrollo de un posible tratamiento alternativo al uso de AB para la mastitis bovina.

MA374

Quorum sensing in *Piscirickettsia salmonis*: a potential impact in pathogenicity?

Carril Gabriela P¹, Marshall Sergio H^{1,2,3}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Patógenos Acuícolas, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. ⁽³⁾ Laboratorio de referencia ISAV y *Piscirickettsia salmonis*, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

In bacteria cell-to-cell communication is normally mediated by Quorum sensing to monitor cell density and gene expression regulation. In Gram-negative bacteria, relevant signaling molecules are N-acyl-homoserine lactones (AHLs), which upon reaching a threshold level trigger a response of the population to activate or to suppress virulence secretion factors and biofilm formation among others key components involved in potential infection. *Piscirickettsia salmonis* is a Gram-negative bacterium causing Piscirickettsiosis or Salmonid Rickettsial Syndrome (SRS), a systemic infection in salmonids, which critically affects Chilean aquaculture causing substantial economic losses to the salmon industry. *P. salmonis* is a facultative intracellular pathogen with high potential for antibiotic resistance. Furthermore, little is known about the mechanism involved in its pathogenicity, resulting in a lack of control of the disease. A study of a significant number of different isolates have allowed researchers to classify them into two main genogroups, the LF-like and EM-like, with distinctive features that might contribute to better understanding the biology of the bacteria, resulting in the development of more accurate treatments. With this in mind, the aim of this study was to evaluate the presence of AHLs in *P. salmonis*. By means of thin layer chromatography (TLC), followed by bioluminescent bacterial biosensors and high performance liquid chromatography (HPLC), the presence of at least two types of AHLs signal molecules were determined, N-butanoyl-L-homoserine lactone (C4-HSL) and N-(3-oxo-dodecanoyl)-L-homoserine lactone (3-oxo-C12-HSL) in one isolate of each genogroup. Finally, using the information available from close genomes sequencing, primers were designed to evaluate expression of genes involved in the Quorum sensing process by qPCR. Differential expression of the so-called *luxR* "solo genes" was found, which is indicative of the bacteria using this system known to have diverse roles among interspecies and even interkingdom communication. This observation opens a wide array of possibilities with regards to the purpose of *P. salmonis* in using the Quorum sensing system, ranging from the orchestration of the infection process between different isolates to modulate communication with other marine bacterial species. Finally, this study also may lead to other methods that could be used to control bacterial virulence, for instance via Quorum quenching.

This study was supported by FONDECYT Regular 1170342.

MA375

Investigação da atividade antimicrobiana e de aglutinação em substâncias extraídas de algas marinhas do gênero *Caulerpa*

Carvalho Fátima C T¹, Abreu Jade Oliveira², Rebouças Rosa Helena³, Silvana Saker-Sampaio⁴, Vieira Regine H S F², Sousa Oscarina Viana². ⁽¹⁾ Departamento de Engenharia de Pesca, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Pesca, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, BR. ⁽²⁾ Instituto de Ciências do Mar - Labomar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, BR. ⁽³⁾ Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Engenharia de Pesca, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, BR.

Os metabólitos secundários das algas marinhas emergem como importante fonte biotecnológica para aplicação na clínica humana e animal no combate a agentes potencialmente patogênicos. Foi objetivado investigar as atividades antimicrobianas e aglutinantes de extratos de macroalgas pertencentes ao gênero *Caulerpa* a partir das espécies algais *Caulerpa cupressoides* (CC), *C. mexicana* (CM), *C. prolifera* (CP), *C. racemosa* (CR) e *C. sertularioides* (CS) coletadas no período de chuva e estio na Praia do Pacheco, Ceará, Brasil. Foram obtidos extratos metanólicos para teste das atividades antimicrobianas e antiaglutinantes usando os indicadores bacterianos: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), e *Salmonella* ser. Braenderup (LAMAP 18, uma estirpe multirresistente). A eficiência antimicrobiana dos extratos algais foi variável de acordo com a coleta de origem do material biológico. A eficiência antimicrobiana dos extratos foi variável de acordo com a espécie de alga testada sendo: 58% (CR), 50% (CS) e 17% (CP) contra *E. coli* e somente o extrato obtido a partir da CP inibiu o crescimento da *Salmonella* ser. Branderup para 98% dos extratos analisados. A capacidade de aglutinação celular foi detectada em 75%, 83%, 92% e 25% das amostras coletadas para as algas CC, CP, CS e CM, respectivamente. Chamando atenção para a atividade aglutinante da alga CM que coincidiu com as coletas realizadas no período de estiagem. Foi confirmado o potencial biotecnológico das algas do gênero *Caulerpa* como importante fonte de compostos antibacterianos e aglutinante frente a bactérias Gram-positivas e negativas inclusive bacterias com perfil de resistencia a multiplos antimicorbianos.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

MA376

Torque teno sus virus association with post-weaning multisystemic wasting syndrome in affected swine

Cristine Cerva¹, Mayer Fabiana Q¹, Loiko Marcia R², Caroline Tochetto², Varela Ana Paula M², Lima Diane A², Roeh Paulo M². ⁽¹⁾ Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária, Biologia Molecular, Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽²⁾ Microbiologia, Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR.

The post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) has a negative economic impact on swine farming systems worldwide. Losses include expenditures with treatment, increased mortality rates, and decreased productivity. The main pathogenic agent in PMWS development is porcine circovirus type 2 (PCV2). Although, experimental studies have demonstrated that other agents, such as *Parvovirus*, are involved in the pathogenesis and manifestation of clinical signs. However, torque teno sus virus (TTSuV), is highlighting in PMWS because studies are proposing the viruses are an immunosuppressive agent that predisposes animals to the syndrome. TTSuV are small circular single-stranded DNA viruses that belong to the family *Anelloviridae*. Studies have shown that the virus encodes peptides capable of suppressing immune response and maintaining viral infection. The TTSuV are divided into two genera: *lotatorquevirus* and *Kappatorquevirus*, each having two species: 1a, 1b and k2a, k2b, respectively. All species of TTSuV have already been described in several countries, but in Brazil the presence of TTSuVk2b has not yet been detected. TTSuV are widespread in all swine herds in the world and authors propose that co-infection of TTSuV with PCV2 is necessary for the occurrence of clinical signs of PMWS. In order to contribute to the knowledge of possible viruses involved in PMWS, the present study carried out the high-throughput genetic sequencing, on the Illumina system, of swine sera and subsequent analysis of the resulting metagenome. Serum samples of 16 swine with clinical signs of PMWS located on farms in southern Brazil were used. In the result of the analysis, 38.9% were *Anellovirus* sequences, 35.4% *Parvovirus*, 12.5% *Microvirus* (bacteriophages), 2.4% of unclassified viruses and 0.2% of *Circovirus* (PCV2). Other 10.6% of the reads were of various bacterial sequences. As high-throughput sequencing can be considered quantitative, it was noticed that the viral load of *Anellovirus* (TTSuV) are predominant over other viruses, similar other studies describing the viral load of TTSuV in PMWS affected swine is increased in relation to healthy animals. Among the *Anellovirus*, TTSuV type 1b, k2a and even k2b, identified for the first time in Brazil, were sequenced.

Secretaria da Agricultura Pecuária e Irrigação do RS, Embrapa, Fapergs.

MA377

Identificación y caracterización transcripcional de los factores de virulencia del patógeno intracelular *Renibacterium salmoninarum*

Ignacio Chávez¹, Madelaine Mejías¹, Liliana Montt¹, Javiera Pérez¹, Verónica Cambiazo², Mauricio González², Dinka Mandakovic¹, Rodrigo Pulgar¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genómica y Genética de Interacciones Biológicas, INTA, Universidad de Chile. ⁽²⁾ Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, Universidad de Chile, Santiago, CL.

La industria del salmón tiene un importante rol en la economía chilena, siendo el mayor exportador de este producto después de Noruega, sin embargo la industria se ha visto enfrentada a diversos problemas de producción, siendo uno de los más significantes las enfermedades infecciosas. Una de éstas es la enfermedad bacteriana del riñón (BKD), la que produce efectos negativos sobre el crecimiento de los salmones y también mortalidad, lo que genera pérdidas económicas importantes a la industria. El agente etiológico de esta enfermedad es el patógeno intracelular *Renibacterium salmoninarum*, bacteria distribuida mundialmente pero limitadamente caracterizada, siendo pocos los factores de virulencia descritos que permitan comprender sus estrategias de infección. Mediante una estrategia bioinformática, hemos predicho desde el genoma de *Renibacterium salmoninarum* la presencia de 56 factores de virulencia mediante genómica comparada, utilizando una base de datos de factores de virulencia (VFdb). Estos factores de virulencia se distribuyen en 15 familias, destacando aquellas vinculadas al metabolismo de hierro, regulación, toxinas y componentes de superficie celular. Con el fin de determinar la existencia de estos factores de virulencia y determinar su respuesta transcripcional, se realizaron ensayos de infección *in vitro* en células embrionarias de salmón Chinook (CHSE-241) con la bacteria *Renibacterium salmoninarum*, las cuales fueron caracterizadas mediante microscopía óptica y de fluorescencia. Se diseñaron cebadores específicos de cada factor de virulencia y mediante qPCR se determinó la existencia de cada uno de ellos como también su perfil transcripcional, descando un aumento de expresión de la mayoría de ellos durante la infección intracelular. Estos resultados permiten disponer de información relevante para conocer los posibles mecanismos de infección de *Renibacterium salmoninarum* y con ello plantear nuevas estrategias para combatir eficientemente la BKD.

Proyecto FONDECYT N° 11161083, Proyecto FONDECYT N°1160802, Proyecto FONDECYT N°1151384, Proyecto FONDAP N°15090007, Proyecto Postdoctoral N°3170523.

MA378

Resistência antimicrobiana e produção de beta-lactamase de espectro estendido em Enterobacteriaceae isolados de gatos no Estado do Paraná, Brasil

Andrade Ana C¹, Caetano Isabel CS², Barbosa Lidiane N², Oliveira Vanessa RC², Martins Lisiane A², Maia Tatiana PA¹, Sabadin Jéssica C¹, Gonçalves Daniela D². ⁽¹⁾ Medicina Veterinária, Clínica, Di Gatto Clínica Veterinária de Felinos, Cascavel, BR. ⁽²⁾ Ciência Animal, Universidade Paranaense – Umuarama, Universidade Paranaense, Umuarama, BR.

No Brasil, a presença de gatos como animais de estimação tem aumentado, porém, o conhecimento sobre a sanidade desta espécie animal e os padrões de comportamentos ainda são pouco conhecidos, permitindo considerá-los como importantes elos da cadeia epidemiológica de micro-organismos que apresentam resistência bacteriana. A resistência bacteriana é considerada um dos maiores problemas de saúde pública mundial, onde infecções e surtos causados por bactérias multirresistentes são cada vez mais frequentes. Cepas produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) são resistentes às penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos, porém são sensíveis aos clavulanatos e têm sido detectados em diferentes espécies de animais assintomáticos. Isolar, identificar e avaliar o perfil de resistência bacteriana das enterobactérias produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) de gatos domiciliados (*Felis silvestris catus*). Foi colhido swab do orifício anal e cavidade oral de 25 gatos domiciliados, realizado o isolamento e identificação bacteriana, teste de sensibilidade aos antimicrobianos e o teste fenotípico para detecção de cepas produtoras de ESBL. Dos 50 swabs coletados, foi possível realizar isolamento bacteriano em 38 amostras, sendo 40% do orifício anal e 36% da cavidade oral, foram encontradas *Escherichia coli* em 90% do orifício anal e 94,4% da cavidade oral, destas 2% foram consideradas cepas produtoras de ESBL. Em relação à resistência bacteriana no orifício anal, foi encontrado índice de 35% e os antibióticos que apresentaram maior resistência foram a ampicilina, amoxicilina, ácido nalidixico, sulfazotrim, tetraciclina e aztreonam. Na cavidade oral o índice de resistência bacteriana foi de 64,7% e os antibióticos que apresentaram maior resistência foram ampicilina, amoxicilina, cefoxitina, amoxicilina + clavulanato, aztreonam, ceftriaxona e ácido nalidixico. Os resultados demonstraram a presença de cepas da família Enterobacteriaceae associado à elevada resistência bacteriana com amostras indicativas de cepas produtoras de ESBL em gatos domiciliados na região oeste do Estado do Paraná, Brasil. Estes resultados confirmam que os gatos domiciliados podem ser considerados como reservatórios de micro-organismos multirresistentes, que podem ser um sério problema de saúde pública, considerando a possibilidade da disseminação entre bactérias da microbiota dos felinos e humanos.

DEGPP, Di Gatto Clínica Veterinária de Felinos, Fundação Araucária e a CAPES.

MA379

Detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) harboring class 1 integron isolated from healthy dairy cattle

Alves Taila Santos¹, Vieira Taís Baruel¹, Lara Gustavo Henrique Batista², Ribeiro Márcio Garcia², **Leite Domingos Da Silva**¹. ⁽¹⁾ Departamento de Genética, Evolução, Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas, SP, BR. ⁽²⁾ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Botucatu, SP, BR.

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) can be responsible for severe infections in humans and the healthy cattle are a known STEC's reservoir. STEC harboring antimicrobial resistance determinants in mobile genetic elements, as well as integrons, is a concern. We investigated STEC presence in feces of cattle with subsistence milk production in Botucatu, SP, Brazil. Virulence genes (*stx1*, *stx2*, *eae*, *hlyA*, *StA*, *LTII*, *cnf1*, *cnf2*, *K99*, and *F17*) and integron (*int11* and 5'CS-3'CS) were detected by PCR. Antimicrobials susceptibility was performed by disc diffusion test. Strains harboring *stx1* and/or *stx2* were assayed for the *in vitro* cytotoxicity in Vero cells, PCR-based replicon typing (PBRT), *E. coli* phylo-typing, and *E. coli* O157 and H7 detection by PCR. Ninety strains were isolated from 10 calves and eight cows. The isolates from the cows did not have any genes tested. Ten *E. coli* (11.1%; 10/90) from calves' feces showed *stx1* and cytotoxic effect in Vero cells and class 1 integron. None strain showed *stx2*. Seven STEC showed *eae* gene and seven, *hlyA*. Of these, four strains harbored *eae+hlyA*. Plasmid incompatibility groups (Inc) found were N, FIA, FIB, P, K, B/O, F. All STEC were assigned to B1 phylogroup. None STEC showed positive genotype for O157 or H7. Ten *E. coli* (11.1%; 10/90) showed multidrug resistance (MDR, resistant to ≥ 3 antimicrobial classes) of which one was STEC and four were isolated from the cows. All the STEC were class 1 integron positive. The Inc groups found in STEC, indicate that strains from this study are harboring plasmid with potential for conjugation and resistance genes dissemination, but studies using farms in the region are needed. STEC isolation within the dairy environment is a concern due to milk contamination risk. This is worsened with integrons and plasmids presence that results with potential antimicrobial resistance genes dissemination in STEC.

FAPESP (2015/15425-2).

MA380

Impacto del uso de suelo sobre las fuentes de contaminación fecal en ríos: riesgo para la salud humana y animal

Constanza Diaz¹, Carla Barria¹, Nicolas Villagra², Leonardo Vera³, Woutrina Smith⁴, Minji Kim⁵, Aiko Adell¹.

⁽¹⁾ Medicina Veterinaria, Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽²⁾ Lab. Patogénesis Molecular y Antimicrobianos, Medicina, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽³⁾ Escuela de ingeniería ambiental, Facultad Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ One Health Institute, School of Veterinary Medicine, University of California, Davis, California, US. ⁽⁵⁾ Department of Civil and Environmental Engineering, University of California, Davis, California, US.

Según la Organización Mundial de la Salud, más de 2,2 millones de muertes al año son producto de enfermedades infecciosas transmitidas por agua. Los patógenos ingresan a las fuentes de agua superficial principalmente mediante material fecal, por tanto, es de vital importancia determinar quién está contaminando los ríos con patógenos. La contaminación fecal de los ríos se produce por el grupo de coliformes fecales. Sin embargo, estos no entregan información sobre la fuente de contaminación fecal, mientras que los microorganismos *Cryptosporidium*, *Giardia* y *Salmonella entérica* permiten rastrear fuentes de contaminación fecal al ser microorganismos hospedero específico. El objetivo de este trabajo es determinar el impacto del uso de suelo en la contaminación fecal en ríos. Para esto recolectamos 20 L de agua de los Ríos Maipo y Maule cada tres meses, iniciando desde agosto 2017. La elección de los sitios de muestreo se basó en el uso de suelo, dividiendo los ríos en zonas naturales, agrícolas, urbanas y ganadera/forestal. Para la determinación de coliformes fecales se utilizó el método de número más probable siguiendo la normativa chilena Nch 1333. Por otro lado, se utilizó el método de ultrafiltrado para aumentar la probabilidad de detectar los patógenos de interés en las muestras de agua. La cuantificación de *Cryptosporidium* y *Giardia* se realizó por separación inmunomagnética e inmunofluorescencia directa, además de confirmación mediante PCR y secuenciación para identificar sus genotipos y fuentes de origen. Para *Salmonella enterica* se determinó el número de unidades formadoras de colonias (UFC) en medio de cultivo XLT-4 y bismuto sulfito y confirmación mediante PCR para genes exclusivos de *Salmonella* tifoïdales y no tifoïdales. Los resultados preliminares indican niveles sobre la norma chilena de coliformes solo en el río Maule en la zona urbana en noviembre 2017. Consecuentemente, se detectó *Cryptosporidium* y *Giardia* principalmente en muestras correspondientes a zona urbana, al igual que *Salmonella* tifoïdales y No tifoïdeal. Por lo tanto, nuestros resultados permitirán identificar la zona y hospedero que contribuye más a la contaminación fecal de los ríos, lo que permitirá diseñar mejores medidas de mitigación que conllevará a prevenir infecciones transmitidas por agua.

Fondecyt de Iniciación 11160116, Proyecto UNAB regular DI-4-17/RG.



MA381

Identification and characterization of outer membrane vesicles from the fish pathogen *Vibrio ordalii*

M Echeverría-Bugueño^{1,2,3}, L.F Aguilar¹, D. Tapia-Cammas^{2,3}, R Irgang^{2,3}, R Avendaño-Herrera^{2,3}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Fotofísica y Espectrofotometría, Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola, Facultad de Ciencias de la Vida, Andres Bello, Viña del Mar, CL. ⁽³⁾ Interdisciplinary Center for Aquaculture Research, (INCAR), Viña del Mar, CL.

Various bacterial diseases associated with fish have been reported in our country given the increase in the aquaculture industry. One of these diseases is Vibriosis, a disease that causes hemorrhages and complete losses of the culture pools. *Vibrio ordalii* has been isolated from the outbreaks and antibiotics are used as treatment, which must be reduced or eliminated according to current regulations. New pharmacological targets must be found as an alternative to the usage of antimicrobial compounds and in this study we used the constitutive production of outer membrane vesicles by Gram-negative bacteria and the use of cationic peptides to attack the disease. With this purpose we characterized two *V. ordalii*, one Chilean isolate and the type strain ATCC 33509T by scanning electron microscopy, Raman, SDS-PAGE, fluorescence and techniques associated with the study of membranes (Anisotropy and Generalized Polarization) components of OMVs. The areas involved in the interaction between host cells and bacteria are evaluated by fluorescence microscopy and specific marking. Cationic peptides were synthesized and the effects of these on the infection rate were evaluated. It is expected to analyze the effect between peptides and if this improves when adding an adjuvant. CONICYT FONDAP N° 15110027 and FONDECYT N° 1150695, CONICYT Doctoral Scholarship N° 21180737.

MA382

***Mycoplasma synoviae* e *M. gallisepticum* em associação a outros agentes bacterianos em poedeiras comerciais com síndrome respiratória**

Silva Rosiane De Lima¹, Machado Leandro Dos Santos¹, Da Silva Mariane Meloni¹, Figueira Arthur De Almeida¹, Da Cunha Nathalie Costa¹, Abreu Dayse Lima Da C.¹, Soares Nilce Maria², Do Nascimento Elmiro Rosendo¹, Pereira Virgínia Leo De A.¹. ⁽¹⁾ Departamento de Saúde Coletiva, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, BR. ⁽²⁾ Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Bastos, Instituto Biológico, Bastos, BR.

A produção de ovos no Brasil evoluiu de forma significativa, porém desafios sanitários nas aves continuam impactando a cadeia produtiva, elevando os custos e prejudicando o desempenho zootécnico. *Mycoplasma synoviae* (MS) e *M. gallisepticum* (MG) destacam-se pelo grande impacto econômico em todos os níveis da atividade avícola, causando queda na produção e qualidade dos ovos, na eficiência alimentar, nas taxas de viabilidade, além do alto custo do tratamento das aves. Além dos micoplasmas outros agentes tais como *Avibacterium paragallinarum* (Ap), *Pasteurella multocida* (Pm), *Ornithobacterium rhinotracheale* (Or) e *Staphylococcus* spp. podem provocar doença respiratória nas aves, isoladamente ou sinergicamente. O objetivo deste trabalho foi diagnosticar MS e MG associados a outros agentes bacterianos em galinhas de postura com síndrome respiratória. Foram coletados suabes de traqueia em meio de Frey modificado de 20 poedeiras comerciais com sinais respiratórios, alojadas em granjas na região de Bastos-SP. Estas amostras foram submetidas ao isolamento de *Mycoplasma* spp. e à PCR para detecção de MS, MG, Ap, Pm, Or e *Staphylococcus* spp.. Das 20 amostras analisadas, 65% (13/20) foram positivas ao isolamento para *Mycoplasma* spp. e 95% (19/20), à PCR. Ainda à PCR, foram positivas para MS 75% (15/20) das amostras estudadas e 10% (2/20), para MG. Para as demais bactérias, 5% (1/20) das amostras foram positivas para Ap, 15% (3/20) para Or e 20% (4/20) para *Staphylococcus* spp. A infecção mista foi observada em 35% (7/20) das aves, sendo em uma ave por MS e MG, uma ave por MS e Ap, uma ave por MS e Or, e em duas aves associação de MS e *Staphylococcus* spp. Em uma ave foi detectada a infecção concomitante por MS, Or e *Staphylococcus* spp. e uma das aves positivas para MG apresentou sinergismo com *Staphylococcus* spp. Todas as amostras foram negativas para *Pasteurella multocida*. A PCR foi mais eficiente que o isolamento na detecção de micoplasmas aviários e tanto MG quanto MS atuaram de forma sinérgica com outras bactérias provocando a síndrome respiratória persistente e dificultando o tratamento e controle da doença em poedeiras comerciais.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio financeiro.

MA383

Caracterización microbiológica y molecular de *Babesia* spp. en centro veterinarios y clínicas veterinarias de la ciudad de Cartagena de Indias, Colombia, Suramérica

Claudia Consuegra¹, **Barbara Arroyo**², Olga Perez³. ⁽¹⁾ Maestría Microbiología Clínica, Facultad de Ciencias de la Salud Grupo de Investigación en Salud y Prácticas Sociales SYPRES, Universidad de San Buenaventura, Cartagena de Indias, CO. ⁽²⁾ Departamento de Ciencias Básicas, Grupo de Investigaciones en Ciencias Biomédicas, Toxicológicas y Ambientales de la Universidad de Cartagena Facultad de Medicina, Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias, CO. ⁽³⁾ Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina Maestría de Microbiología, Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias, CO.

La Babesiosis es causada por *Babesia* spp., hemoparásito transmitido por la garrapata *Ixoides*, causantes de enfermedades zoonóticas emergentes. Infecta a caninos, bovinos y las especies *divergens*, *venatorum*, *duncani* y *microti* a humanos. En Colombia, la enfermedad no es de notificación obligatoria y se desconoce su carga real. Mientras en caninos y ganado vacuno la prevalencia es alta, en humanos es baja, lo que la convierte en un problema de salud pública. El objetivo de este estudio fue la caracterización microbiológica y molecular de *Babesia* spp. en veterinarios y auxiliares que laboran en 18 clínicas y centros veterinarios, adscritos a una asociación de Cartagena de Indias, Colombia. Fue diseñado un estudio descriptivo transversal, en tres localidades. Análisis microbiológicos y moleculares fueron realizados. Variables sociodemográficas, factores de riesgo y sintomatología fueron descritos. Un total de 63 extendidos de sangre periférica fueron coloreados con Wright y Diff-Quik y PCR convencional fue realizada con cebadores específicos. El 4,76% de los pacientes presentó trofozoitos en forma anular y piriformes compatibles con *Babesia* spp. en extendidos con tinción de Wright y Diff-Quik. El 71% de los consultorios y/o clínicas veterinarias se ubican en la localidad Histórica y del Caribe. Un 89,29% reportó presencia de vectores en su trabajo, 73,21% convivía con animales y 46,43% vectores en las viviendas. Síntomas como cefalea (42,86%) y fatiga (28,57%) fueron descritos. Los resultados para *Babesia* spp. para PCR convencional fueron negativos. La detección incongruente de mórulas intracelulares y resultados negativos de PCR señalan la necesidad de mejorar las técnicas para el diagnóstico precoz de *Babesia* spp. en centros y clínicas de atención veterinarias. El personal veterinario está expuesto a factores de riesgo relacionado con enfermedades zoonóticas y es necesario desarrollar estrategias de diagnóstico y prevención efectivas para este tipo de infecciones.

Universidad de Cartagena, Universidad de San Buenaventura, Cartagena.

MA384

Evaluación de medios de cultivo para la conservación de *Sepedonium* spp. mediante transferencia periódica

Marcela Villegas¹, Oriana Betancourt¹, Nicole Perez¹, Götz Palfner², Francisco Encina³, Angélica Casanova-Katny⁴.

⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Veterinarias y Salud pública, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco. ⁽²⁾ Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, CL. ⁽³⁾ Ingeniería en Recursos Naturales, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Temuco, CL. ⁽⁴⁾ Laboratorio de ecofisiología vegetal, Vicerrectoría académica, Universidad Católica de Temuco, Temuco, CL.

Sepedonium spp. es un micoparásito que infecta y ataca a hongos del orden boletales, tanto nativos como introducidos. En nuestro país el género *Sepedonium* prácticamente no se conoce. Recientemente, se han obtenido unas cepas de este micoparásito atacando el hongo nativo *Boletus loyo*, siendo *Sepedonium* sp. de mucho interés biotecnológico dado por su producción de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana, antifúngica, antiparasitaria y antiviral. Es por esto que hemos desarrollado un estudio para establecer las condiciones básicas de cultivo y conservación del micoparásito a largo plazo. Los métodos de conservación preservan microorganismos viables por períodos prolongados, sin embargo no todas las técnicas son aplicables a diversas especies de hongos. En este trabajo se evaluó la capacidad de conservación de cuatro medios sobre *Sepedonium* spp. bajo condiciones de almacenamiento. Quince cepas de *Sepedonium* spp. fueron mantenidas en agua destilada, Agar Malta DIFCO® (MA), agar papa (PA) y agar papa-zanahoria (PCA) modificados. Se almacenaron en duplicados durante 120 días a temperatura ambiente. Se recuperaron mediante transferencia a placas de MA en triplicados, incubadas a 25°C. Se midió el crecimiento diario en milímetros mediante pie de metro durante 10 días. El crecimiento promedio de las cepas al día 7 de recuperación en milímetros corresponde a 19,44 para agua destilada, 29,68 para MA, 35,11 para PA y 36,23 para PCA. El PCA es altamente recomendado para mantener stocks fúngicos. Los medios utilizados lograron conservar propiedades fúngicas de las cepas una vez recuperadas. Esto respalda el uso de medios convencionales para almacenaje, evitando cambios fisiológicos, morfológicos y contaminación. Según datos recabados para *Sepedonium* spp., el medio MA conserva eficazmente sus propiedades antibacterianas en comparación a otros evaluados. El agua destilada fue el único medio donde no se recuperó la totalidad de las cepas estudiadas, indicando que, si bien es ampliamente utilizado para mantener hongos filamentosos, no puede asegurarse la viabilidad de *Sepedonium* spp. Se sugiere el uso de medios naturales o semisintéticos como agar papa y papa zanahoria.

Agradecimientos: Investigación financiada por el proyecto FONDEF Idea ID16I10286 "PETARAM: Peptaiboles con propiedades antibacterianas contra bacterias patógenas humanas multiresistentes".

MA385

Caracterización de la diversidad de bacteriófagos líticos de *Salmonella* aislados en producciones bovinas

Fernando Dueñas¹, Dácil Rivera^{2,1}, Rodolfo Tardone¹, Serrano María Jesús¹, Hervé-Claude Luis Pablo³, Moreno Switt Andrea I¹. ⁽¹⁾ Ciencias de la Vida, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽²⁾ Microbiología de Alimentos, Química y Farmacia, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Salmonella es uno de los principales causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), con más de 2600 serotipos distribuidos globalmente. Los bacteriófagos son virus altamente específicos que infectan bacterias y representan la entidad biológica más abundante y genéticamente diversa del planeta. Existe una diversa población de fagos de *Salmonella* presentes en lecherías, capaces de lisar serotipos de *Salmonella* comunes en bovinos. Estudios indican que bacteriófagos aislados desde distintas explotaciones bovinas y en sitios geográficamente distanciados presentan perfiles de lisis distintos. En este estudio se determinó la diversidad de bacteriófagos existente en ganaderías bovinas en Chile. Se realizaron muestreos de fecas bovinas y ambientales (camas, pisos, bebederos) en predios de productores bovinos (Grandes (GP) y pequeños productores (PP), de las cuales se realizó el aislamiento de bacteriófagos de *Salmonella*. El rango hospedero fue usado para la caracterización del perfil de lisis, donde se utilizaron 26 serotipos de *Salmonella*. Se realizó un análisis de patrones de restricción con RFLP, además de SDS page. Por medio de microscopía electrónica de transmisión (TEM) se identificó su estructura morfológica. Este estudio detectó que fagos aislados en GP (45 fagos) presentaron 19 perfiles de lisis distintos, infectando mayormente a serotipos Javiana (100%), Dublin (91%), Enteritidis (89%) y Typhimurium (44%). En PP (27 fagos) se presentaron 8 perfiles de lisis donde los serotipos mayormente infectados son Dublin y Enteritidis (96% c/u), Javiana (93%) y en menor medida 4,5,12:i- (11%). Los perfiles de lisis en fagos de los distintos tipos de explotaciones fueron distintos, con 19 en GP, comparado con 8 en PP. Además, los serotipos lisados por mayor cantidad de bacteriófagos en los dos tipos de producción corresponden a *Salmonella* del serogrupo D. Las imágenes de TEM indican que estos bacteriófagos pertenecen al orden Caudoviral, con un tamaño de 75 nm (Familia *Podoviridae*) y 195 nm (Familia *Siphoviridae*). Anteriormente, nuestro grupo identificó los fagos específicos del serogrupo D en otras regiones de Chile, lo que sugiere una distribución muy amplia de fagos que infectan el serogrupo D *Salmonella*. La variada distribución de fagos podría tener un rol en la distribución de serotipos de *Salmonella*.

FONDECYT Inicio 11140108, Proyecto Interno Inicio a la Investigación (UNAB).



MA386

Study of staphylococci biofilm in a new *in vivo* method

Rodrigo Campos Da Silva¹, Burst Flavia Roberta¹, Danielle Trentin², Macedo Alexandre José¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Biofilmes e Diversidade Microbiana, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, BR.

⁽²⁾ Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA), Porto Alegre, BR.

Biofilm is a bacterial lifestyle in which cells live surrounded by a self-produced matrix and are protected against antibiotics and host immune response. Biofilm formation is related to 80% of nosocomial infections, especially those associated to implantable medical devices. Studies focused in the understanding of bacterial virulence and pathogenicity as well as the search of new antimicrobials requires experimental animal models. It is well known that ethic issues and high cost involved in laboratory maintenance of mammalian animals are disadvantages of these hosts. This scenario boosted the development of alternative animal models to study microbial infections, including *Galleria mellonella* larvae which possesses low maintenance costs and is absent of ethic restriction. Taking into account the lack of alternative *in vivo* model available to evaluate biofilm formation, the aim of this study was to develop a methodology to analyze two clinically important bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* regarding biofilm formation using *G. mellonella* larvae. We employed sterile tooth brush bristles as an abiotic surface to mimic a medical device. A standardized inoculum of the two strains was injected in the last proleg of the larvae together with a bristle and respective controls were made. After 24h at 37°C, bristles were removed from larvae and washed to remove non-adherent bacteria. The adhered cells were detached from bristles with vortex cycles and quantified by CFU counting using staphylococci-selective medium mannitol salt agar. Experiments were made in triplicate. The washed bristles were submitted to scanning electron microscopy (SEM). About 3×10^6 and 1×10^6 CFU of *S. aureus* and *S. epidermidis*, respectively, were recovered from bristles and SEM images confirmed biofilm formation. Control group did not show adherent bacteria, as demonstrated by non-CFU counting and SEM images, indicating that microbiota do not interfere in experiments. We present a feasible method to evaluate bacterial biofilm *in vivo* and in the near future we intent to use this model to evaluate antibiofilm compounds.

MA387

Caracterización del efecto de la temperatura sobre la morfología de *Escherichia coli* BW25113 y sus mutantes en la vía de síntesis del lipopolisacárido

Mackarena Alarcón Torres¹, Simón Correa Martelli¹, Ramos Felipe I Rojas¹, Hegaly Mendoza¹, Daniel Aguayo¹.

⁽¹⁾ Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Los mecanismos por los cuales diferentes agentes antimicrobianos traspasan la membrana externa (ME) de las bacterias Gram-negativo (BGN) no están completamente dilucidados. La capa externa de la ME está compuesta en un 75% por lipopolisacáridos (LPS), los cuales son un factor fundamental en la mantención de la integridad funcional y estructural de la ME. Además, debido a la exposición al medio extracelular de los LPS, sus propiedades fisicoquímicas contribuyen directamente a la protección de las BGN frente a agentes exógenos. Nuevos antecedentes muestran que cepas derivadas de *Escherichia coli* BW25113 que muestran una composición alterada de la región de heptosas del oligosacárido central (OC) del LPS, presentan susceptibilidad a vancomicina solo cuando son crecidas a 15 °C. Este aumento en la sensibilidad se ha relacionado con cambios en la integridad de la ME producto de la reestructuración de la capa de LPS, el cual es promovido por la ausencia de las interacciones inter e intra LPS en el OC. En este estudio se buscó establecer si la exposición a bajas temperaturas, en conjunto con la ausencia de grupos específicos del LPS comprometen la integridad de la ME. Para esto, se caracterizó por microscopía electrónica de bajo voltaje la morfología celular de las cepas $\Delta waaP$, $\Delta waaQ$ e $\Delta waaY$ derivadas de *E. coli* BW25113, las cuales no presentan los grupos fosfatos de las heptosas I y II, y la heptosa III, las cuales fueron crecidas O/N a 15 °C y 37°C o expuestas shock térmico a 15 °C por 5, 10 y 15 minutos. Esta caracterización mostró que la morfología bacteriana depende de componentes específicos del LPS, donde la mutante $\Delta waaP$ presenta los mayores cambios, con un fenotipo más rugoso y deforme en condiciones de crecimiento y estrés a 15°C. Esta caracterización contribuye a definir el rol de los grupos químicos presentes en el LPS a la adaptación y mantención de la integridad celular, donde la remoción de estos grupos afecta la bacteria de una manera global.

Este trabajo de Tesis fue financiado por el proyecto FONDECYT Regular N° 1171654.



MA388

Contribution of murine models to recent advances in preventive and therapeutic approaches against human respiratory syncytial virus infection

María José Altamirano-Lagos¹, Díaz Fabián E¹, Soto Daniel A², Vásquez Abel E², Kalergis Alexis M^{3,1}. ⁽¹⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Salud Ambiental, Sección de Biotecnología, Instituto de Salud Pública de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Departamento de Endocrinología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

The human Respiratory Syncytial virus (hRSV) is the leading cause of lower respiratory tract illness in infants and children worldwide, despite a monoclonal antibody treatment being available. The development of vaccines and new therapeutic approaches against this severe infection has been challenging scientists for decades. Along these lines, the mouse model has been very important to achieve past and recent advances in pre-clinical testing of new vaccines and antiviral treatments. Here, we describe the most recent contribution of murine models made to allow preclinical evaluation and mechanistic understanding of new drugs and therapies. Although clinical symptomatology of hRSV disease in mice has certain differences in comparison to humans and even between various mouse strains, this animal model support viral replication in lung and develop moderate bronchiolitis. Also, body weight loss within the first 3 days of infection and lung neutrophil infiltration are well-established disease parameters for to evaluated protection against this severe disease. In mice, hRSV infection elicits a Th2 immune response, which confers poor antiviral immunity and enhanced damaging inflammation. Preclinical trials have been conducted in mice, showing that immunized animals with a recombinant BCG strain expressing hRSV antigens show protective Th1 type immunity against hRSV in mice, decreasing viral replication and disease severity in these animals. These successful results have allowed rBCG-N-hRSV testing in a phase I clinical trial in humans.

MA389

Uso de pigmentos y nanomateriales producidos por microorganismos en la construcción de celdas solares de 4ta generación

Giovanna Anziani-Ostuni¹, Nicolás Órdenes-Aenishanslins¹, Carolina Paz Quezada¹, Carolina Arriaza-Echanes¹, José Pérez-Donoso¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de BioNanotecnología y Microbiología, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa (CBIB), Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

En los próximos 50 años una de las mayores crisis que enfrentará nuestro planeta es el agotamiento de fuentes de energía derivadas de los combustibles fósiles. La luz solar, es uno de los recursos renovables no convencionales más disponibles y limpios. Además, su obtención es cada vez más eficiente debido al constante desarrollo de la tecnología fotovoltaica. Uno de los principales desafíos de esta tecnología es la eficiencia y el impacto ambiental asociado a la construcción de los dispositivos fotovoltaicos. Para resolver esto, las nuevas generaciones de celdas solares (cuarta generación) buscan incluir materiales obtenidos de manera biológica. En este contexto, las Celdas Solares Sensibilizadas (SSCs) son el principal modelo de interés ya que permiten la adición de biomoléculas capaces de captar fotones a partir de la luz solar. Basados en esto, nuestro grupo se ha enfocado en la búsqueda y aplicación en celdas solares de nuevos materiales sensibilizadores de origen biológico. A la fecha, principalmente hemos apuntado a la producción de pigmentos (*dye sensitized solar cells*, DSSCs) y a la biosíntesis de nanopartículas fluorescentes o “quantum dots” (*quantum dots sensitized solar cells*, QDSSCs). A partir de muestras de suelo extraídos de distintos ambientes extremos (Salar de Atacama, Antártica, Mar Muerto, entre otros), hemos aislado bacterias con la capacidad de biosintetizar nanopartículas o pigmentos con propiedades que favorecen su aplicación en celdas: resistencia a radiación UV, tolerancia a altas concentraciones de metales pesados y ambientes ácidos. Utilizando estos aislados hemos obtenido pigmentos carotenoides y hemos logrado biosintetizar distintas nanopartículas: TiO_2 , CuS , CuInS , CdS , CdS/Ag , Ag_2S y CdS/CdSe . Tanto los pigmentos como las nanopartículas producidas fueron incorporadas en celdas solares y sus parámetros fotovoltaicos fueron determinados: voltaje de circuito abierto (V_{oc}), densidad de corriente (I_{sc}) y eficiencia (η). Los resultados obtenidos validan el uso de estos compuestos producidos por bacterias como fotosensibilizadores en celdas solares, captando los fotones de la luz solar para la generación de electricidad. Actualmente estamos buscando nuevos microorganismos productores de pigmentos y/o capaces de producir nanopartículas con propiedades especiales para ser usados en dispositivos fotovoltaicos.

Financiado por FONDECYT 1151255 (JMP-D) e INACH RT-25_16 (JMP-D).

MA390

Evaluation of the contribution of the intimin, type 3 secretion system and flagella in the adherence of an atypical enteropathogenic *Escherichia coli* displaying the hybrid localized/diffuse adherence pattern, isolated during a diarrheal outbreak in Brazil

Vieira Melissa Arruda¹, Dias Regiane C.B.², Elias Waldir Pereira³, Luís Fernando Dos Santos⁴, Gomes Tânia Aparecida Tardelli⁵, Hernandes Rodrigo Tavanelli⁶. ⁽¹⁾ Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, BR. ⁽²⁾ Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, BR. ⁽³⁾ Microbiologia, Instituto Butantan, São Paulo, BR. ⁽⁴⁾ Núcleo de Doenças Entéricas e Infecções por Patógenos Especiais, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, BR. ⁽⁵⁾ Microbiologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, BR. ⁽⁶⁾ Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, BR.

The hallmark of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) infection is the ability to cause a histopathologic lesion termed Attaching and Effacing (AE), characterized by microvillus destruction on epithelial cells and the formation of pedestal-like structures rich in F-actin. EPEC are divided into two groups: typical (tEPEC) and atypical (aEPEC), based on the presence of the EPEC adherence factor plasmid in the former group. aEPEC are emerging pathogens, isolated with high frequency from diarrheal patients, and implicated in diarrheal outbreaks. In the present study we analyzed a collection of seven aEPEC of serotype O2:H16 (four obtained from a diarrheal outbreak and three from sporadic cases), regarding the adherence pattern produced in HeLa cells, and the ability to induce the AE lesion by the FAS (Fluorescent Actin Staining) test. In addition, one isolate (IAL5133), was selected to investigate the contribution of important surface bacterial structures, such as the intimin, type 3 secretion system (T3SS) translocon and flagella, in the adherence of this isolate to epithelial cells, by generating isogenic mutants in the *eae*, *escN* and *fliC* genes, respectively. All seven isolates were able to adhere to HeLa cells, producing the following adherence patterns: localized (LA)/diffuse (DA) adherence (five isolates), LA-like and aggregative adherence (one isolate each); and regardless of their adherence patterns, all isolates were FAS-positive in HeLa cells. Then, the aEPEC IAL5133, which produced the LA/DA hybrid adherence pattern, was mutated in the *eae* and *escN* genes, resulting in a 96.7% and 97.6% ($p < 0.05$) decrease in the number of cell-associated bacteria, respectively, as compared to the wild-type strain. On the other hand, neither the number of cell-associated ($p > 0.05$) nor the FAS-positive were affected by the *fliC* mutation. *In trans* complementation restored the ability of the *eae* and *escN* mutants to produce AE lesion (FAS-positive) and efficiently adhere to HeLa cells. In conclusion, we demonstrated that intimin is essential for the adherence of aEPEC IAL5133 to HeLa cells, while the T3SS-translocon and flagella do not appear to influence the establishment of the LA/DA phenotype.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2015/26207-6).



MA391

Caracterización molecular de las variantes del Virus Epstein-Barr detectadas en cavidad oral de adolescentes colombianos

Daniela Arturo¹, Sebastian Giraldo¹, Andres Castillo¹. ⁽¹⁾ Biología, Ciencias Naturales y Exactas, Universidad Del Valle, Cali, CO.

Introducción: el Virus de Epstein Barr (VEB) es el principal agente etiológico de la mononucleosis infecciosa (IM) en adolescentes. Diversos estudios han sugerido que algunas de sus variantes virales pueden asociarse a patologías neoplásicas y otras a diversos orígenes geográficos; sin embargo, en Latinoamérica son pocos los estudios realizados en este tema. Para Colombia no existen reportes. **Objetivo:** En el presente estudio exploratorio se caracterizó filogeográficamente las variantes de VEB presentes en la cavidad oral de adolescentes aparentemente sanos de la ciudad de Cali, Colombia. **Métodos:** En total se analizaron ocho muestras positivas para VEB caracterizadas molecularmente por secuenciación directa de un fragmento de 584 pb de la región C-Terminal del gen LMP1 con el método de Sanger. La identificación de las variantes se ejecutó por análisis de porcentajes de identidad mediante el algoritmo BLASTn al realizar un alineamiento de las secuencias obtenidas *versus* secuencias de aislados de VEB de líneas celulares o reportadas en estudios realizados en diferentes regiones a nivel mundial y almacenadas en el GenBank-NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=10376>). Tanto el análisis filogenético como el de mutaciones se realizaron con el programa MEGA v7. **Resultados:** Los VEB caracterizados en el presente estudio se distribuyeron en dos agrupaciones filogenéticas. En donde el 62% de los VEB agruparon con la variante presente en la línea celular Raji , derivada de un paciente con linfoma de Burkitt; y un 38% agruparon con variantes de origen geográfico del mediterráneo. Para el análisis de mutaciones se tomó como secuencia de referencia ID: NC_007605, identificándose tres mutaciones no sinónimas en el dominio carboxilo terminal activadora 1 (CTAR1), las cuales fueron: D210N, G212S y S229T. **Conclusiones:** en el presente estudio se encontró que un grupo de VEB que circulan en la cavidad de oral de adolescentes del sur occidente Colombiano, se asemeja a una variante asociada con el desarrollo del linfoma de Burkitt, y el otro grupo, a variantes con un origen en el mediterráneo. Además, se halló la presencia de tres mutaciones no sinónimas en el dominio CTRA1 de LMP1. Futuros estudios sobre cómo estas variantes afectan la función de la proteína LMP1 son necesarios.

Proyecto financiado por la Vicerrectoria de Investigaciones de la Universidad Del Valle - Convocatoria Interna 71114.

MA392

Diversidad del micoparásito *Sepedonium* sobre Boletales nativos e introducidos en Chile

Josefa Binimelis¹, Angélica Casanova-Katny², Celia Lima³, Gerardo González-Rocha³, Götz Palfner¹. ⁽¹⁾ Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. ⁽²⁾ Núcleo de Estudios Ambientales, Universidad Católica de Temuco, Temuco, CL. ⁽³⁾ Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL.

Sepedonium, género anamórfico de la División Ascomycota, Orden Hypocreales, Familia Hypocreaceae. Las especies conocidas son todas micoflicas parasitando cuerpos fructíferos de basidiomicetes del Orden Boletales de distintos ecosistemas boscosos en ambos hemisferios. Se ha demostrado la capacidad de especies de *Sepedonium* spp. de producir metabolitos con actividad antimicrobiana que son de gran interés farmacéutico. Considerando que en Chile existen hospederos Boletales tanto nativos como introducidos del micoparásito, pero que al mismo tiempo existen muy pocos antecedentes de cuáles son las especies de *Sepedonium* presentes en el país, se postula que en función del origen geográfico de los hospederos, las especies de *Sepedonium* que parasitan Boletales en Chile serán diferentes a aquellas reportadas previamente. Por esto, el objetivo general fue caracterizar e identificar especies de *Sepedonium* encontradas sobre Boletales nativos e introducidos en el Centro-Sur de Chile. Se realizaron campañas de recolección de hospederos infectados en la Región del Bio Bío y Región de la Araucanía durante 2017-2018. Se aisló micelio de *Sepedonium* spp. y se cultivaron las diferentes cepas en Agar Malta Peptona para su análisis taxonómico. Se encontró un total de 35 cepas colonizando tanto hospederos introducidos *Chalciporus piperatus*, *Suillus granulatus*, *Suillus luteus* y *Paxillus involutus* como hospederos nativos *Boletus loyo*, *Boletus loyita*, *Boletus putidus* y *Gastroboletus valdivianus*. Las especies del mico-parásito en cultivo fueron caracterizadas e identificadas en base a un análisis de estructuras micromorfológicas diagnósticas mediante microscopía óptica y electrónica. Adicionalmente se amplificó por PCR secuencias de ADN de la región ITS1-5.8-ITS2 y se compararon con bases de datos. Se identificaron cuatro especies, *S. ampullosporum* como primer registro para Chile, *S. chrysospermum* como segundo registro para Chile ambos parasitando hospederos introducidos, *S. laevigatum* como primer registro para Chile sobre hospedero introducido (*S. luteus*), y *S. aff. chalcipori* que había sido previamente informado sobre *B. loyo* y que en este trabajo fue encontrado sólo en Boletales nativos. Esta evidencia permite concluir que en Chile existe un grupo de especies subcosmopolitas de *Sepedonium* spp. sobre hospederos introducidos y un taxón (*Sepedonium aff. chalcipori*) especializado en Boletales nativos que posiblemente representa una especie nativa que requiere de estudios adicionales.

FONDEF ID16I10286.



MA393

***Bacillus subtilis* MinD regulates cell division via a dynamic interaction with the septum**

Laura Catalina Bohorquez¹, Henrik Strahl², Leendert Hamoen³. ⁽¹⁾ Swammerdam Institute for Life Sciences - SILS, Facultad de Ciencias, Universidad de Amsterdam. ⁽²⁾ The Centre for Bacterial Cell Biology Institute for Cell and Molecular Biosciences, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, GB. ⁽³⁾ Swammerdam Institute for Life Sciences - SILS, Universidad de Amsterdam, Amsterdam, NL.

In many rod-shaped bacteria the Min system, composed by MinC and MinD, prevents cell division close to cell poles. In *Escherichia coli* the MinCD proteins oscillate between both cell poles whereas in *Bacillus subtilis* these proteins form a static gradient decreasing towards midcell. Formation of protein gradients in such small cells is not trivial since cytoplasmic and membrane proteins have diffusion rates in the order of micrometers per second. The dynamic oscillation of Min proteins in *E. coli* has been thoroughly investigated, however it is less clear how a static Min gradient in *B. subtilis* established. Key to the formation of a Min gradient is the cycling of the ATPase MinD between monomeric and dimeric state and a reversible membrane association. Using different MinD mutants, we have confirmed here that this dynamic cycling is essential for a MinD gradient in *B. subtilis* and we show that, in contrast to *E. coli*, the monomeric and dimeric forms of MinD have comparable membrane affinities. Interaction with the septal and polarly located protein MinJ is essential for the MinD gradient in *B. subtilis* and requires MinD dimerization. We found that increasing the membrane affinity of MinD strongly reduces the formation of a gradient and affects interaction with MinC.

This research was funded by EU Marie Curie ITN grants ATP-BCT (020496-2) and AMBER (317338), Marie Curie CIG grant DIVANTI (618452) and STW Vici grant (12128).

MA394

Cenário epidemiológico de arboviroses no Brasil: Dengue, Zika, Chikungunya e Febre Amarela

Sabrina Buchtenkirch¹, Bruce De Souza Loanne Valéria¹, Martins-Filho Arnaldo Jorge². ⁽¹⁾ Biomedicina, UNAMA - Alcindo Cacela, UNAMA - Universidade da Amazônia, Belém, BR. ⁽²⁾ Seção de Patologia, Instituto Evandro Chagas - Ministério da Saúde, Ananindeua, BR.

Introdução: Os arbovírus são transmitidos por artrópodes (ARthropod BORne VIRUS). Existem mais de 150 espécies infectantes ao homem, com os principais circulantes no Brasil sendo Chikungunya (CHIKV), Zika (ZIKV), Dengue (DEN) e Febre Amarela (FA). São RNA vírus, CHIKV do gênero *Alphavirus* (*Togaviridae*), que entrou no Brasil em 2014; FA, DEN e ZIKV são *Flavivirus* (*Flaviridae*), FA tendo primeiro surto registrado no Brasil no século XVII, DEN entrado no país em 1981 e ZIKV com primeiros casos em 2015. **Objetivo:** Descrever o cenário epidemiológico de DEN, ZIKV, CHIKV e FA no Brasil, entre 1980 e 2018. **Metodologia:** Pesquisa realizada com dados epidemiológicos da literatura e boletins epidemiológicos do Ministério da Saúde (Brasil), Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS/PAHO) e Organização Mundial da Saúde (OMS/WHO). Dados analisados no software Graphpad Prism (teste Qui-Quadrado). **Resultados e Discussão:** Entre 1980 a 2018, os maiores surtos de FA ocorreram em 1993, 1999, 2000, 2003, 2009 e período 2016/2018, com 83 casos (20 óbitos), 76 casos (29 óbitos), 85 casos (40 óbitos), 65 casos (23 óbitos), 46 casos (27 óbitos) e 996 casos (320 óbitos), respectivamente ($p < 0,05$). No surto de CHIKV, foram registrados 492.347 casos entre 2014 a 2017 (407 óbitos), com 2016 e 2017 registrando 151.318 casos (216 óbitos) e 151.966 casos (173 óbitos), respectivamente, sem diferença estatística entre estes anos ($p > 0,05$). Em 2016 e 2017, houve 130.701 e 8.839 casos de Zika, respectivamente, com maior incidência em 2016 ($p < 0,05$). Para DEN, entre 1990 a 2018, o Brasil passou pelo maior surto em 2015, com 1.688.688 casos ($p < 0,05$). **Conclusão:** Em 2015 observou-se a maior epidemia de DEN. Recentemente, com entrada dos vírus CHIKV e ZIKV em 2014 e 2015, respectivamente, o país passou por surtos em larga escala nos anos de 2016 e 2017. Já na série histórica de FA, o período de 2016/2018 apresentou o maior surto já registrado no Brasil. Desde 2015 o Brasil vive surtos com diferentes vírus, cada ano um vírus responsável pelo maior número de casos. Estudos são necessários para verificar possível relação entre circulação concomitante desses vírus e número de casos.

MA395

Search for new extremophilic TNT-degrading enzymes for bioremediation and their overexpression

M. A. Cabrera¹, J. Jiménez¹, D. González-Nilo¹, J. M. Pérez-Donoso¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Bionanotecnología y Microbiología. Centro de Bioinformática y Biología Integrativa (CBIB), Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

TNT (2,4,6-trinitrotoluene) is a nitroaromatic explosive, carcinogenic and mutagenic for organisms. It is highly polluting and persistent in the environment due to its symmetrical chemical structure, which confers stability to it. Although several physical/chemical procedures for remediation of TNT contaminated soils exist, their implementation is not cost-effective. Therefore, there is a need for new alternatives to remove this compound from the environment. One approach is the use of microorganisms as environmentally friendly bioremediation agents. Nevertheless, to date there is no effective strategy for bioremediation of TNT or its derivatives. So, we decided to search for new microorganisms and/or their enzymes from extreme environments, such as Antarctica. This continent microbiologically poorly explored represents an interesting source of microorganisms and enzymes with unknown and potentially useful properties. To find new Antarctic TNT-degrading microorganisms and/or enzymes, soil samples were collected from Union Glacier and King George Island (22 and 20 isolates were obtained on M9 medium containing TNT, respectively). Based on their great capability to grow aerobically in the presence of TNT as C and/or N source, three microorganisms were selected for further analysis. Genomic DNA was extracted and then it was used to amplify the 16S rRNA gene. Phylogenetic analysis revealed that the isolates corresponded to bacteria belonging to the genus *Pseudomonas* (named strains JCJR2 and JCJR12 from King George Island) and *Kocuria* (named strain GU6 from Union Glacier). Subsequently, the whole genome of *Pseudomonas* strains was sequenced and a homology search of TNT-degrading enzymes (Nitroreductases and Old Yellow Enzymes) was performed. Within this group of enzymes, xenobiotic reductase B (XenB), a promiscuous enzyme that catalyzes the degradation of TNT through the two existing routes described (aromatic ring carbon reduction and nitro group reduction) was selected. Then, two XenB were discovered in both *Pseudomonas* strains, named XenB-J2 and XenB-J12, which showed 78% and 85% identity against XenB from *Pseudomonas putida* KT2440, respectively. Currently, we are working on the cloning and overexpression of these enzymes in *Escherichia coli*.

US Army (W911NF-17-2-0156), FONDECYT 1151255, INACH RT-25_16.

MA396

Biosíntesis de Quantum Dots fluorescentes de sulfuro de cobre (CuS) mediada por *Bacillus simplex* antártico

Campo Giraldo Jessica L¹, Nicolás Bruna Rivera¹, José Manuel Pérez Donoso¹. ⁽¹⁾ Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Introducción. La antártica es el continente más frío y seco del planeta, y la estación chilena Glaciar Unión ubicada en la Antártica Occidental corresponde a un lugar con condiciones únicas, que constituyen una presión de selección en el continente y permite que pocas formas de vida existentes posean una alta diversidad genética. Esto favorece múltiples procesos como la respuesta frente a exposición a diversos metales como el cobre, metal de importancia económica para Chile. A la fecha no se han relacionado genes involucrados en los procesos de biosíntesis de nanomateriales con microorganismos antárticos. **Objetivo.** Determinar la capacidad de síntesis de Quantum Dots (QDs) fluorescentes de CuS por parte de *Bacillus simplex* antártico y los genes candidatos involucrados en la tolerancia al metal. **Materiales y Métodos.** Se recolectaron muestras de suelo de 5 puntos (Glaciar Unión, 2015) y se realizó un aislamiento de microorganismos. Se realizó amplificación del gen ADN_r 16s para identificar los aislados y se realizó la evaluación de la capacidad de biosintetizar QDs de CuS empleando sulfato de cobre y cisteína. Se secuenció el genoma de el microorganismo de interés por medio de la plataforma Illumina MiSeq Paired End y se realizó búsqueda de genes involucrados en la respuesta a Cu mediante p-BLAST. **Resultados.** De 15 microorganismos aislados, sólo *Bacillus simplex* demostró la capacidad de biosintetizar nanopartículas (NPs) de CuS a las condiciones evaluadas. Se verificó el nanomaterial mediante la presencia del peak de absorbancia a 410 y emisión de fluorescencia verde tras excitación con luz UV (320 nm). Se encontraron genes como *copA*, *cueO* y *cusR* en el genoma de *Bacillus simplex* antártico. Estos genes están involucrados en la homeostasis celular frente a iones cobre y como parte de la respuesta al estrés generado con NPs de Ag. La presencia de estos constituyentes en el aislado antártico sumado al fenotipo de formación de nanopartículas fluorescentes, podría representar una nueva forma de tolerancia al metal. **Conclusiones.** *Bacillus simplex* antártico tiene la capacidad de biosintetizar nanopartículas tipo QDs fluorescentes de CuS y posee constituyentes genéticos de respuesta a cobre. Es necesario validar su participación en el proceso de biosíntesis, como forma un nuevo mecanismo de tolerancia al metal.

Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECY 1151255 (JMP-D) e INACH RT-25_16 (JMP-D). Y la beca doctorado nacional de CONICYT folio 21171644 (31/01/2017).

MA397

Sobrevivência de *Bradyrhizobium japonicum* após a mistura com fertilizante líquido

Daniela Tiago Da Silva Campos¹, Cruz Filho Marcelo Augusto¹, Renato Almeida Junior², Guimarães Salomão Lima³.

⁽¹⁾ Fitotecnia e Fitossanidade, Faculdade de Agronomia e Zootecnia, Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, BR.

⁽²⁾ Marubeni Specialty/Helena Chemical, Country Manager Brasil, Tangará da Serra, BR. ⁽³⁾ Campus de Rondonópolis, MT, Faculdade de Eng. Agríc, Universidade Federal do Mato Grosso, Rondonópolis, BR.

Com o recente aumento na demanda de alternativas para uma melhor produtividade e eficiência na agricultura tem-se a utilização de produtos biológicos que vêm dando bons resultados e demonstrado o potencial que esse ramo detém. Dessa forma temos como alternativa para suprir a necessidade de nitrogênio em soja as bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, que por meio da fixação biológica transformam o nitrogênio atmosférico em assimilável pelas plantas. Esse trabalho teve como objetivo quantificar a compatibilidade da mistura do fertilizante líquido Nucleus O-PHOS e Avanti RZ com a bactéria *Bradyrhizobium japonicum* após 30 minutos da mistura. Os tratamentos foram: 1: Inoculante comercial dose recomendada pelo fabricante (DRF) (*B. japonicum*); 2: inoculante comercial (DRF) + Avanti RZ (1 L/ha); 3: inoculante (DRF) + Nucleos O-PHÓS (10 L/ha); 4: Inoculante (DRF) + Avanti RZ (1 L/ha) + Nucleo O-PHÓS (10 L/ha). As misturas foram feitas simulando o que acontece na propriedade rural. Para a enumeração de *B. japonicum* foi utilizado o meio de cultura 79 com vermelho congo e os antibióticos vancomicina e actidione. Após a mistura e decorridos o tempo fez-se as diluições seriadas em solução salina (0,9 %) e 200 µl foram inoculados em meio de cultura. As placas foram incubadas à temperatura de 28 °C por 7 dias. O número unidades formadoras de colônias de *B. japonicum* foi de $5,73 \times 10^7$; $8,87 \times 10^7$; $7,90 \times 10^7$; $6,27 \times 10^7$, respectivamente aos tratamentos realizados. Verificou-se que no tratamento 2 foram encontradas as maiores quantidades da bactéria, o que evidencia, que a mistura com apenas um fertilizante líquido, o Avanti RZ pode proporcionar um número maior de bactérias decorridos 30 minutos da mistura. Conclui-se que para o produtor rural, que muitas vezes necessita realizar uma única aplicação de produtos na lavoura, a mistura feita no tanque de pulverização é possível e não reduz a quantidade das bactérias, porém é necessário que se faça o estudo de viabilidade das mesmas.

Country Manager – Brasil, Marubeni Specialty/Helena Chemical.



MA398

Caracterización proteómica del Glicosiltransferasoma (*GToma*) de *Xanthophyllomyces dendrorhous* usando diferentes fuentes de carbono

Sebastián Leimir Campusano¹, Dionisia Sepúlveda¹, Marcelo Baeza¹, Jennifer Alcaíno¹, Víctor Cifuentes¹.

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

La glicosilación de proteínas y de otros componentes celulares son procesos esenciales para los organismos eucariontes. En el caso de las proteínas, su glicosilación afecta de forma directa su función y localización celular, y es un factor que debe ser considerado con miras hacia la expresión heteróloga de compuestos de interés industrial. Sin embargo, la regulación transcripcional de este proceso en organismos de interés biotecnológico ha sido poco estudiado. El objetivo de este trabajo fue identificar y cuantificar a nivel proteómico el Glicosiltransferasoma (*GToma*) de la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous*. Previamente se identificó y caracterizó el *GToma* de esta levadura a nivel transcriptómico, en el que se determinó que estaba compuesto de 56 enzimas glicosiltransferasas (GTs) que participarían en diversos procesos celulares. En este trabajo, mediante espectrometría de masa en tándem (MS/MS), se han identificado y cuantificado los niveles de expresión relativa de los miembros del *GToma* tanto en la cepa silvestre como en mutantes de los genes reguladores *mig1-*, *cyc8-* y *tup1-*, bajo el consumo de diversas fuentes de carbono. En las condiciones evaluadas, se logró identificar la presencia de 38 enzimas del *GToma*. Además, los cambios observados en sus niveles de expresión sugieren que algunos de sus miembros estarían sometidos a represión catabólica mediada por glucosa. En conclusión, se logró identificar y cuantificar a nivel proteómico el *GToma* de la levadura *X. dendrorhous* y se determinó que el complejo Cyc8-Tup1 podría estar involucrado en la regulación de la expresión de algunos de sus componentes mediante el regulador transcripcional Mig1.

Financiamiento: FONDECYT 1180520.

MA399

Señalización mediante segundos mensajeros nucleotídicos en la clase bacteriana *Acidithiobacillia*

Matias Castro¹, Ana Moya-Beltran¹, Francisco Issotta¹, Camila Rojas¹, Nicolas Guiliani², Raquel Quatrini¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Ecofisiología Microbiana, Fundación Ciencia y Vida, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Comunicación Bacteriana, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

La clase *Acidithiobacillia* comprende bacterias Gram-negativas, quimiolitotróficas, oxidadoras de compuestos reducidos de azufre. Presenta cierta heterogeneidad fisiológica entre sus miembros, englobando microorganismos termófilos moderados neutrofilos y acidófilos, y mesotermos y psicotolerantes acidófilos, así como también oxidadores de ion ferroso e hidrogeno molecular. Estas características metabólicas permiten a los miembros del taxón ocupar una diversidad de nichos ecológicos, donde dirigen los ciclos biogeoquímicos del azufre y el hierro, y los convierten en modelos de estudio en áreas de aplicación como la biotecnología minera y la astrobiología. Los nucleótidos lineales y cíclicos son empleados por los microorganismos como segundos mensajeros para transducir las señales ambientales en respuestas fisiológicas reguladas. Entre los segundos mensajeros nucleotídicos más importantes se encuentran el cAMP, cGMP, c-di-GMP, c-di-AMP y (p)ppGpp. Las vías de señalización que éstos controlan funcionan de manera análoga: en respuesta a estímulos extra/intracelulares diferentes enzimas catalizan la síntesis o degradación del segundo mensajero, que tras unirse alostéricamente a una molécula efectora promueve la activación de blancos celulares específicos. En este trabajo, mediante genómica comparativa, abordamos el desafío de desentrañar las rutas de transducción de señales conducidas por segundos mensajeros nucleotídicos en la clase *Acidithiobacilla*. Para ello, se evaluó la presencia y conservación de genes involucrados en la síntesis, degradación y transducción de señales mediada por distintos nucleótidos en más de 50 genomas, abarcando representantes de las nueve especies validadas de la clase. Para establecer asociaciones funcionales, se analizó la distribución de los genes identificados en unidades genéticas discretas, tales como replicones secundarios y elementos móviles. Los resultados obtenidos dan cuenta de la presencia de genes codificantes para sintasas de cAMP, (p)ppGpp y c-di-GMP (no así de cGMP, cGMP-AMP y c-di-AMP) y sugieren que estas moléculas serían ampliamente utilizadas como segundos mensajeros por los miembros de la clase *Acidithiobacillia*. Los tres nucleótidos soportan redes de señalización de diversa complejidad con efectores predichos vinculados a la motilidad, la biosíntesis de exopolisacáridos y la conjugación, sugiriendo que estos nucleótidos podrían ser críticos para el control de la colonización del sustrato, el desarrollo de biopelículas y/o el intercambio de ADN en los miembros de esta clase.

AFB 170004, FONDECYT 1181251 (RQ), and CONICYT scholarship 21171049 (AMB) and 21160871 (FI), FONDECYT 1160702 (NG).

MA400

Efecto a nivel atómico de la temperatura sobre la fase adoptada por las cadenas aciles del lipopolisacárido de *Escherichia coli* K12 y sus mutantes $\Delta waaP$, $\Delta waaQ$

Simón Correa Martelli¹, Mackarena Alarcon Torres¹, Felipe Rojas Ramos¹, Hegaly Mendoza¹, Daniel Aguayo¹. ⁽¹⁾ Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

La temperatura es uno de los factores que contribuyen a definir la conformación supramolecular adoptada por la capa de lipopolisacáridos (LPS) de la membrana externa de bacterias Gram negativo. Nuevos antecedentes indican una relación entre la composición del LPS, temperatura y actividad de diferentes agentes antimicrobianos, lo cual indica un cambio en la permeabilidad de estos últimos asociados a la fase en que se encuentran las cadenas aciles del LPS. En este trabajo, por medio de Dinámica Molecular, se caracterizó bajo y sobre su temperatura de transición de membrana (T_m) la conformación adoptada por bicapas de LPS representativos de *Escherichia coli* K12 y sus mutantes carentes de sustituyentes laterales en el core interno del LPS, $\Delta waaQ$ y $\Delta waaP$. $\Delta waaQ$ carece de heptosa III y fosfato de la heptosa II, $\Delta waaP$ presenta adicionalmente al fenotipo de $\Delta waaQ$ carencia de grupo fosfato en la heptosa I del LPS. El análisis del parámetro de segundo orden de las cadenas aciles de cada LPS mostró cambios en la fase adoptada por estas bicapas, donde a 37 °C los LPS silvestre y $\Delta waaQ$ se encontrarían en fase cristalina-liquida, mientras que el LPS $\Delta waaP$ lo haría en fase lamelar. Además, los valores de T_m de las colas aciles del LPS $\Delta waaP$ (47 °C) y la del LPS $\Delta waaQ$ (23 °C) estaría relacionado con la modificación de los ángulos de torsión entre las azúcares que componen el núcleo interno del LPS, efecto causado por la modificación de la red de interacciones inter e intra LPS. Estos resultados indican que la fase adoptada por las cadenas aciles del LPS es resultado no solo de las propiedades del Lípido A, sino que subyace a la reorganización de las interacciones intra e inter-LPS a nivel del oligosacárido central, alejadas del núcleo hidrofóbico de la membrana externa.

FONDECYT Regular N° 1171654.

MA401

Diversidad microbiana y análisis de expresión de genes asociados a la reducción de nitrato en yacimientos salitreros del Norte de Chile

Mayra Cortés^{1,2,4}, Lorena Escudero^{1,2}, Daniel Contreras³, Alex Echeverría², Priscilla Avendaño², Olga Encalada², Guillermo Chong³, Cecilia Demergasso^{1,2}. ⁽¹⁾ CICITEM, Centro Científico y Tecnológico para la Minería, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL. ⁽³⁾ Departamento de Ciencias Geológicas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL. ⁽⁴⁾ Biotecnología, Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL.

En el Desierto de Atacama del norte de Chile se ubican yacimientos de nitratos y yodo únicos a nivel mundial. Sus depósitos son variados y recientemente, se han descrito diversos microorganismos asociados a sus diferentes sales, los cuales tienen amplio potencial biotecnológico. El objetivo del presente trabajo, es el estudio de la diversidad microbiana y la expresión de genes asociados a la reducción de nitrato en las facies salinas de los depósitos de nitrato del Desierto de Atacama. Las muestras se obtuvieron desde los yacimientos de las ex-salitreras, Oficina Pissis (OP) y Oficina Savona (OS) (23°48'Slat/ 69°22"WLong-23°47'Slat/69°24"WLong, respectivamente). Se realizaron análisis de las comunidades microbianas mediante biblioteca de ARNr 16S secuenciada por Illumina-MiSeq. La filogenia, ecología y predicción de genes se realizó mediante softwares bioinformáticos (QIIME, Primer-6 y PICRUSt). La cuantificación relativa de genes, fue realizada mediante RT-qPCR, utilizando partidores universales para genes asociados a la reducción de nitrato, con genes de referencia validados y aplicando el modelo Pfaffl. Los cultivos se crecieron en medio de enriquecimiento modificado FTW (0.34-0.68 g/L de NaNO₃). El análisis de reducción de nitrato en los cultivos fue realizado mediante cromatografía de intercambio iónico utilizando la columna IonPacTM AS11 y KOH como eluyente. Los índices de diversidad muestran heterogeneidad en las comunidades, siendo las muestras provenientes de OP, las más diversas, asociándose a la presencia de nitratos higroscópicos y minerales de halita. Las comunidades microbianas estuvieron dominadas generalmente por Proteobacteria y Firmicutes. Para las muestras de OS, los microorganismos predominantes fueron Betaproteobacteria, mientras que en las muestras de OP fueron Bacilli y Clostridia. Archaea estuvo representada principalmente por Euryarchaeota, *Halorobrum tebenquichensi* y Crenarchaeota, *Nitrosopumilis maritimus*. Se identificó y cuantificó la expresión génica relacionada a la reducción de nitrato (*nirK* y *nosZ*). Adicionalmente, en los cultivos se obtuvo entre un 56 y 68% de reducción de NO₃. La interacción entre las condiciones hostiles para la vida, la diversidad microbiana y la capacidad de reducción de nitrato observadas, nos aporta información relevante para una mayor comprensión de la participación microbiana en los ciclos de nitrógeno de estos reservorios naturales, incluso pudiendo considerarse análogos a los evidenciados en el planeta Marte.

Fondecyt de Iniciación 11150686.

MA402

Perfil epidemiológico da AIDS no município de São Luís, Maranhão, Brasil no período de 2007 a 2017

Costa Mônica Maria Rêgo¹, Vieira Igor Ricardo De Almeida², Miranda Márcia Fernanda Bottentuit³, De Paiva Renice Silva³, Freire Juliana Conceição³, Uchoa Karita De Sá Lima³, Lopes Yuri Barros³, Teixeira Maria Lúcia Meireles³, Meireles Alessandra Coelho Vivekanada³, Moraes Francynelle Costa⁴, Maia Sandra Cristina⁴, Novais Tânia Maria Gaspar⁵.⁽¹⁾ Biomedicina/Fisioterapia, Faculdade Estácio de São Luís/Faculdade Pitágoras de São Luís, São Luís, BR. ⁽²⁾ Enfermagem, Faculdade Pitágoras de São Luís, São Luís, BR. ⁽³⁾ Enfermagem, Faculdade Pitágoras de São Luís, São Luís, BR. ⁽⁴⁾ Enfermagem, Faculdade Estácio de São Luís/Faculdade Pitágoras de São Luís, São Luís, BR. ⁽⁵⁾ Farmácia, Universidade Ceuma, São Luís, BR.

A AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) é uma patologia causada pela infecção por HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana), levando à imunossupressão. O vírus atinge os linfócitos T CD4+ alterando o DNA dessas células e replicando-se, depois, rompem os linfócitos em busca de outros para continuar a infecção, causando a fragilidade do sistema imunológico tornando o organismo susceptível às doenças oportunistas. No mundo, cerca de 36.7 milhões de pessoas convivem com HIV, aproximadamente 718 mil indivíduos infectados no Brasil, mas, apenas 80% tem conhecimento do diagnóstico. No Maranhão, no período entre 1985 a 2009, foram notificados 4.132 casos de AIDS, São Luís é o município com maior número de notificações. Diante desse contexto, o presente estudo objetivou verificar o perfil epidemiológico da AIDS no município de São Luís. Trata-se de um estudo documental descritivo com abordagem quantitativa com dados fornecidos pelo Departamento de informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS), onde foram analisadas as notificações de AIDS em São Luís no período de 2007 a 2017, as variáveis verificadas foram: incidência por sexo, escolaridade, cor/raça, óbitos e orientação sexual. Durante a análise dos dados, constatou-se um total de 4.595 casos de AIDS no município de São Luís entre os anos de 2007 a 2017. Quanto ao sexo, tem-se 2.969 casos notificados em homens, o que equivale a 65% das notificações e 1.626 notificações em mulheres, correspondendo a 35% dos casos. No que tange a escolaridade, 100 casos notificados foram entre analfabetos, 1.025 com Ensino Fundamental Incompleto, 523 com Ensino Fundamental Completo, 985 com Médio Incompleto, 157 com Nível Superior Completo e 171 notificações com escolaridade ignorada. Quanto à cor/raça, 345 notificações foram em indivíduos autodeclarados brancos, 355 em pretos, 6 em amarelos, 2.252 em pardos, 8 em indígenas e 15 tiveram a cor/raça ignorada. Em relação à orientação sexual, 433 notificações são de homossexuais, 154 em Bissexuais e 1.219 em heterossexuais. O total de óbitos corresponde a 1.108. Conclui-se que em São Luís, no período especificado na pesquisa, a AIDS foi predominante entre o sexo masculino, de pessoas com baixa escolaridade, autodeclaradas pardas, heterossexuais e com alta taxa de mortalidade.

MA403

Selection of compounds able to inhibit the DNA replication of *Staphylococcus aureus*

Brenda Cutrim¹, Diniz Roseana C¹, Silva Luís C N¹, Maia Hermerson S¹, Fernandes Elizabeth S¹, Silva Tiago F¹, Neves José R¹, Correia Maria Tereza S¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas e Parasitárias, Universidade do Ceuma, São Luis, BR.

Staphylococcus aureus is a notorious pathogenic bacterium causing a wide range of diseases from soft-tissue contamination, to more serious and deep-seated infections. This species is highlighted by its ability to express several kinds of virulence factors and to acquire genes related to drug resistance. In this work we report the application of two-hybrid system to selected inhibitors of the dimerization of β -clamp of *S. aureus* from Caatinga plants. The combination of microbiology, chemical and computational resources allowed us to indicate molecules present in the active plant extract able to interact with β -clamp. The extracts from *Buchenavia tetraphylla* were able to inhibit the dimerization of β -clamp from *S. aureus*. Buchenavianine and its derivatives [N-demethylbuchenavianine, O-demethylbuchenavianine, N,O-bis-(demethyl)buchenavianine] were found as major compounds at methanolic extract. Docking studies were performed with buchenavianine, its derivatives and two analog compounds (ChEMBL2029614 and ChEMBL2029615) using the predicted β -clamp structure from *S. aureus*. The FullFitness values ranged from -4894.34 kcal/mol to -4879.57 kcal/mol; while the estimated ΔG values ranged from -6.64 kcal/mol to -7.50 kcal/mol. Among the compounds, the best FullFitness (-4894.34 kcal/mol) was observed for N,O-bis-(demethyl)buchenavianine that had an estimated ΔG of -7.26 kcal/mol. In summary, this work shows that *B. tetraphylla* are able to inhibit the dimerization of β -clamp from *S. aureus*. *In silico* results suggest that buchenavianine and its derivatives are the active molecules present in the extracts. These compounds may serve as lead candidates for development of new drugs as well to provide information on the function about the *S. aureus* replication process.

MA404

Identificação de fungos isolados de formigas obtidas em ambientes hospitalares e domiciliares

Dayan Martins¹, Artur Vasconcelos², Lívia Melo², Anne Priscila Santos², Jéssica Rocha², Catarina Vasconcelos³, Karla Patrícia Silva². ⁽¹⁾ Hospital Universitário Professor Alberto Antunes, UFAL, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Doenças Infecciosas do curso de Medicina Veterinária da UFAL, UFAL, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Microbiologia do Cesmac, Cesmac, Maceió, BR.

As formigas são artrópodes que podem ser encontradas constantemente em ambientes urbanos, tornando-se animais sinantrópicos, o que facilita a transmissão de agentes infecciosos ao homem e aos animais domésticos, como por exemplo, fungos causadores de micoses. A dispersão das formigas é motivada pelas condições climáticas, instalando-se em ambientes quentes, úmidos e áreas com alta variação climática, levando-as a colonizar assim o ambiente civilizado. Cerca de 50 espécies são adaptadas ao ambiente urbano, e cerca de 20 a 30 espécies podem ser consideradas pragas. Há uma preocupação com as possibilidades reais de danos à saúde pública que podem ser causados pela presença desses artrópodes dotados de grande mobilidade, permitindo que circulem por vários locais inclusive ambientes hospitalares, disseminando micro-organismos patogênicos. Os estudos de formigas em hospitais têm grande relevância devido ao potencial desses organismos estarem envolvidos na transmissão da infecção hospitalar. Foram coletadas 600 formigas no município de Viçosa-AL, Brasil, sendo 200 amostras em hospitais humanos, 200 amostras em clínicas veterinárias e 200 amostras em residências. As amostras passaram pelo processo de maceração e, em seguida, foram imersas em caldo BHI e incubadas a 37 ° C por 24 horas. Após o período de crescimento, o material foi inoculado em placas de ágar Sabouraud e incubado a 25 ° C por 14 dias. Os fungos isolados foram transferidos para lâminas por técnica de imprinting, corados com azul de metileno e identificados microscopicamente, observando suas características morfológicas. Com base na análise das amostras em hospitais humanos foi detectado 57,14% (4/7) de *Aspergillus* sp., 14,28% (1/7) de *Fusarium* sp., *Sporothrix* sp. e *Dermatofiton* sp. Foi observado em hospitais veterinários 50% (1/2) de *Penicillium* sp. e 50% (1/2) *Sporothrix* sp. Nos domicílios foram identificados 12,5% (1/8) da *Curvalina* sp. e *Fusarium* sp., 37,5% (3/8) de *Aspergillus* sp. e *Dermatofiton* sp. De acordo com os resultados obtidos conclui-se que *Aspergillus* sp. foi o fungo mais frequente, demonstrando o perigo direto para a saúde única. Em hospitais humanos e de animais há risco de infecção por fungos causadores de micoses sistêmicas, subcutâneas e superficiais, gerando a necessidade de controle desses agentes em diferentes ambientes.

MA405

Perfil de resistência à metais pesados em *Exiguobacterium antarcticum* estirpe B7

Larissa Dias¹, Alves Jorianne J C¹, Isabel Silva², Marta Tação², Vivian Pellizari³, Isabel Henriques², Artur Silva¹, Adriana Folador¹. ⁽¹⁾ Biology, Institute of Biological Science, University Federal of Para, Belem, BR. ⁽²⁾ Biology Department, University of Aveiro, Aveiro, PT. ⁽³⁾ Department of Biological Oceanography, University of São Paulo, São Paulo, BR.

O gênero *Exiguobacterium* pertence ao filo Firmicutes, classe Bacilli e são bactérias Gram-positivas que apresentam genes codificadores de proteínas com potencial de aplicação biotecnológica e biorremediação. *E. antarcticum* estirpe B7 foi isolada do lago Ginger, na Antártica, apresentando em seu genoma genes relacionados a resistência a alguns metais pesados. Estudos fenotípicos poderão contribuir para conhecermos os mecanismos de defesa relacionados a presença de metais pesados no ambiente, bem como avaliarmos o potencial dessa estirpe para a biorremediação. Desta forma, o presente estudo visou determinar o MIC utilizando cinco tipos de metais pesados em *E. antarcticum* B7. Inicialmente as amostras de *E. antarcticum* B7 e controle (*Escherichia coli* ATCC 25922), foram crescidas *overnight* à 37 °C e 180 rpm em meio TSB. A cultura foi ajustada a uma OD₅₉₅ ≈ 0,1-0,3. Posteriormente, foram incubadas, com triplicata, em meio TSA suplementado com os metais crômio (Cr III; 50, 100, 300, e 600 µg/ml Cr como CrCl₃.6H₂O), cobre (Cu 100, 300, 400, 600 e 1000 µg/ml Cu como CuSO₄5H₂O), zinco (Zn 50, 100, 300 e 600 µg/ml Zn como ZnCl₂), mercúrio (Hg 5, 100, 150, 250 e 400 µg/ml Hg como HgCl₂) e níquel (Ni; 50, 100, 300 e 600 µg/ml Ni como NiSO₄.6H₂O). Os resultados foram registrados durante cinco dias de incubação à 25° C. Foi possível verificar o crescimento da cepa entre as concentrações de 50 à 300 U_g/ml em Ni. Para Zn o MIC foi 50 U_g/ml e com o metal Cr foi possível observar o crescimento entre 25 a 100 U_g/ml. Nos metais Hg e Cu não foram identificados crescimentos em nenhuma concentração testada. A cepa controle apresentou o mesmo perfil de crescimento das amostras testadas. Os ensaios demonstram um possível caráter multimetálico resistente desta cepa independente da concentração de forma individual dos elementos testados. Este estudo indica o potencial para aplicação na área da biorremediação com a estirpe, tendo em vista que estes metais são importantes poluentes ambientais quando presentes em alta concentração no solo e apresentam efeitos tóxicos no crescimento e desenvolvimento de plantas e animais.

CNPq, CAPES e FCT.



MA406

Changes in glyphosate biodegradation by a soil bacterial isolate depending on pH and herbicide concentration

Nicolás Echeverry-Montaña¹, Leidy Castiblanco-Olaya¹, Luisa Orduz-Diaz¹, Ericsson Coy-Barrera¹. ⁽¹⁾ Bioorganic Chemistry Laboratory, Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada, Cajicá, CO.

Glyphosate is a systemic, broad-spectrum, organophosphorus, post-emergent herbicide. It is mainly used in the control of weeds. The mechanism of action of this molecule is based on the competitive inhibition of the enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphosynthase, which consequently prevents the synthesis of aromatic amino acids by interrupting the shikimic acid cycle. Under this premise, the negative effects should only affect plants, but it has been shown that this agrochemical is considered a contaminating agent, negatively affecting non-target species. Therefore, the interest of studying the processes of degradation of this herbicide has increased, mainly by bioremediation pathways. These has been principally emphasized on the use of bacteria, whose enzymatic machinery may be able to metabolize glyphosate. Two metabolic pathways of degradation are known, by breaking the C-N bond or the C-P bond. The first one results in AMPA (aminomethylphosphonic acid), mediated by the enzyme GOR (Glyphosate OxidoReductase) and the second one in Sarcosine, by the action of the enzymatic complex C-P lyase. On this context, the present research aimed to evaluate the effect of pH and glyphosate concentration at 25°C on the degradation of this herbicide by a bacterial isolate obtained from the soil of a rice crop, identified by RNA16S gene sequencing as *Burkholderia* sp. The bacterial growth curves were constructed and the glyphosate content was evaluated by HPLC-MS at each point of the curve. The results obtained suggest that the bacterial metabolism was more efficient in terms of herbicide degradation, under conditions of acidic pH (5) and lower concentration (100 ppm). We suggest this was close related with the behavior of the enzymes involved in the process and the accessibility of the substrate when it is in lower concentrations. The degradation profile showed the presence of the byproducts: AMPA and Glufosinate; which may be an indication of the degradation pathway of the bacterial strain, given by the breakdown of the C-N bond.

Universidad Militar Nueva Granada, Vicerrectoría de Investigaciones.



MA407

Isolation and characterization of bacterial strains tolerant to phenolic and furanic compounds derived from lignocellulosic material

Mauricio Guajardo-Parra^{1,2}, Raúl Donoso², Danilo Pérez-Pantoja². ⁽¹⁾ Agropecuaria y Agroindustrial, Biotecnología, Universidad Tecnológica de Chile Inacap, Santiago, CL. ⁽²⁾ Programa Institucional de Fomento a la I+D+i, Universidad Tecnológica Metropolitana, Santiago, CL.

The use of vegetable biomass is presented as a viable and renewable alternative as raw material for the production of biofuels being strongly advantageous compared to the highly contaminant fossil fuels. Lignocellulosic biomass derived of plants is mainly composed by cellulose and hemicellulose, which are constituted by long chains of polysaccharides; and lignin, which is formed by polymers of aromatic compounds. For the exploitation of lignocellulosic biomass in the production of biofuels, one of the mechanisms most frequently used is acid hydrolysis of the raw material in order to obtain free sugars to be assimilable by microorganisms. However, during this treatment a large amount of inhibitors of bacterial growth affecting the production of biofuel are released. Most of these inhibitors are furan aldehydes such as furfural or 5-hydroxymethylfurfural; or phenolics such as syringaldehyde, vanillin, 4-hydroxybenzaldehyde and vanillate among others. We hypothesized that isolation of bacteria from harsh environments where tolerance mechanisms has been evolved by a long exposure to this type of compounds will be useful strategy to find metabolic functions in order to address the toxicity of inhibitors derived from lignocellulosic biomass. Two environments were selected for isolation of microorganisms tolerant to high concentrations of lignocellulosic inhibitors: i) activated sludge for pulp mill effluents treatment and, ii) lagoons of accumulation of liquid and solid waste generated during olive oil production. The use of enrichment culture methods has allowed us to obtain bacteria highly tolerant to furfural, vanillate and syringaldehyde. Our isolates were able to grown in concentrations higher than 60 mM of furfural, 107 mM of vanillate and 40 mM of syringaldehyde. These tolerance levels are much higher than previously reported in laboratory strains. The isolated bacteria mostly belong to genera *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* and *Achromobacter*; as identified by 16S rRNA sequencing methods. Our current efforts are devoted to the construction of genomic libraries for functional screenings in *E. coli* and genome sequencing of the tolerant strains. Environments that provide a high chemical stress to microbial communities that inhabit them have proven to be a valuable source of microorganisms relevant for biofuel production.

This study was supported by FONDECYT Grant N° 1161750 and CONICYT Research Ring N° ACT172128 from Chilean Government.

MA408

Detection of Mollicutes species from Brazilian dairy cattle by molecular techniques

Morais Ana Carolina Nunes De¹, Pires Danielle Regis¹, Machado Leandro Dos Santos¹, Azevedo Yan Rodrigues¹, Mendonça Juliana França M.³, Ferreira Rafael Lawson², Souza Guilherme Nunes De³, Cunha Nathalie Costa Da¹, Maria Lúcia Barreto⁴, Pereira Virgínia Léo De A.¹, Nascimento Elmiro Rosendo Do¹. ⁽¹⁾ Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, BR. ⁽²⁾ Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, BR. ⁽³⁾ Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Leite, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Gado de Leite), Juiz de Fora, BR. ⁽⁴⁾ Núcleo de Diagnóstico da Micoplasmose, Universidade Federal Fluminense, Niterói, BR.

Mollicutes are the smallest known free-living and self-replicating forms of life. In cattle, *Mycoplasma* spp. and *Ureaplasma* spp. are the most important genera related to bovine mycoplasmosis, since they are associated to illness such as mastitis and reproductive failures. Clinical outbreaks of mycoplasmosis are reported, nevertheless there are few publications about infected dairy herds without clinical signs of disease or occurring under subclinical conditions. The aim of this study was to investigate the presence of Mollicutes species by molecular identification in milk and vaginal swab samples from dairy cattle from Minas Gerais, which is an important dairy basin in Brazil. Milk and vaginal swab samples were collected from 20 dairy cows randomly selected. DNA extraction was executed by a phenol-chloroform-isoamyl alcohol protocol for milk samples and by a phenol-chloroform protocol for vaginal swab samples. PCR for Mollicutes detection based on the amplification of 16S rRNA sequences was performed with a 270 bp amplicon. Positive samples were after purified using Illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit/GE™. DNA sequencing of 16S rRNA was carried out with chain-termination dideoxiribonucleotides using Big Dye Terminator (Applied Biosystems, Foster City, USA). The sequences were edited using SeqMan II software (Lasergene, DNASTar) and compared to those available on GenBank® using Nucleotide BLAST®. Ten percent (2/20) of milk samples and 100% (20/20) of vaginal swab samples were positive in PCR for Mollicutes detection. Sequencing of 16S rRNA from milk samples resulted in an identity of 98% to *Ureaplasma diversum* and 97% to *Mycoplasma bovis*. From 20 vaginal swab samples, 25% (5/20) resulted in a 98% match to *U. diversum* and 5% (1/20) presented an identity of 95% to *M. bovis*. Other swab samples resulted in a low (< 90%) match to Mollicutes species or did not show any identity to Mollicutes. Genomic sequencing was able to identify Mollicutes species from milk and vaginal swab samples. Further studies are necessary to evaluate strategies of genomic sequencing, such as using larger amplicons (>270 bp). Notwithstanding, our results highlight that Mollicutes species are present in cattle from an important Brazilian state in dairy production.



MA409

Effect of abiotic conditions on the *in vitro* degradation of glyphosate by a soil bacterial isolate

Leidy Castiblanco-Olaya¹, Nicolás Echeverry-Montaña¹, Luisa Orduz-Díaz¹, Ericsson Coy-Barrera¹. ⁽¹⁾ Bioorganic Chemistry Laboratory, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada, Cajicá, CO.

Weeds are plants growing in the “wrong” place, since their location affects optimum development of several crops. The common management is based on application of herbicides like Roundup[®], whose active compound is glyphosate. This organophosphorus compound is a broad-spectrum systemic herbicide, moderately toxic, non-persistent and the most widely used herbicide in the world. Nevertheless, unmeasured use generates the accumulation of this compound, and increases its persistence in the soil, affecting non-target organisms. Its degradation is caused by abiotic and biotic factors and some soil bacteria have genetic potential for express certain genes that result in the encoding of enzymes, capable of degrading glyphosate. Hence, the use of microorganisms is suggested as useful alternative for glyphosate biodegradation. In this study, we use a bacterial strain isolated from the soil of a rice crop located in Colombia. Hence, the aim of this project was to evaluate the effect of temperature (37°C), pH (5 and 8), and herbicide concentration (100 ppm and 300 ppm) within a factorial design for glyphosate degradation. We got growth curves for each treatment and the remaining glyphosate was quantified in supernatant by HPLC-MS at each point of the curve. In addition, main sub-products were identified like aminomethylphosphonic acid (AMPA) and glufosinate; these two compounds were the major degradation metabolites. The best biodegradation profile was obtained with 37°C, pH8, 100 ppm, and major values of glyphosate degradation was found in the maximum point of population growth.

Universidad Militar Nueva Granada, Vicerrectoría de Investigaciones.

MA410

Antimicrobial and therapeutic potential of the hydroalcoholic extract of *Terminalia catappa* leaves

Sousa Eduardo Martins², Lobato Luis Felipe Lima¹, Carvalho Gesanaje Da Paz¹, Martins-Neto Antenor Bezerra², Diniz Rafael Soares³, Gonçalves Letícia Machado³, Abreu Afonso Gomes¹, Lima-Neto Lidio Gonçalves¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia e Imunologia das Infecções Respiratórias, Universidade CEUMA, São Luis, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Microbiologia e Imunologia das Infecções Respiratórias, Faculdade de Medicina, Universidade CEUMA, São Luis, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Odontologia. Programa de Graduação e Pós-Graduação em Odontologia., Faculdade de Odontologia, Universidade CEUMA, São Luis, BR.

Background: The development of resistance to antibiotics represents a serious public health problem, characterizing one of the main causes of nosocomial infections, in view of this scenario, studies that investigate new substances with antimicrobial potential. The plants used in traditional medicine are being increasingly studied because they are possible sources of substances with antimicrobial activities. In this work, the antimicrobial, anti-inflammatory and *in vitro* cytotoxicity activities of the hydroalcoholic extract of *Terminalia catappa* (TcHE) were performed. **Methods:** The leaves of *T. catappa* were dried and macerated with 70% ethanol, followed by rotaevaporation and lyophilization. The minimal inhibitory concentration (MIC) of the TcHE (50 - 0,006 mg/mL) was determined by the microdilution method in broth based on resazurin against *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* (*Mabs*), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *MRSA*, according to Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). The anti-inflammatory activity was measured by NO production by LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages and different concentrations of TcHE (500 - 31.25 µg/mL) in a 5% CO₂ incubator at 37 °C for 24 h. Cell cytotoxicity was assessed by cell viability (MTT assay) using peripheral blood mononuclear cells (PBMC) stimulated with TcHE (500 - 31.25 µg/mL) in 5% CO₂ incubator at 37 °C for 24 h. **Results:** The MIC values were 0.09 mg/mL for *Mabs*, 0.36 mg/mL for *S. aureus* (ATCC 25923) and 0.29 mg/mL for *MRSA*. The TcHE reduced NO production by approximately 40% at concentrations of 31.25 and 62.5 µg/mL. The TcHE reduced the cell viability of PBMC by approximately 50% at concentrations of 31.25 and 62.5 µg/mL. **Conclusion:** Our results showed antimicrobial and anti-inflammatory activity of the of the hydroalcoholic extract of *Terminalia catappa* leaves, indicating this plant as a natural source of compounds with potential for pharmacological and biotechnological applications.

CEUMA and FAPEMA.

MA411

DNA quality and quantity in cattle samples extracted by two protocols in the detection of *Ureaplasma diversum*

Pires Danielle Regis¹, Morais Ana Carolina Nunes De¹, Machado Leandro Dos Santos¹, Taranto Flávia Fecury¹, Mendonça Juliana França M.², Abreu Dayse Lima Da C.¹, Souza Guilherme Nunes De², Cunha Nathalie Costa Da¹, Maria Lúcia Barreto³, Pereira Virgínia Léo De A.¹, Nascimento Elmiro Rosendo Do¹. ⁽¹⁾ Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, BR. ⁽²⁾ Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Leite, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Gado de Leite), Juiz de Fora, BR. ⁽³⁾ Núcleo de Diagnóstico da Micoplasmose, Universidade Federal Fluminense, Niterói, BR.

Ureaplasma diversum is a bacteria which belongs to the Mollicutes class and is associated to reproductive failures in bovine cattle. Polymerase chain reaction (PCR) assays are used due to rapidity, high sensitivity and specificity. DNA extraction can influence results, because DNA quality and quantity are crucial factors for successful amplification. Commercially available kits are commonly used for DNA extraction because of its speed, practicality and safety, however, costs and DNA yield must be considered. This study aimed to evaluate DNA extracted by different protocols and its capacity to identify *U. diversum* by PCR from cattles vaginal swab. Samples were collected from 20 dairy cows randomly selected in a dairy herd from Minas Gerais, Brazil. DNA from each sample was extracted by two methods: an in-house chemical (phenol-chloroform) protocol (P:C) and a commercial DNA extraction kit. DNA quality (A260/A280 ratio) and quantity (ng/ μ L) were obtained in spectrophotometer (BiodropTMUV/VIS). Data were analyzed by analysis of variance (ANOVA), Shapiro-Wilk, Students t and Wilcoxon tests. PCR for *U. diversum* detection based on the amplification of 16S rRNA sequences was performed using primers UD3 and UD4 with a 215 bp amplicon. Reactions were standardized with 100 ng of DNA template and amplicons were visualized in agarose gel 1.5% electrophoresis. Results were analyzed by McNemar proportion test. Significance level of 5% was set in all tests. Of the 20 vaginal swab samples, DNA quality did not differ ($p=0.4632$) when extracted by P:C (1.84 ± 0.13) and by kit (1.86 ± 0.04), however DNA quantity was significantly different ($p=0.0003$). When extracted by P:C, DNA quantity resulted in 81.37 ± 78.38 μ g/ μ L while by kit, in 209.10 ± 38.60 μ g/ μ L, demonstrating more homogeneous results in the last. In PCR for *U. diversum*, 25% (5/20) of samples were positive when extracted by P:C and 35% (7/20) when extracted by kit. Four samples were positive when extracted by both extraction methods and three presented discordant results. Nevertheless, there was no difference ($p=0.6250$) when comparing results in PCR. Both techniques can be used to extract DNA from swab samples, since the methods did not compromise PCR results, regardless of more satisfactory results in DNA quantity when samples were extracted by kit.

MA412

Bioemulsifier produced by *Candida pelliculosa* UCP 994 using tangerine peel and residual oils

Antônio Pinho Sá¹, Lucas Rosendo Silva¹, Rosileide F.S. Andrade², Dayana Montero Rodriguez², Davi Lima Cavalcanti³, Daylin Rubio Ribeaux³, Adriana Ferreira Souza⁴, Galba Maria Campos-tak⁵. ⁽¹⁾ Graduation in Chemical Engineering, Catholic University of Pernambuco, 50050-900, Recife, PE, Brazil. ⁽²⁾ National Postdoctoral Program (PNPD-CAPES), Post-Graduate Program in Environmental Process Development, Catholic University of Pernambuco, 50050-900, Recife, PE, Brazil. ⁽³⁾ Post-graduation Program in Biological Sciences, Federal University of Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil. ⁽⁴⁾ Northeast Network for Biotechnology Post -graduation Program, Federal Rural University of Pernambuco, 52171-900, Recife, PE, Brazil. ⁽⁵⁾ Nucleus of Research in Environmental Sciences and Biotechnology, Catholic University of Pernambuco, 50.050-590, Recife, PE, Brazil.

Bioemulsifiers are amphiphilic molecules that can be produced by bacteria, yeasts and filamentous fungi. They have the ability of form, stabilize emulsions between liquids with different degrees of polarity, and reduce the interfacial tension of liquids, which allows great applicability in several industrial sectors. The aim this work was evaluate the ability of *Candida pelliculosa* UCP 0994 in the production of bioemulsifier using agroindustrial wastes such as tangerine peel and post-fry waste oils. The production of the bioemulsifier by *C. pelliculosa* was carried out using Erlenmeyer flasks with 100 mL of the production medium constituted by 2% wastes oils (post-frying soybean and burned engine oil), 1% tangerine peel and solutions of salts. The inoculum of 107 cells/mL was transferred to production medium, at temperature 28°C, during 72 hours. The cell-free metabolic liquid was used for determinations of interfacial and surface tensions, emulsification index and dispersion test of petroderivatives. The results showed the production of the bioemulsifier by *C. pelliculosa* in the medium containing 1% of tangerine peel and 2% of burned engine oil resulting in surface tension of 43.8 mN/m, interfacial tension of 6 mN/m and emulsification index of 89% with burned engine oil. The emulsion formed is of the type mix and containing smaller droplets (0.1-5 µm). In addition, the bioemulsifier produced by *C. pelliculosa* demonstrated potential to disperse petroderivative (50.24 cm² ODA). Current research into bioemulsifier produced by *C. pelliculosa* indicates significant future potential to bioremediation process considering the dispersant activity of petroderivatives.



Miércoles 14 de Noviembre 2018

CONFERENCIAS



PLE4

Mechanisms of Immune Modulation by Dengue Virus

Ana Fernandez-Sesma¹. ⁽¹⁾ Professor of Microbiology, Co-director of the Microbiology Main Training Area, Graduate School of Biomedical Sciences, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, USA

Email: ana.sesma@mssm.edu

Web: <http://labs.icahn.mssm.edu/fernandez-sesma-lab/>

Twitter: [@SesmaLab](https://twitter.com/SesmaLab)

Dengue viruses (DENV) can efficiently inhibit the generation of innate immune responses in infected cells. We found that the DENV protease complex mediates the evasion of innate immunity by targeting and inducing the degradation of factors such as cGAS and STING. Leakage of mitochondrial DNA induced during DENV infection can trigger the activation of the cGAS/STING pathway of type I IFN production. Additionally, different DENV serotypes can induce different immune profiles in infected cells, thus we analyzed those responses by CYTOF to understand the pathogenesis and kinetics of those viruses.

Presentation funded by Anillo PIA ACT 1408 from CONICYT



PLE5

Use of genomics to examine the diversity and dynamics of enteric pathogens

David Rasko, PhD¹. ⁽¹⁾ Professor in the Department of Microbiology and Immunology and a member of the Institute for Genome Science at University of Maryland School of Medicine, USA

Email: drasko@som.umaryland.edu

Web: <http://www.medschool.umaryland.edu/profiles/Rasko-David/>

The generation of large scale genome sequence for bacterial pathogens has resulted in a deeper understanding of the pathogen itself, as well as opening questions about our often held beliefs about host, pathogen and commensal microbe interactions. The stability of the *Escherichia coli* populations in the human gastrointestinal tract is not fully appreciated, and represents a significant knowledge gap regarding gastrointestinal community structure, as well as resistance to incoming pathogenic bacterial species and antibiotic treatment. We have examined the diversity and dynamics of resident human gastrointestinal *E. coli* in the face of the ecological challenges presented by pathogen (ETEC) challenge, as well as antibiotic treatment. Whole genome sequences obtained from the *E. coli* isolates from before, during, and after ETEC challenge were used in phylogenomic and comparative genomic analyses to examine the diversity of the resident *E. coli*, as well as the dynamics of the challenge strain, H10407, a well-studied ETEC strain (serotype O78:H11) that produces both heat-labile and heat-stable enterotoxins. ETEC failed to become the dominant *E. coli* clone in two of the six challenge subjects, each of whom exhibited limited or no clinical presentation of diarrhea. The *E. coli* communities of the remaining four subjects became ETEC dominant during the challenge, but returned to their original, subject-specific populations following antibiotic treatment, suggesting resiliency of the resident *E. coli* population following major ecological disruptions. This study provides valuable insights into the potential interactions of members of the gastrointestinal microbiome, and its responses to challenge by an external pathogen and antibiotic exposure. In an additional study we have examined the genomic content of 240 *Escherichia coli* isolates from 30 children, aged 2 to 35 months old, living in Tanzania. The *E. coli* strains were isolated from three time points spanning a six month time period, with and without antibiotic treatment. The findings in this study highlight the transient nature of *E. coli* strains in the gastrointestinal tract of these children, as during a six-month interval, no one individual contained phylogenomically related isolates at all three time points. While the majority of the isolates at any one time point were phylogenomically similar, most individuals did not contain phylogenomically similar isolates at more than two time points. The examination of the *E. coli* from longitudinal samples from multiple children in Tanzania provides insight into the genomic diversity and population variability of resident *E. coli* within the rapidly changing environment of the gastrointestinal tract of these children. Overall these two studies highlight the resiliency of the *E. coli* population in the human gastrointestinal tract and opens questions as to the interactions of *E. coli* populations with the community both in health and disease. Our understanding of these processes is just beginning.

PLE6

Synthetic biology and optogenetics in a microbial system: Developing biotechnological solutions and pushing the boundaries between science and art

Luis F Larrondo, PhD¹. ⁽¹⁾ Associate Professor at the School of Biological Sciences at the Pontificia Universidad Católica de Chile. Director of Millennium Institute for Integrative Systems and Synthetic Biology and Howard Hughes del Medical Institute International Research Scholar. Chile. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

Email: llarrondo@bio.puc.cl

Web: <http://www.larrondolab.com/>

Twitter: [@lflarrondo](https://twitter.com/lflarrondo)

The filamentous fungus *Neurospora crassa* perceives and responds to blue light through a transcriptional heterodimer named White Collar Complex (WCC), which contains a LOV (Light Oxygen Voltage) domain capable of detecting blue wavelengths, which promotes a conformational change that leads to dimerization, resulting in strong transcriptional activation, in a light-intensity dependent manner. Thus, through the development of *Neurospora*-based optogenetic switches we have successfully implemented a blue-light responding transcriptional system in *Saccharomyces cerevisiae*. Therefore, in yeast, now we can implement synthetic biology circuits to efficiently induce gene expression over 1000-fold and control biotechnological relevant phenotypes such as flocculation, by switching on/off the lights. We have also adopted optogenetic approaches to further delve into *Neurospora*'s light-responses. In doing so, we have been able to genetically program 2D-images in this organism. Thus, we can project a photograph on top of a *Neurospora* carrying a luciferase reporter under the control of a light responsive promoter, obtaining back a bioluminescent pattern mimicking the original image: a live canvas in which images are genetically processed and reconstituted with real-time dynamics. Such technology not only allows studying light-responses with great resolution, but is also provides a powerful artistic substrate. As this live canvas system can be easily integrated in the *Neurospora* circadian regulatory network, the fungus reproduces on subsequent days -in a circadian manner- the image that it had originally "seen", creating an eidetic (photographic) memory effect. Such phenomenon, based on local discrete phase changes, not only will provide new insights on phase responses, but it also allows for the opportunity to ponder on concepts such as vision and transcriptional memory.

iBIO, FONDECYT 1171151 and HHMI International Research Scholar grant.



Miércoles 14 de Noviembre 2018

SIMPOSIOS



SMP13.1

A decade of LACER: Challenges and opportunities

Alfredo Torres¹. ⁽¹⁾ Microbiology and Immunology, Professor, The University of Texas Medical Branch

Pathogenic *Escherichia coli* are known to be a common cause of diarrheal disease and a frequently occurring bacterial infection in children and adults in Latin America. Despite the effort to combat these causative agent of diarrheal infections, Mexico, the Caribbean and Central and South America remains as a hot spot for infections and sequelae associated with the prevalence of different categories of pathogenic *Escherichia coli*. The first part of the talk will feature an overview of the distribution of pathogenic *E. coli* in Latin America with special emphasis in those pathogroups associated with diarrheal disease in humans and outlining prospects for future research in this region. The second part will discuss the effort of the Latin American investigators to respond in a more organize way to the thread of pathogenic *E. coli* infections in this part of the continent by establishing the Latin American Coalition for *Escherichia coli* Research (LACER), a multidisciplinary group of scientists applying principles of the One Health initiative. LACER has integrated animal, human and environmental health for the mutual benefit of all, while trying to reduce the impact on human disease

UTMB Seed funds



SMP13.2

Contribución de las islas de patogenicidad a la virulencia y emergencia de cepas de *Escherichia coli* productor de shiga toxina LEE-negativo

David Arturo Montero¹. ⁽¹⁾ Programa de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Escherichia coli productor de Shiga toxina (STEC) es un grupo de patógenos transmitidos por alimentos que causan gastroenteritis y enfermedad graves como Colitis Hemorrágica y Síndrome Hemolítico Urémico. Las Shiga toxinas son los principales factores de virulencia de STEC, pero su capacidad para colonizar el intestino humano es un requisito para causar enfermedad. La isla de patogenicidad (PAI) denominada "Locus of Enterocyte Effacement" (LEE) determina la capacidad de adherencia al epitelio intestinal de un grupo de cepas STEC (LEE-positivo). Sin embargo, en el caso de las cepas STEC que carecen de LEE (LEE-negativo), el repertorio de adhesinas no se ha caracterizado completamente. La incidencia de cepas de STEC LEE-negativo ha aumentado en varios países, destacando la importancia de su estudio. En consecuencia, en este estudio se investigó la base genética de su emergencia mediante un análisis genómico a gran escala de más de 350 cepas STEC LEE-negativo aisladas en todo el mundo a partir de humanos, animales, alimentos y el medio ambiente. Como resultado se identificaron islas genómicas no caracterizadas, incluyendo dos PAIs y un elemento integrativo y conjugativo. Además, se determinó que el Locus de Adhesión y Autoagregación (LAA) es la PAI más prevalente entre estas cepas, respaldando un papel importante en su biología. Consistente con lo anterior, experimentos adicionales proporcionaron evidencia que sugiere que LAA participa en la colonización intestinal de STEC en un modelo de ratón. Finalmente, análisis de genómica comparativa y de filogenia sugieren que la adquisición acumulativa de PAIs ha desempeñado un papel importante en la evolución de la virulencia en estas cepas. Este estudio proporciona nuevos conocimientos sobre la patogenicidad de STEC LEE-negativo y establece una base molecular para su vigilancia epidemiológica.

Beca Doctorado Nacional - CONICYT-PCHA/2014- 63140238

SMP13.3

Human renal epithelial and endothelial cells under crosstalk or not conditions: Different in vitro models to analyze the mechanisms involved in the renal injury of the Hemolytic Uremic Syndrome

Maria Marta Amaral^{1, (1)} Departamento de Fisiología. IFIBIO-Houssay. UBA-CONICET, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

Shiga toxin (Stx)-producing *Escherichia coli* (STEC) infection is responsible of the Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) development. In Argentina, it is endemic and is the most common cause of acute renal failure (ARF) in children. The renal injury observed in HUS patients is related to the cytotoxic action of Stx 1 and 2 (Stx1, Stx2), produced by STEC O157:H7 and non-O157:H7. Subtilase cytotoxin (SubAB) secreted by non-O157 STEC strains, may contribute to HUS pathogenesis. We compare the effects between SubAB and Stx2 in the kidney, so we developed primary cultures of human glomerular endothelial cells (HGEC). We found that Stx2 and SubAB decreased HGEC viability by swelling and detachment, endothelial injury similar to that documented in biopsies of HUS patient kidneys. In this regard, apoptosis appears to be one of the mechanisms by which SubAB triggers HGEC death. It is well known that renal microvascular endothelial cells and proximal tubular cells, both sensitive to Stx2 and SubAB, cooperate to regulate the hemodynamic and tubular function. So, then we analyzed the effects of Stx2 and SubAB on, noncontact, close proximity co-culture of HGEC and HK-2. Under basal conditions, HGEC/HK-2 bilayers showed the highest trans-electrical resistance and the lowest water permeability respect to HGEC monolayers. At short times, Stx2 and SubAB inhibited the water absorption across monolayers but not across bilayers. After 72 h, Stx2 inhibited the cell viability of HGEC and HK-2 monolayers, but these effects were attenuated in HGEC/HK-2 bilayers. In addition, as it was described that Stx not only causes direct effects on the endothelium that promote cell injury, but it also induces broad inflammatory response, we evaluated the response of selected pro-inflammatory mediators released by HGEC, HK-2 and HGEC/HK-2 exposed to toxins. Monolayers and bilayers controls showed a differential secretion of IL-6, IL-8 and TNF- α . IL-6 and IL-8 secretion was decreased by SubAB on the monolayers but was increased on the bilayers. While Stx2 increased IL-6, IL-8 and TNF- α secretion by HGEC monolayers, this effect was decreased or null by the bilayers. These results indicate that soluble mediators released by HGEC induce a pro-inflammatory state that could be neutralized by the presence of HK-2.

National Scientific and Technical Research, Council University of Buenos Aires, National Agency for Promotion of Science and Technology



SMP13.4

Avances recientes en los mecanismos moleculares de la secreción tipo III en *Escherichia coli* enteropatógena

Miguel Díaz-Guerrero¹, Eduardo Soto¹, Gaytán Meztlli O.¹, Norma Espinosa¹, **Bertha González-Pedrajo¹**. ⁽¹⁾ Departamento de Genética Molecular, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, MX.

El sistema de secreción tipo III (SST3), también denominado inyectisoma, es una compleja nanoestructura multiproteica que utilizan diversas bacterias patógenas para translocar proteínas de virulencia (llamadas efectores) directamente al citoplasma de células eucariontes. Los efectores despliegan un amplio arsenal de actividades bioquímicas dentro de la célula hospedera para manipular procesos celulares en beneficio de la bacteria. En años recientes ha habido un interés creciente por explotar este sistema de secreción con fines biotecnológicos para aplicaciones en el campo de la medicina. Asimismo, dado que dicha “jeringa molecular” es esencial para la patogénesis bacteriana, constituye un blanco terapéutico atractivo. El modelo de estudio que utilizamos en el laboratorio para entender la biogénesis y el funcionamiento del SST3 es la bacteria *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC). EPEC es un importante agente causal de diarrea infantil en países en vías de desarrollo, ocasionando una alta tasa de morbilidad y mortalidad. EPEC utiliza el SST3 para colonizar el epitelio intestinal generando una lesión histopatológica característica denominada de adherencia y eliminación. En este trabajo se presentarán los resultados que hemos obtenido en el estudio de los mecanismos moleculares que participan en el reconocimiento, reclutamiento y jerarquización de los sustratos de secreción, que permiten un correcto ensamblaje y funcionamiento del inyectisoma.

El presente trabajo se realiza con el apoyo de los donativos: PAPIIT, DGAPA, UNAM (IN209617) y CONACyT (284081).



SMP14.1

Metagenomics and single-cell genomics: Dissecting the microbiome of an acid mine drainage in Brazil

Sara Cuadros-Orellana^{1,2}, Leite Laura R², Medeiros Julliane D², Guilherme Oliveira³. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Forestales, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule, Talca, CL. ⁽²⁾ Centro de Pesquisas René Rachou, Fundacao Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, BR. ⁽³⁾ Instituto Tecnológico Vale, BR.

Sulphidic mine tailings are among the largest mining wastes on Earth and are prone to produce acid mine drainage (AMD). Despite the information emerging from microbial systems in well-established and extremely acidic AMD sites, much remains unknown about the microbial community composition during early-stage AMD formation, when acidity is moderate. In this study, we collected samples from a mildly acidic AMD site at a chalcopyrite mine in the Brazilian Amazon. Over-represented OTUs in the AMD water included many OTUs-related to non-cultivable and poorly described members of the orders *Acidimicrobiales*, *Phycisphaerales*, *Methylacidiphilales*, *Synechococcales*, *Actinomycetales* and *Sphingobacterales*. The AMD sediment is a metal rich and low-diversity environment which core microbiota contains an important archaeal component (36%), mainly composed of methylotrophic *Methanomassiliicoccaceae*. Among the bacterial components of the core AMD sediment metagenome we found *Acidithiobacillus*, *Nitrospira*, TM7 bacteria, purple non-sulfur bacteria and *Chitinophagaceae*. In order to understand the role of *Chitinophagaceae* in this environment, we analyzed the draft genome assemblies from single cells retrieved from the same site. The recovered cells belong to the genus *Hydrotalea*, closely related to the *H. flava* species. These cells have the genomic potential for denitrification, resistance to copper and other metals. Also observed in these genomes were two coexistent CRISPR-Cas systems. We observed a population heterogeneity considering the CRISPR repertoire of these cells. Our results suggest that the population of *Hydrotalea* sp. studied here is rapidly adjusting to the microhabitat selective pressure exerted by phage predation.

Vale S.A.



SMP14.2

Variability and versatility of functional groups in nitrogen cycling of diverse aquatic environments in Chile

Veronica Andrea Molina¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha de Ciencias de La Educación

Nitrifying microorganisms are key nitrogen recyclers contributing to ammonium oxidation, the main product of dissolved organic nitrogen remineralization, to nitrite and then to nitrate. This later compound is an essential nutrient usually limiting primary productivity in aquatic environments and electron acceptor in oxygen deficient waters. Nitrification is a process mainly carried out by two functional groups, i.e., bacteria and archaea ammonium oxidizers (AOB and AOA) and nitrite oxidizers (NOB), or by a single NOB. In general, nitrifiers have a chemoautotrophic lifestyle, contributing to carbon dioxide fixation and nitrous oxide greenhouse and ozonolytic gas emissions, as a metabolic byproduct. In this study, a decade of research associated to the role of nitrifying assemblages, their activity and ecology were summarized including new results of recently underexplored niches for this communities. Nitrifying assemblages were rich and ubiquitous in marine and continental aquatic ecosystems, including high altitude wetlands as extreme desert environments. AOA were predominant and abundant together with NOB, the first favorable responding to physical and chemical gradients in the water (salinity, oxygen and substrate) and a rapid colonizer of “allochthonous” surfaces such as plastic contaminant in marine areas. Moreover, a great versatility in the case of AOB and NOB were determined, showing a high response capacity to sporadic substrate sources, such as the excretion of fishes and marine invertebrates (copepods) and tolerance to high radiation, salinity and low oxygen concentration, some of the extreme characteristics of the desert and oxygen minimum zones of the Eastern South Pacific. In total, nitrifying assemblages significantly contributes to the nitrogen cycling of diverse aquatic ecosystems of Chile and may be considered as resilient to the extreme characteristic conditions, including unique ecosystems of our planet.

FONDECYT 1171324, 1181773, 1180954 - LIA MORFUN



SMP14.3

Laguna Bacalar: arrecifes microbianos en un ecosistema en peligro

Falcón Luisa I¹, Alfredo Yáñez², Andrés Sánchez-Quinto¹, Selene Gómez-Acata¹, Héctor Hernández-Arana². ⁽¹⁾ Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, MX ⁽²⁾ Sistemática y Ecología Acuática, ECoSur Chetumal, Chetumal QR, MX

Los microbialitos son estructuras bentónicas litificadas formadas por consorcios microbianos altamente diversos, que conjugan sus metabolismos para lograr la función biogeoquímica a escala comunitaria. Estas comunidades albergan microorganismos que precipitan minerales (carbonatos, silicatos y sulfatos) en donde el compartimento activo se encuentra en las capas superficiales de la estructura y el compartimento litificado va acumulándose al interior. La capacidad de litificar vuelve a los microbialitos en comunidades que han logrado permanecer en el registro fósil considerándose algunos ejemplares como las formas de vida más antiguas en la Tierra, datados en aproximadamente 3,500 millones de años. Existen arrecifes bacterianos formados por microbialitos en diferentes ambientes acuáticos los cuales incluyen pozas en el desierto, lagos-cráter, lagunas costeras y marinos. En México hay una gran diversidad de sitios con arrecifes de microbialitos, en los cuales existen programas de investigación en ecología y evolución microbiana. La laguna de Bacalar está formada por una serie de cenotes (afloramientos de agua subterránea saturada en carbonatos que emergen en depresiones geológicas de origen kárstico) y canales que convergen en el cuerpo lagunar, el cual tiene una longitud de 42 Km. Existen formaciones de microbialitos con dimensiones entre 5 cm a 2 m de diámetro a lo largo del cuerpo lagunar. Algunos de los microbialitos más desarrollados se han datado en 9,000 años, y se sabe que su composición mineral está compuesta en su mayor parte por calcita y en menor proporción cuarzo, hematita y siderita. La diversidad microbiana asociada a los microbialitos de laguna Bacalar está representada en mayor medida por Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Cyanobacteria, Chloroflexi y fija N₂ durante el día asociado a cianobacterias Nostocales. Aún cuando no hay gradientes biogeoquímicos que separen las diferentes regiones de la laguna Bacalar, existen cambios en la composición microbiana, algunos de los cuales se asocian al efecto del incremento en la actividad turística desorganizada en el cuerpo lagunar. ¿Es posible equilibrar el desarrollo humano y la conservación?

Este proyecto se llevó a cabo con el fondo SEP-CONACyT No. 254962 y con el proyecto PAPIIT-UNAM 202016-3 otorgados a LIF.



SMP15.1

Genómica y reconstrucción metabólica de bacterias ambientales

Michael Seeger¹, Valentina Mendez¹, Loreine Agulló², Viviana Urtuvia², Pamela Villegas³, Paulina Vega³, Myriam González³, Beatriz Cámara³. ⁽¹⁾ Chemistry, none, Universidad Tecnica Federico Santa Maria. ⁽²⁾ Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, CL. ⁽³⁾ Chemistry, Universidad Tecnica Federico Santa Maria, Valparaíso, CL.

La bioprospección de ecosistemas inexplorados ha permitido aislar una diversidad de nuevos microbios. El notable desarrollo de las técnicas de secuenciación masiva de ácidos nucleicos ha propiciado la secuenciación de los genomas de un alto número de estos microorganismos. La genómica estructural y funcional ha revolucionado el estudio de las bacterias ambientales, desvelando nuevas rutas metabólicas y proyectando diversas aplicaciones biotecnológicas (1). *Burkholderia xenovorans* LB400 es una bacteria ambiental modelo para el estudio del metabolismo celular. En este trabajo, se presentarán estudios de genómica y reconstrucción metabólica basados en *B. xenovorans* LB400. El estudio del genoma indicó que la cepa LB400 posee genes que codifican enzimas de diversas rutas catabólicas y rutas anabólicas. Se realizaron ensayos de biotransformación, medición de actividades enzimáticas e identificación de intermediarios metabólicos y productos biosintéticos. La expresión de genes se analizó por RT-PCR y RT-qPCR. El proteoma se analizó utilizando electroforesis 2D y secuenciación de proteínas por espectrometría de masas (MS) y por cromatografía líquida-MS Orbitrap. Se demostró la funcionalidad de diversas rutas catabólicas como *p*-cimeno, *p*-cumato y 2-aminofenol y las rutas anabólicas de polihidroxialcanoatos, ácido indol-3-acético, y un sideróforo tipo NRP. Mediante enzimas dioxigenasas nativas de la cepa LB400 o enzimas híbridas generadas por ingeniería genética se biotransformaron diversos compuestos aromáticos como flavonoides, lo que permitió la síntesis de nuevas moléculas incluyendo compuestos antioxidantes. El conocimiento de nuevas rutas metabólicas en bacterias ambientales permite proyectarlas para aplicaciones biotecnológicas como procesos de descontaminación ambiental y la biosíntesis de productos químicos finos.

Agradecimientos: red RIABIN del Programa Pablo Neruda (OEI), CONICYT PIA ACT172128 Proyecto GAMBIO y proyectos FONDECYT 1151174, USM y CONICYT-BMBF.



SMP15.2

Ecogenómica y holobiontes: Herramientas y recursos de exploración biotecnológica, entendimiento evolutivo y restauración ambiental

Howard Junca¹. ⁽¹⁾ Microbial Ecology, Microbial Ecology, Microbiomas Foundation.

Un aspecto clave en la recuperación ambiental mediada por microorganismos y en el entendimiento de procesos de coevolución de comunidades microbianas en ambientes o huéspedes de manera conjunta (holobiontes) consiste en la obtención e integración de información por métodos ómicos. Comprendiendo con mayor precisión las interacciones funcionales es posible la elaboración de seguimientos y procesos modificando sus actividades conjuntas con amplias implicaciones y potencialidades benéficas. En ésta conferencia se presentarán varios ejemplos de avances técnicos y conceptuales sobre comunidades microbianas adaptadas, condicionadas y modificadas por selectores fuertes usando como modelo de estos procesos las dinámicas ocasionadas por exposiciones a hidrocarburos ya sean estos derivados de petróleo, usuales contaminantes ambientales por actividades humanas, o por exposiciones a compuestos de síntesis biológica con características análogas siendo estos altamente antagónicos por xenobiosis química contra la mayoría de organismos de contacto circunstancial pero favorables para simbioses estables. Se presentarán algunas propuestas sobre cómo éste conocimiento ecogenómico puede ser acoplado a aplicaciones derivadas de biología sintética, reconstrucción de suprametabolismos, edición (meta)genómica e ingeniería de microbiomas con el objeto de lograr la emergencia concertada y sinérgica de funciones microbianas que pueden contribuir a soluciones para el desarrollo sostenible de problemáticas ambientales globales crecientes que implican alto riesgo para la supervivencia humana y ecosistémica y que son características del actual inicio del antropoceno.

SMP15.3

Mass spectrometry in microbiology

Gabriel Padrón¹. ⁽¹⁾ Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba

Mass spectrometry (MS) became one of the most powerful tools for protein identification and analysis. The new generation of mass spectrometers allows the identification of more than 70% of the yeast proteome, approximately 90% of *E. coli* proteome and about 10000 mammalian proteins in only one experiment. With Top-down and ion mobility approaches, it is possible to analyze intact proteins and multiprotein complexes including virus like particles and capsids. MS is able to study the sequence of pathogens, the host cells-pathogen interaction and the mechanism of infection. In pathogen diagnostics, a great success has been obtained in bacteria and yeast identification. The method based on MALDI-TOF was approved by FDA and the European Medicines Agency (EMA) and it has been using in several hospitals. Bruker claims that its MALDI Biotyper-CA (MBT-CA) system covers 424 gram-positive and gram-negative bacteria, as well as yeasts and Biomeriux affirms that its VITEK[®] MS system is able to identified 1046 species. Other pathogens such as ticks, fleas, virus and protozoans have been analyzed by MS. *Leishmania* species are responsible for a broad spectrum of diseases called leishmaniasis affecting over 12 million people worldwide. Clinical forms range from self-healing localized cutaneous lesions to severe disseminated visceral forms that could be fatal. Here, we report a comparative study of three *Leishmania* species: *Leishmania braziliensis*, *L. panamensis* and *L. guyanensis*. Parasite cells were lysed in presence of 2% SDS and sample preparation was carried out by the FASP method. LC-MS-MS spectra were run in a QExactive HF MS coupled to a UPLC system using a 75 μm x 50 cm column packed with C18 1.8 μm diameter particles and 4h gradient. Data were analyzed with MaxQuant and Perseus. More than seven thousands proteins were identified and the absolute quantification of 6,500 were determined using label free quantification and total protein approach. 2,054 proteins had statistically different concentrations in at least two of the species. PCA analyses, using all identified proteins, showed very clear difference of the three species. Differentiation between two strains of *Leishmania braziliensis* and two strains of *Trichomonas vaginalis* was also possible.



SMP16.1

Role of IL-10 producing neutrophils in bacterial infections

Susan Bueno¹. ⁽¹⁾ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile

Neutrophils have been traditionally described as inflammatory cells that highly contribute to tissue damage. However, in the last years, new properties of neutrophils have been described, including the modulation of the immune response through the production of Interleukin 10 (IL-10). Data obtained previously in our laboratory have shown that this cytokine is relevant during the course of different bacterial infections. However, the contribution of IL-10 producing cells, as neutrophils, in the resolution of these bacterial infections remain unknown. We have evaluated how some bacteria are able to modulate the function of neutrophils as one of their mechanism of immune evasion. Using a murine models of infection, we have performed *in vitro* and *in vivo* assays to evaluate the neutrophil response during *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Our results show two different subsets of neutrophils in lungs contribute to IL-10 production during a *S. pneumoniae* infection. Moreover, we found that both *S. pneumoniae* and *K. pneumoniae* are able to modulate the production of IL-10 by neutrophils in the infected lungs. On the other hand, *S. Typhimurium* is able to promote neutrophil extracellular traps by infected neutrophils, which could be related to the Type-Three secretion system encoded in *Salmonella* Pathogenicity Island 2. These results suggest that the different pathogens evaluated in this study are able to affect directly or indirectly the function of the neutrophil, which generate different phenotypes of these cells and different disease outcome.

This study was supported by Fondo Nacional de Investigación Científica y Tecnológica de Chile CONICYT (FONDECYT grants 1170964 and 1140010), and the Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy P09/016-F.

SMP16.2

El factor transcripcional ArcA participa de manera independiente del sensor ArcB en la modulación de la regulación génica de *Salmonella Typhimurium* dentro de neutrófilos murinos

Claudia Saavedra¹. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andres Bello

Los neutrófilos utilizan compuestos tóxicos como el HOCl como mecanismos microbicidas frente a infecciones por patógenos como *Salmonella Typhimurium*, que logra evadir parte de esta respuesta inmune del hospedero. Esta capacidad se debe a la modulación génica específica y eficaz, así nosotros nos enfocamos en el sistema de dos componentes ArcAB, el cual responde a cambios en los niveles de oxígeno y estrés por especies reactivas de oxígeno (ROS). Evaluamos a nivel transcripcional como ArcAB participa en la sobrevivencia de *S. Typhimurium* frente a las condiciones encontradas en neutrófilos murinos. En primer lugar, llevamos a cabo una caracterización del ambiente tóxico asociado a ROS, a las que se enfrenta la bacteria durante la infección a través de cuantificación de O_2^- y HOCl. En este contexto, evaluamos la expresión de genes asociados a la respuesta a ROS que codifican para catalasas, porinas, resistencia a HOCl y virulencia y encontramos que ArcA participa de forma activa regulando varios de genes clave, como *katE*, *msrA*, *ompD*, *ompW*, *cadB* y *sipC*, en las condiciones encontradas en neutrófilos. A continuación, realizamos un análisis transcriptómico global mediante RNA-seq de cepas mutantes *DarcA* y *DarcB* expuestas a HOCl *in vitro*, posteriormente validamos los genes pertenecientes a las rutas enriquecidas encontradas *in vitro* midiendo la expresión de estos genes en las cepas *DarcA* y *DarcB* cosechadas de neutrófilos infectados. Los resultados muestran que los niveles de ROS y daño a biomoléculas corresponden al estrés por ROS. Producto del análisis transcripcional encontramos semejanzas en las rutas enriquecidas del RNA-seq al comparar con los resultados de expresión génica obtenidos de bacterias cosechadas *in vitro* de fagocitos infectados, específicamente rutas como degradación de ácidos grasos y lisinas, fosforilación oxidativa y metabolismo de prolina. Sin embargo, existen diferencias importantes entre el regulon del factor transcripcional y los genes con expresión diferencial en la cepa *DarcB*. Concluimos así que ArcA y ArcB participan en la regulación de genes que le permiten a la bacteria sobrevivir estrés asociado a ROS durante su ciclo infeccioso, sin embargo, no trabajan en conjunto como ha sido postulado en otras condiciones.

FONDECYT 1160315



SMP16.3

Neutrophil plasticity in *H pylori* infection

Lee-Ann Allen¹. ⁽¹⁾ Medicine and Microbiology, Center for Immunology and Immune-Based Diseases, University of Iowa

Helicobacter pylori is a human pathogen that resides in the gastric mucosa, eliciting a neutrophil-dominant inflammatory response that can progress to peptic ulcer disease or gastric cancer. In the past few years it has become apparent that neutrophils have immunoregulatory properties and can exhibit significant functional and phenotypic plasticity. We recently demonstrated that these cells undergo N1-like subtype differentiation *in vitro* following *H. pylori* infection. This phenotype is notable for profound nuclear hypersegmentation and a proinflammatory and cytotoxic phenotype that favors infection rather than effective host defense. Current studies are focused on elucidation of the underlying molecular mechanisms. To this end, we have shown that direct infection and both host and bacterial transcription and protein synthesis are essential. Specific host and bacterial targets of interest have been identified by global transcriptional profiling using dual RNA-Seq. Additional confocal microscopy studies revealed that *H. pylori* alters microtubule structure in infected neutrophils and that microtubule dynamics are critical for nuclear hypersegmentation and sustained infection. Taken together, our studies provide the first evidence that neutrophil subtype differentiation can be induced by a bacterial pathogen *in vitro*, and advance understanding of bacterial pathogenesis as well as the mechanisms that regulate neutrophil nuclear morphology.

SMP17.1

Impacto clínico del resistoma y la transferencia de genes de resistencia antimicrobiana

Silvio Vega¹. ⁽¹⁾ Microbiología y Medicina Tropical, University of South Florida

El tamaño aproximado del genoma bacteriano, comprende unos 250 genes pero varía entre especies. Este genoma incluye genes para funciones vitales del microorganismo y genes accesorios. El “resistoma” puede definirse como la colección de los genes que codifican mecanismos de resistencia antimicrobiana. Esta colección de genes puede tener su origen en el suelo o el agua en donde la competencia por el espacio y los nutrientes, llevó a que estos microorganismos desarrollaran formas de tolerar y sobrevivir a los productos antimicrobianos producidos por otras bacterias. Este “**resistoma**” bacteriano, además, se produce por frecuentes mutaciones diferentes según el **organismo procariota** del que se trate, aunque se dan con mayor continuidad en las llamadas **bacterias hipermutadoras**, es decir, bacterias con un sistema de reparación de ADN defectuoso. Los elementos especializados en mover ADN (incluyendo genes de resistencia) dentro y entre genomas, constituyen el llamado “**mobiloma**”, compuesto por plásmidos, transposones, integrones de bacteriófagos, secuencias inserción y elementos integradores de conjugación. El tiempo de adquisición de estos genes de resistencia, se da de forma muy temprana inclusive desde el nacimiento. Y estos genes se acumulan en la microbiota intestinal desde la infancia hasta la edad adulta. La presión selectiva que generan los antibióticos sobre la microbiota intestinal, elimina las poblaciones de bacterias sensibles, y solo aquellas con altos niveles de resistencia podrán sobrevivir. El impacto clínico de la transferencia de estos genes de resistencia radica en:

1. Las bacterias pueden propagar la resistencia por medio de clonación, copiando su genoma de forma que la progenie “hereda” el mecanismo de resistencia y de esta forma perpetúa su existencia a nivel hospitalario, generando brotes clonales.
2. Las bacterias pueden además propagar estos mecanismos por conjugación (transferencia de plásmidos) no solo entre miembros de la misma especie sino entre especies distintas), generando toda una comunidad de bacterias MDR que imponen un gran reto en el control de infecciones hospitalario.

SMP17.2

Tecnología emergente en el diagnóstico de bacterias MDR por el laboratorio

Patricia García Cañete¹. ⁽¹⁾ Departamento de Laboratorios Clínicos, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile

El diagnóstico microbiológico tradicional se basa en la toma de muestras clínicas, cultivo de las mismas en medios sólidos y aplicación de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Sin embargo esta aproximación “tradicional”, tiene limitaciones.

1. El tiempo de detección: El resultado completo de identificación y antibiograma puede tardar hasta 3 días, lo que expone al paciente severamente enfermo a tratamientos empíricos con antibióticos de amplio espectro. El ajuste o de-escalamiento tardío se asocia con mayor toxicidad y mayor selección de resistencia.
2. Microorganismos indetectables: No todos los agentes causales de infecciones pueden ser cultivados en el laboratorio. Por lo cual grupos de pacientes pueden quedarse sin diagnóstico, sometiéndose a terapias inapropiadas de amplio espectro.
3. Imposibilidad de detectar co-infecciones: Se conoce que algunos síndromes infecciosos no son causados por 1 solo tipo de microorganismo. En el cultivo convencional algunos de ellos no se recuperan por los bajos recuentos, por lo cual también puede existir subdiagnóstico.

Es por esto que las tecnologías emergentes permiten detección masiva de microorganismos y sus genes de resistencia favoreciendo un paso temprano a terapia dirigida y un de-escalamiento oportuno. Algunas de estas tecnologías más usadas en el laboratorio son: a) Tecnologías basadas en amplificación de ácidos nucleicos: Estas tecnologías incluyen instrumentos que pueden detectar ADN bacteriano en hemocultivos positivos y otras muestras como respiratorias, LCR o heces y ofrecen resultados en <1 hora. Algunos de estos métodos permiten detectar además genes de resistencia específicos que facilitan la elección de la terapia adecuada. b) Tecnologías no basadas en amplificación: El ejemplo más claro es MALDI TOF que permite detección en minutos de bacterias y hongos por medio de sus espectros de proteínas. Esta tecnología está validada por la FDA para desarrollar desde colonias crecidas en agar, pero existen aplicaciones para desarrollarla desde hemocultivos positivos y orina. El uso adecuado de todas estas herramientas se conoce como “Diagnostic Stewardship”, e involucra la selección adecuada de la tecnología en el paciente adecuado, en el tiempo de resultado apropiado de acuerdo a la severidad y con el costo ajustado al beneficio obtenido.

SMP17.3

Interpretación clínica de la concentración inhibitoria mínima (CIM) en la era de la multi-resistencia

German Esparza¹. ⁽¹⁾ Microbiología, profesor, Pontificia Universidad Javeriana

Una de las tareas del laboratorio de microbiología, es la realización de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, conocidas como “antibiogramas”. Estos antibiogramas permiten: a) Ajustar la terapia empírica aplicada en el paciente, de acuerdo al tamizaje de antibióticos marcadores de mecanismos de resistencia, el foco de la infección y el conocimiento de la especie. b) Coleccionar los datos obtenidos de todos los antibiogramas realizados en un periodo de tiempo, para establecer la “epidemiología bacteriana local” y de esta manera escoger la terapia empírica que ofrezca un mejor cubrimiento para la mayoría de estos microorganismos. Las metodologías mas empleadas para realizar antibiogramas pueden dividirse en 2 grupos. Los métodos cualitativos como disco difusión (Kirby-Bauer). Y los métodos cuantitativos (microdilución en caldo, dilución en agar y E-TEST) que generan la concentración inhibitoria mínima (CIM). La CIM mide el grado de sensibilidad y resistencia de una bacteria u hongo a un antibiótico particular. Esta medida es principalmente crítica frente a algunos antibióticos y especies bacterianas:

- Vancomicina en especies de *Staphylococcus* y *Enterococcus*.
- Cefalosporinas y Carbapenems en Bacilos Gram Negativos.
- Polimixinas en Bacilos Gram Negativos productores de carbapenemasas.

La interpretación comprehensiva de la CIM, facilita la elección de la terapia que garantice mayor erradicación bacteriana en un proceso infeccioso, menor toxicidad por el uso de dosis elevadas de antibióticos y menor selección de resistencia antimicrobiana. Sin embargo la medición de la CIM no está exenta de limitaciones y errores. Algunos de ellos pueden ser:

1. La reproducibilidad de los métodos no es perfecta. Por tanto una CIM puede tener varios resultados durante procesos consecutivos de medición. Esto impacta la validez y relevancia clínica de los resultados.
2. La inestabilidad de algunos antibióticos, que no permite una medición real de la actividad antimicrobiana. Esto ocurre porque la composición de estas moléculas es impura (por ejemplo las polimixinas) y existen diferencias entre lotes del mismo producto.
3. Los diferentes puntos de corte entre estamentos internacionales que los establecen como CLSI o EUCAST.
4. El desempeño de los métodos e instrumentos empleados para realizar los antibiogramas.



SMP18.1

Habitabilidad, producción y preservación de signos de vida microbiana en un marco geológico salino, volcánico y desértico análogo a Marte

Cecilia Demergasso¹, Guillermo Chong Díaz². ⁽¹⁾ Centro de Biotecnología, Vicerrectoría de Investigación, Universidad Católica del Norte ⁽²⁾ Departamento de Geología, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL.

La astrobiología comienza con la investigación de la vida en la tierra, el único lugar donde se sabe que la vida existe, y se extiende hasta los límites más alejados del universo. En el tiempo, la investigación abarca desde el Big Bang hacia el futuro, la evolución prebiótica, el origen de la vida, su evolución y los rastros de vida. El estudio de la habitabilidad en planetas y en sitios específicos en estos planetas ha sido y es uno de los focos de estudio de la astrobiología. Una vez inferida la existencia de condiciones adecuadas para la vida, como nosotros la conocemos, la exploración en astrobiología requiere definir los hábitats potenciales, los rastros que puede haber dejado la vida en esos hábitats y la posibilidad de que esos rastros hayan sido preservados. La guía para definir la habitabilidad es nuestro conocimiento de la evolución de la vida en la tierra. Para la definición de los hábitats, del tipo de vida y de sus potenciales signos, en tanto, se usa como base el conocimiento adquirido en el estudio de los sitios análogos, por ejemplo, a estados primitivos de Marte. Recientemente se ha reportado las ventajas de sistemas hidrotermales, de ambientes subacuáticos, subaéreos y subterráneos y de sistemas ricos en hierro como ambientes análogos. El Desierto de Atacama y el Altiplano, caracterizado como un dominio salino, ofrecen una variedad de estos sitios análogos. Es necesario describir el marco geológico de estos sitios, los organismos presentes, sus capacidades metabólicas, su distribución e impacto detectable en la geoquímica del ambiente (moléculas orgánicas, biominerales, gradientes). Nuestra investigación se ha centrado en hábitats asociados a sulfatos, percloratos y halitas, entre otros. La selección de los signos potenciales de vida (biosignatures), en base al estudio de ambientes análogos, provee los fundamentos para la definición, entre otros, de la instrumentación requerida y de los sitios de aterrizaje de próximas misiones.

Project Nº 32002137: “Mapa de diversidad microbiana de la Zona Norte”, Donación Minera Escondida Lda. NASA Astrobiology Inst. Grant No. NNX15BB01A, N. Cabrol, PI.



SMP18.2

Interdisciplinary astrobiological research of planetary habitability using laboratory simulations

Abrevaya Ximena C¹. ⁽¹⁾ IAFE, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA - CONICET, Buenos Aires, AR

The amazing discovery of microorganisms inhabiting extreme environments on Earth has opened the possibility to think in “life as we know it” as potential inhabitants of other planetary bodies. In line with these developments, thousands of extrasolar planets with masses and radii-consistent with rocky planets were found in the last years and some of these planets are or are near the habitable zone. Habitability studies require empirical measurements of critical factors as radiation, due to it is known that both terrestrial biospheres as well as biospheres of extrasolar planets are subjected to stellar irradiation and it can be a direct or indirect constraint for the evolution of life and its environment. We carry out different interdisciplinary projects in order to study these aspects, which include astrophysical, geological and microbiological approaches. Astrophysical studies related to stellar emissions and the potential planetary conditions that they impose are in combination with microbiological experiments in laboratory simulations of extraterrestrial environments to determine the chances of life to exist or to arise and develop in a planetary body. This includes studies related to the planetary habitability in the early Solar System or in exoplanets. Geological studies are also included as part of these experiments where hypotheses of the origin of life as the lithopanspermia are tested and shielding to radiation among other conditions is of relevance. From the microbiological point of view, hypersaline environments are of our interest as halophilic archaea have particularly radiotolerant features and have shown resistance to other conditions as desiccation and vacuum. Part of our research has also been related to the development of bioelectrochemical methods to detect metabolic biosignatures. During my talk, I will review some of our interdisciplinary and international research projects related to these topics, as part of the studies in the Astrobiology field that are being carried out in Argentina with collaborators in Latin-America, Austria, and the United Kingdom.

Proyecto de Unidad Ejecutora IAFE (CONICET) (2016-2021)



SMP18.3

Developing technologies to study of life and habitat in the Atacama Desert and on Mars

David Wettergreen¹. ⁽¹⁾ The Robotics Institute Carnegie Mellon University

In the 1970's decade US scientists started preliminary research in the Atacama Desert in relationship with astrobiological subjects. The reason was based in the fact that hyperarid core of the Atacama Desert represents a closest terrestrial similarity to different physical aspects of Mars surface. In 1997 a new phase of these studies started with the Nomad rover the first one deployed in this desert. This was the earliest developed technology for navigation and exploration in Mars-like terrain. This research campaign was followed by several others under the leadership of Dr. David Wettergreen, Research Professor in the Robotics Institute at the Mellon University where for more than 25 years he has conducted research and developed technology for robotic explorers. Several of these projects had the collaboration of Chilean scientists from the Universidad Católica del Norte. In recent decades he has conducted scientific investigations, using robots deploying instruments and tools to automatically collect measurements, sample soils and then to model habitat and map the distribution of micro-organisms. Today his research seeks to embody intelligence in rovers so that they can determine where and how to make measurements and to detect trends and anomalies to better inform their investigation. He applies techniques in machine learning to analyze data and combine information from orbital, aerial, surface and subsurface in modeling habitat with goal of predicting and locating life in unexplored environments.

Acknowledgment: NASA Research Center



SMP19.1

¿Qué conocemos de los bacteriófagos portadores de genes de toxina Shiga?

Alejandra Krüger¹, Julia Burgán¹, Lucchesi Paula MA¹. ⁽¹⁾ CIVETAN, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, TANDIL, AR.

Los fagos Stx comparten la característica de contener en su genoma el operón que codifica la toxina Shiga (Stx). Esta toxina es el principal factor de virulencia de un patogrupo de cepas de *Escherichia coli* denominadas STEC (Shiga toxin-producing *E. coli*) con capacidad de causar diarrea, colitis hemorrágica y Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). Distintos estudios han destacado el rol de los fagos Stx en la regulación de la producción de toxina, y en la emergencia de nuevas cepas STEC. Sin embargo, se observan marcadas diferencias respecto a tamaño y composición de genoma, morfología y especificidad de huésped entre distintos fagos Stx. Por lo cual, se considera que características propias de dichos fagos podrían contribuir a las diferencias observadas en el desarrollo de enfermedad. En general, los genomas de estos fagos presentan una organización similar a la del fago lambda. El operón *stx* se encuentra ubicado entre los genes de la región tardía, regulados por el antiterminador Q. Se han identificado variantes de Q que podrían asociarse con diferencias en la producción de toxina. Los fagos Stx2a son de particular interés debido a que portan el subtipo de toxina frecuentemente asociado a SUH. Los estudios realizados en nuestro laboratorio a partir de cepas STEC de distintos orígenes (bovinos, alimentos cárnicos y humanos) indican que los fagos Stx2a circulantes en Argentina son generalmente infectivos e inducibles. Desde las características evaluadas (expresión y producción de toxina Shiga, títulos de fagos, respuesta a la inducción con mitomicina C, región *q-stx*, etc.) se observa que existe un subgrupo de cepas STEC en el ganado bovino con fagos Stx2a similares a los presentes en las cepas clínicas. Asimismo, los análisis de secuencias demostraron alta identidad genómica entre ArgO145, un profago de una cepa bovina, con fagos Stx2a de cepas clínicas O157 aisladas de otros países, y alta identidad en la región *q-stx* entre profagos de cepas de Argentina y cepas de un brote en EEUU. La circulación de fagos Stx2a con estas características podría contribuir a la alta incidencia de SUH en Argentina.



SMP19.2

From genome to protein domain: Study of the host recognition machinery in *Lactobacillus* phages

Mariana Piuri¹. ⁽¹⁾ Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires

Bacteriophage J-1 was isolated in 1965 from an abnormal fermentation of Yakult using *Lactobacillus casei* “Shirota” as starter. We sequenced J-1 genome and identified all the structural proteins by mass spectrometry analysis. Based on the annotation, gp16 and gp17 are putative tail proteins. Immunoelectron Microscopy (IEM) shown that gp16 is located at the tip of the tail and antibodies against this protein neutralized phage infection. GFP-gp16 fusions bind specifically to *Lactobacillus casei/paracasei* cells, and binding is inhibited in the presence of L-rhamnose, a main component of *L. casei* cell wall polysaccharide, strongly suggesting its involvement in host recognition. The structure of gp16 was modeled based on the crystal structure of baseplate distal tail proteins (Dit) that form the baseplate hub in other *Siphoviridae*. However, two regions of the C-terminus of gp16 could not be modeled using this template, the first one showing sequence similarity to carbohydrate-binding modules (CBMs). The N-term of gp17 was modeled based on the structure of phage T4 gp27 and resembles tail associated lysozyme proteins (Tal). In order to understand how *Lactobacillus* phages recognize their hosts, we studied the baseplate of J-1 at the molecular level. Using a combination of EM reconstruction and X-ray diffraction a baseplate atomic model was constructed. J-1 baseplate is formed by an hexameric “evolved” Dit protein (gp16) containing two CBMs (CBM1 and CBM2) attached to a trimeric Tal (gp17) with no Receptor Binding Proteins (RBPs) homologs to those present in Lactococcal phages. The CBM2 structure present in Dit was solved by X-ray crystallography and deposited in the PDB (5LY8). CBM2 is at least one of the domains responsible for sugar recognition as mCherry-CBM2 fusion protein has proven to specifically bind to *L. casei* cells. These findings suggest that evolved Dits should be considered as ‘active’ proteins toward the host, and not passive hubs and may serve as unique RBPs or as associated recognition modules involved in the host adhesion process. The detailed study of the machinery involved in host recognition in *Lactobacillus spp* could facilitate the design of new strategies to avoid phage propagation in the dairy industry.

SMP19.3

Efecto del coctel de bacteriófagos SalmoFree® en la prevalencia de *Salmonella* en granja

Martha Vives¹, Viviana Clavijo¹, Pilar Donado², Diana Baquero¹, Alejandra Arevalo². ⁽¹⁾ Ciencias Biológicas, Ciencias, Universidad de los Andes. ⁽²⁾ programa Colombiano para la Vigilancia integrada de la Resistencia Antimicrobiana (COIPARS), Corpoica, Mosquera, CL.

En los últimos años los bacteriófagos se han hecho visibles como una alternativa viable para el control de agentes infecciosos y contaminantes en diferentes cadenas productivas, y en la salud humana, animal y vegetal. Diversos estudios demuestran su efectividad en el laboratorio y en estudios controlados. Sin embargo, su utilidad a escala productiva sigue siendo un área poco explorada, por las dificultades propias de la escala, la falta de regulaciones, y el natural temor por parte de los productores. En un trabajo conjunto entre Corpoica, una empresa del sector avícola nacional colombiana y la Universidad de los Andes, con la cofinanciación de Colciencias, se realizaron pruebas a escala de granja productiva de pollos de engorde para evaluar el efecto del coctel SalmoFree[®], una mezcla de seis bacteriófagos activos contra varios serovares de *Salmonella*. En dos grupos de dos galpones cada uno (tratados y no tratados con SalmoFree[®]) se registraron diferentes parámetros de producción y se evaluó la prevalencia de *Salmonella*. En el primer ensayo, el total de animales en galpones control fue de 13.872 y en galpones tratados con SalmoFree[®] fue de 20.802. En el segundo ensayo se mantuvieron las mismas condiciones, con variaciones pequeñas en los números de los animales (14.076 en galpones control y 20.910 en galpones tratados). Los resultados mostraron que los bacteriófagos que conforman SalmoFree[®] son inocuos para los pollos de engorde, dado que no se observaron diferencias significativas en mortalidad, peso, consumo y conversión alimenticia entre los grupos control y los tratados. La efectividad de SalmoFree[®] se evidenció en la significativa reducción de la prevalencia de *Salmonella*, llegando a ser indetectable al final del ensayo. Estas pruebas y sus resultados nos permitieron, además, establecer una relación de confianza con la empresa avícola, abriendo posibilidades de nuevos ensayos en condiciones de producción, y oportunidades para la fagoterapia en el país.

Facultad de Ciencias, Colciencias, empresa anónima

SMP20.1

The IL-4/13 cytokine and receptors of salmonids

Monica Imarai¹, Alvaro Sequeida¹, Kevin Maisey², Natalia Cordero¹, Valentina Wong¹, Castillo Vergara¹, Andrés Castillo¹. ⁽¹⁾ Laboratory of Immunology and, CL. ⁽²⁾ Laboratory of Comparative Immunology, Center of Aquatic Biotechnology, Faculty of Chemistry and Biology, University of Santiago of Chile, Santiago, CL.

Interleukin (IL)-4 and IL-13 play a central role for immune response in mammals. The signals are mediated by cell surface receptors formed by gC, IL-4Ra, IL-13Ra1, and IL-13Ra2 polypeptide chains. These polypeptides interact forming two main types of receptor complex: the type I formed by IL-4Ra and gC, expressed in hematopoietic cells, and the type II formed by IL-4Ra and IL-13Ra1, found in non-hematopoietic cells. In rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) three paralogues of these cytokines have been reported, named *il-4/13A*, *il-4/13B1* and *il-4/13B2*. Recombinant isoforms of rainbow trout IL-4/13 have been produced showing that they regulate transcriptional expression of a variety of immune-related genes. The knowledge of IL-4/13 fish receptors is restricted to the structure of the genes and to analysis of transcriptional expression. At least two paralogues of each IL-4/13 receptors have been reported in fish and no functional studies have been done so far. In order to understand the role of IL-4/13 on the adaptive immune response of Atlantic salmon, we initiated functional studies using recombinant cytokines and began to characterize the cognate receptors of salmon. We have produced the IL-4/13A recombinant protein of Atlantic salmon and studied its activity through *in vitro* and *in vivo* analysis. Interestingly, IL4/13A induces transcriptional expression of cytokine genes and phagocytosis in myeloid and B cells of the salmon. In regards to receptors, only deduced sequences from IL-4Ra and IL-13Ra2 has been obtained from the salmon genome. Then, we described novel sequences for the gC1, IL-13Ra1A and IL-13Ra1B interrogating the salmonid database. We cloned gC1, IL-4Ra, IL-13Ra1A, IL-13Ra1B and IL-13Ra2A from RNA of head kidney leukocytes demonstrating transcriptional expression and studied tissue distribution of the receptors. Interestingly, IL4/13A upregulated the transcriptional expression of the receptors. Structural analysis of predicted proteins of each receptor chain has been done together with the 3D models. The cytokine-binding homology region, transmembrane region followed by a cytoplasmic region were identified for each protein chain. The predicted protein structure and the presence of conserved domains confirmed the identification of the IL-4/13 receptors in Atlantic salmon. Altogether, these studies provide insights into the functional role of IL4/13 and their receptors in salmon, that can be fundamental in disease and immune therapies.

FONDECYT 1161015, FONDECYT INICIACION 11171057, DICYT021640IB_postdoc and USA1555/Vridei 021743JB_CONT, RCUK-CONICYTMR/N02625X/1.



SMP20.2

The two main pathogens in Chilean aquaculture: Molecular characterization

Sergio Marshall¹. ⁽¹⁾ (Harvard/81) Laboratorio de Genética e Inmunología molecular. Instituto de Biología. Facultad de Ciencias Pontificia Universidad Católica de Valparaíso Campus Curauma - Valparaíso.. Laboratorio OIE de Referencia Mundial virus ISA (ISO 17025) y referenci

Piscirickettsia salmonis (P.sal) is a highly aggressive facultative Gram negative bacteria particularly affecting salmonid fish species reared under confined conditions and therefore constituting a permanent challenge for the sustainability of Chilean aquaculture. The bacteria, is endemic in productive centers, generating periodically outbreaks, a clear indication that the extensive strategies designed to control the disease are not working as expected On the other hand, a novel Orthomyxovirus known as *Infectious Salmon Anemia Virus* almost destroyed the blooming industry between 2007 -2010 almost wiped out Atlantic salmon production in Chile, the most popular variety of salmon commercially worldwide. Notwithstanding the industry recovered, sporadically new outbreaks occur altogether with the intriguing persistence of the non-pathogenic form of the virus known as HPRO, The problem is that HPRO is the complete virus, and it does not produce the disease, although very defined deletions in one of the sub genomic coding segments of the virus transform it into a virulent form of the virus situation that has become a Damocles' sword over the system. Our Laboratory has taken molecular approaches in an attempt to better understand the biology, the life cycle and the aggressiveness of both agents. With that information in hand, we will be able to predict their corresponding virulence potential to generate efficient procedures to their control. For the bacteria, the purpose is to identify key pathogenicity markers in its pan genome. For the virus, studying its variability in the frame of the quasispecies, altogether with the identification of genetic markers associated with the switch from nonpathogenic to pathogenic variants. The strategies used for each of the two pathogens will be thoroughly discussed.

FONDECYT 1170342 - FIE V014



SMP20.3

In the horizon of prophylaxis: Innate immunity of salmonids

Luis Mercado¹. ⁽¹⁾ Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Innate immunity is the ancestral defense mechanism against pathogens in all organisms. The lower vertebrates possess a robust innate immunity and the structural components of an adaptive immunity that reaches its maximum organization in higher vertebrates. The functional characterization of the immune system in fish has just started to be described, without absence of difficulties due to the lack of molecular markers at the phenotypic level. We have focused in the study of teleost innate immunity in three aspects: i) recognition receptors (PRRs) of pathogen-associated molecular patterns; ii) activation of macrophages and intercellular crosstalk and iii) characterization of immune effectors. Regarding the receptors, we have characterized PRRs and evaluated their expression both *in vitro* and *in vivo*. This approach is a valuable tool to recognize receptors that are activated by specific pathogens, increasing the knowledge about the specific immune response against bacteria, virus or parasite. We have also characterized the activation of M1 macrophages (iNOS+) and the possible crosstalk with cytotoxic cells (NK). The obtained evidence could help to reinforce the innate cellular immune responses. Regarding immune effectors, we have focused on the characterization of antimicrobial peptides, particularly hepcidin and their potential use as an immune modulator to improve the immune response against specific pathogens. These three research lines have provided new tools such as molecular markers, specific antibodies and immunomodulatory molecules. They will be useful for the evaluation of functional processes in aquaculture and the development of collaborative research for a consolidated and diversified fish aquaculture in Chile.

Fondo de Inversión Estratégica. Ministerio de Economía. Chile 2015 V014. Programa de Gestión Sanitaria en Acuicultura - SERNAPESCA CÓDIGO No 201708070149

SMP21.1

Toxin dependent and independent factors that explain the increased virulence of epidemic strains of *Clostridium difficile*

Diana Lopez-Ureña¹, Carolina Castro-Peña¹, Carlos Quesada-Gómez¹, Cesar Rodríguez¹, **Esteban Chaves-Olarte¹**.

⁽¹⁾ Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Clostridium difficile induces antibiotic-associated diarrhea and pseudomembranous colitis due to the production of two toxins, toxin A (TcdA) and toxin B (TcdB). The epidemic strain NAP1/RT027/ST01 has been responsible for severe outbreaks worldwide and its increased virulence has been attributed to determinants such as increased production of toxins, enhanced sporulation and increased biological activity of toxin B. During a hospital outbreak in Costa Rica, 46 isolates were collected that belonged to different genotypes. Of those, the majority corresponded to two virulent strains, NAP1/RT027/ST01 and a previously undescribed NAPCR1/RT012/ST54 genotype. Both strains displayed a similar clinical picture in patients and behave similarly in virulence animal models being more aggressive than other co-circulating strains. Despite these similarities, the increased virulence of NAPCR1/RT012/ST54 strain is not explained by increased toxin production or the type of TcdB produced. We have analyzed the factors responsible for the increased virulence of both strains. In the mice ligated loop assay, the biological effects of TcdBNAP1 were significantly higher than TcdBVPI10463. Both toxins modified the same small GTPases, had similar kinetics of cellular intoxication and the autoprocessing was similar for both toxins. We speculated that the differences observed in the mice ligated loop model might originate from a distinct host receptor specificity. Using a variant TcdB (TcdBNAP1v) unable to glucosylate Rho but sharing the RBD sequence with TcdBNAP1 cellular receptors were blocked. TcdBNAP1v was able to block RhoA glucosylation by TcdBNAP1 but not by TcdBVPI10463 indicating that both toxin variants bind to different cell-surface receptors. In the case of the NAPCR1/RT012/ST54 strain, we explored the contribution of the exoproteome to the pathogenesis of the disease. By growing the bacteria in the presence of glucose the production of TcdA and TcdB was abolished. Using the mice ligated ileal loop model we determined that bacteria free supernatants containing toxins from NAP1/RT027/ST01 and NAPCR1/RT012/ST54 strains consistently produced more damage and pro-inflammatory response than other strains. When, toxin-depleted supernatants were used, only the NAPCR1/RT012/ST54 genotype produced a strong pro-inflammatory reaction. Thus, we have described two divergent strategies used by epidemic strains of *C. difficile* in order to increase their virulence.



SMP21.2

Efecto del tratamiento con antibióticos en la formación de células tipo persistentes de *Clostridium difficile*

Fernando Gil¹. ⁽¹⁾ Ciencias Biológicas, Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello

Una de las principales complicaciones de las infecciones por *Clostridium difficile* (ICD) es su alta tasa de recurrencia. Las esporas de *C. difficile*, resistentes a los antibióticos y la inmunidad del hospedero desempeñan un papel esencial en la ICD. La alteración de la microbiota contribuye a la germinación de las esporas de *C. difficile* y la colonización a través de mecanismos no completamente dilucidados. Además, existen mecanismos que contribuirían al rápido crecimiento de *C. difficile* después del tratamiento con antibióticos, y que deberían participar en la dinámica de las poblaciones de *C. difficile* para superar el efecto de los antibióticos y causar ICD o ICD recurrente. En este contexto, es posible que un cambio fenotípico asociado con la formación de *C. difficile* persistentes, tolerantes a los antibióticos, proporcione una ventaja en el crecimiento en comparación con la microbiota después del tratamiento con antibióticos. El objetivo de este trabajo es demostrar que las concentraciones letales de antibióticos inducen la aparición de células similares a persistentes en *C. difficile*. Las cepas silvestre y mutantes *spo0A* se analizaron para determinar la susceptibilidad a los antibióticos, mediante una prueba de microdilución en agar. *C. difficile* 630 y R20291 solo fueron sensibles para vancomicina. La generación de células persistentes se determinó para todas las cepas usando hasta 10X del MIC para cada antibiótico durante hasta 6 días. Brevemente, se cultivó en medio BHIS a 37 °C O.N en anaerobiosis y se trató con cada antibiótico, se tomaron alícuotas a varias horas hasta 6 días y se sembraron en agar-medio BHIS. Esto se repitió al menos 3 veces. Las persistentes se confirmaron mediante la determinación de MIC al final del experimento, que fue idéntico a la de las cepas parentales utilizadas inicialmente. En conclusión, pudimos inducir la formación de células tipo persistentes ya que se observaron curvas de muerte bifásicas en respuesta al tratamiento con antibióticos. Este trabajo proporciona, por primera vez, evidencia experimental de la aparición de células tipo persistentes de *C. difficile* abriendo una nueva investigación en la patogénesis de este patógeno nosocomial.

Millenium Nucleus Biology of Intestinal Microbiota, FONDECYT N°1171367



SMP21.3

Mecanismos de persistencia de esporas de *Clostridium difficile* y su contribución a las infecciones recurrentes

Daniel Paredes-Sabja¹. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello

El enteropatógeno nosocomial anaerobio y esporulado, *Clostridium difficile*, es el causante de las infecciones intrahospitalarias más frecuentes a nivel mundial. Las infecciones causadas por *C. difficile* afecta aproximadamente 25% de los pacientes hospitalizados que reciben tratamiento con antibióticos desarrolla una Infección por *C. difficile* (ICD) cuya tasa de mortalidad superan el 9% de los pacientes infectados. Durante la infección, *C. difficile* comienza un ciclo de esporulación con la subsecuente producción de nuevas esporas dormantes, las cuales persisten en el hospedero causando infecciones recurrentes. Sin embargo, el mecanismo de persistencia de las esporas de *C. difficile* que contribuye a la recurrencia de las ICD se desconoce. En este contexto, la capa superficial de esporas de *C. difficile*, el exosporium, interacciona con el microvilli de células epiteliales intestinales *in vitro*, sugiriendo que ésta estructura podría estar involucrado en la persistencia de esporas. En este contexto, hemos desarrollado una estrategia sistemática para estudiar: i) las propiedades de resistencia de las capas superficiales de las esporas de *C. difficile*; ii) la composición del exosporium de las esporas de *C. difficile*; iii) los mecanismos involucrados en el ensamblaje del exosporium; y iii) el rol de proteínas de superficie de esporas de *C. difficile* en su interacción con células epiteliales intestinales, persistencia de esporas *in vivo* e implicancia en la recurrencia de la infección.



SMP22.1

Ecological insights of bacteriophages living in aquatic microbial communities revealed by comparative (meta)genomic analysis

Roberto Orellana¹, Ricardo Valencia ², O'bryan Cardenas², Michael Seeger³. ⁽¹⁾ Facultad de Ciencias Naturales Exactas, Universidad de Playa Ancha de Ciencias de La Educación, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL. ⁽³⁾ Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL.

Bacteriophages, viruses infecting prokaryotic cells, are by far the most abundant and diverse organisms in the biosphere. Their overall relevance lies not only in its abundance, but also in the fact that they are capable of significantly modulating biogeochemical processes on a global scale. Indeed, it has been shown that phage-induced lysis accounts for the loss of 20-50% of bacterioplankton each day in the ocean. To date, most of our understanding of viral ecology comes from studies that have been focused on marine environments. However, there is still relatively little information on how phages interact with microbial communities associated with freshwater environments, such as ponds, rivers, lakes and estuaries, and many non-viral-enriched metagenomic-based studies are also available. With the advent of better and cheaper tools for molecular analysis, next-generation sequencing (NGS) technologies have broaden our capabilities to understanding of phage ecology and many computational methods have been already developed towards data mining of the fast-growing (meta)genomic datasets. Here, we present a global-scale analysis based on the detection and estimation of relative abundance (density per environment) and prevalence (presence per environment) of phages in a large set of available non-viral-enriched metagenomic samples (420) from aquatic biomes, including ocean samples (140), estuarine samples (140) and fresh-water samples (140). Our results shown that there is a correlation between relative abundance of a phage in a biome and its prevalence, that is, to be present in a greater number of samples, suggesting that the mechanisms that allow spreading, also provide adaptation to different environments. The identification and quantification of a virus in the environment leaves even a more relevant question unanswered: What is its host? Further integration of this data allowed us to generate environmental coabundance profiles capable to gain insights on phage–host interactions.

CONICYT/PAI 82140028 y CONICYT/PAI 79170091.

SMP22.2

Ecology and exploitation of plant-microbe interactions in urban areas

Andrea Franzetti¹, Gandolfi Isabella¹, Giuseppina Bestetti¹, Emilio Padoa Schioppa¹, Ermanno Federici², Cappelletti David M², Roberto Ambrosini³. ⁽¹⁾ Earth and Environmental Sciences, Earth and Environmental Sciences, Università di Milano Bicocca. ⁽²⁾ Dipartimento di Chimica, Biologia e Biotecnologie, University of Perugia, Perugia, IT. ⁽³⁾ Dept. Environmental Science and Policy, University of Milano, Milano, IT.

In this lecture the latest development of the ecology of phyllosphere microbes will be addressed with a special focus on the exploitation of their metabolic activities for reducing urban air pollution. The aerial parts of terrestrial plants, mainly leaves host huge amounts of bacteria. The planetary phyllosphere bacterial population has been estimated to be as large as 10²⁶ cells. Epiphytic bacteria, which primarily live on leaf surfaces, are directly positioned to the interface with the atmosphere. Thus, they are exposed to several detrimental factors such as UV radiation, desiccation, severe temperature changes and, especially in urban areas, atmospheric pollutants. For this reason, they are expected to have developed metabolic abilities towards atmospheric hydrocarbons and therefore to play a potential role in air bioremediation processes. Despite their continuous exchange with airborne populations, phyllospheric bacteria are not random assemblages but they rather form actual communities. In fact, some bacterial taxa are recurrently retrieved from leaf-associated habitats, leading to the hypothesis that, after recruitment, they undergo some selection processes. The main drivers shaping the community structure include host plant species, leaf age and physiology, season, geographical location, and environmental factors, such as solar radiation, humidity and nutrient availability. Plant-associated bacteria and fungi have been also investigated for their role in air pollution mitigation, especially in urban areas, by degrading atmospheric hydrocarbons. Approximately 15% of the strains isolated from different plant species were able to degrade naphthalene and/or phenanthrene in laboratory cultures. Culture independent approach by sequencing of 16S rRNA gene, Whole Metagenomics Sequencing and qPCR revealed that epiphytic taxonomic and functional profiles differed between host plant species and among seasons and that the microbial communities on the leaves harbored genes involved in the degradation of hydrocarbons. As expected, the highest pollutant concentrations in air and on leaves were observed in winter, and naphthalene was the most abundant one. Notably, the gene coding for naphthalene-1,2-dioxygenase, used as a marker for naphthalene-degrading microorganisms, was found at significantly higher abundance on winter leaves than on summer ones, suggesting that hydrocarbon-degrading microorganisms are selected on evergreen leaves when atmospheric pollutants are deposited at high concentration on leaves.

Istituto Nazionale Assicurazione contro gli Infortuni sul Lavoro, University of Milano Bicocca, Erasmus program



SMP22.3

Ecology and evolution of soil microbes in a warming world

Kristen DeAngelis¹. ⁽¹⁾ Microbiology, Biology, Universidad de Massachusetts Amherst.

Microbes are key drivers of biogeochemical cycling in terrestrial ecosystems, and inclusion of microbial dynamics can improve Earth system models. We investigate a long-term field warming experiment in a mid-latitude hardwood forest, Harvard Forest LTER located in central Massachusetts, where soils have been heated 5 degrees Celsius above ambient temperatures for 27 years. Using field, laboratory, and modeling experiments, our research addresses the questions: How does microbial evolution of bacterial traits versus shifts in dominant actors over time affect soil C cycling? How does diversity, soil moisture and temperature differently affect carbon use efficiency and soil C stability? How does physical versus biochemical protection of soil organic matter change over the course of long-term warming?



SMP23.1

Innate immunity and Zika virus host tropism

Adolfo Garcia-Sastre^{1,2,3}. ⁽¹⁾ Department of Microbiology, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, US

⁽²⁾ Department of Medicine, Division of Infectious Diseases, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, US

⁽³⁾ Global Health and Emerging Pathogens Institute, US.

Zika virus (ZIKV) is a mosquito, sexually, and vertically transmitted flavivirus that is known to infect and cause viremia and disease symptoms in humans and non-human primates. Progress toward understanding ZIKV pathogenesis has been hindered by lack of immunocompetent small animal models. Specifically, robust infection, replication and spread to peripheral organs associated with disease in humans, such as the CNS, testicles, and during pregnancy, of placenta and fetuses, after subcutaneous infection can only be achieved in immunocompromised mice lacking the ability to mount an antiviral IFN response. This is also the case for the dengue (DENV) and yellow fever (YFV) viruses, but not for West Nile virus (WNV), also members of the Flaviviridae family. Interestingly, ZIKV, DENV and YFV counteract IFN signaling by targeting STAT2 for inhibition in humans, but not in mice, suggesting that a lack of inhibition of the type I IFN antiviral response might be at least partially responsible for the natural resistance to infection of mice by these flaviviruses. Consistent with this concept, WNV inhibits IFN signaling both in humans and in mice. We identified the NS5 proteins of ZIKV, DENV and YFV as responsible for human STAT2 inhibition, albeit using different mechanisms. Importantly, by combining the use of genetically modified mice in which mouse STAT2 was replaced by human STAT2 with a ZIKV containing a single point mutation that increases its replication in immunocompromised mice, we were able to recapitulate infection and disease in an immunocompetent mouse model. Our results demonstrate that the inability to counteract type I IFN signaling represent an important host barrier for ZIKV. Moreover, our developed immunocompetent mouse model of ZIKV infection may prove valuable for evaluating countermeasures to limit disease.

Presentation funded by Anillo PIA ACT 1408 and FONDECYT 1161791 from CONICYT



SMP23.2

Hantavirus and other emerging zoonotic viruses in Brazil

Luiz Tadeu Moraes Figueiredo^{1, (1)} Virology Research Center, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, University of São Paulo, São Paulo, BR.

I will present the situation of Hantavirus Cardiopulmonary syndrome in Brazil, and the recent finding of human pathogenic hantavirus infecting bats focusing on the role of these animals in the maintenance cycle of hantavirus. Considering that arenaviruses occur in Brazil as rare cause of severe human haemorrhagic fever, I will inform on Brazilian sylvatic small rodents infected with the Oliveros virus and also with Pinhal virus that produces human disease. In the last 3 years (2015-2018), yellow fever in a sylvatic cycle involving primates has reached the Southeastern more populated areas of Brazil including neighboring places of Sao Paulo City. This yellow fever outbreak has caused thousands of cases and hundreds of deaths. I will show aspects of treatment of patients with yellow fever and on the vaccination campaign against this virus.

Presentation funded by Anillo PIA ACT 1408 and FONDECYT 1161197 from CONICYT



SMP23.3

The evolution of viral emergence

Holmes Edward C. ¹. ⁽¹⁾ Marie Bashir Institute for Infectious Disease and Biosecurity, Charles Perkins Centre, School of Life & Environmental Sciences and Sydney Medical School, The University of Sydney, Sydney, AU

RNA viruses are of great biological importance because of their role as agents of disease and their presumed similarity to some of the earliest replicating molecules. In addition, most viral infections of humans have their origins in other animal species. In the first part of my talk I will show how virology is entering a new discovery phase. In particular, bulk RNA shotgun sequencing – meta-transcriptomics – provides a uniquely powerful means to rapidly reveal the microbial composition of any sample without bias, with major implications for the diagnostic sciences. Metagenomic techniques also provide important new information on the composition of the virosphere, the fundamental patterns and mechanisms of virus evolution, and are able to determine disease agents on clinically actionable time-scales. I will demonstrate the utility of meta-transcriptomics for pathogen discovery using a variety of disease syndromes, both bacterial and viral, from humans and other animals, and for revealing key aspects of the diversity and evolution of the virosphere. In the second part of my talk I will examine how viruses emerge in new hosts and how virulence might evolve following a host jump. Mathematical models suggest that when viruses like HIV or avian influenza jump into human populations, evolution in the subsequent epidemic(s) can make the disease more harmful or less harmful depending on the biological particulars. I will examine the canonical case study of the evolution of virulence – the attenuation of myxoma virus following its introduction as a biological control into the European rabbit populations of Australia and Europe. I will use comparative genomics on archived isolates to determine the molecular changes that underpin the virulence evolution seen in the two epidemics, making general conclusions about the evolution of pathogen emergence and virulence.

Presentation funded by Anillo PIA ACT 1408 from CONICYT



SMP24.1

Distribution and diversity of *Mycobacterium bovis* in Chile

Ana María Zárraga¹, Alvaro Figueroa², Marcos Mancilla³, Carla Noli⁴, Yhanella Pacheco⁴, Paulina Zurita⁵, Carla Rosenfeld⁶. ⁽¹⁾ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽²⁾ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽³⁾ Laboratorio de Investigación y Desarrollo, ADL diagnostic Chile, Puerto Montt, CL. ⁽⁴⁾ Laboratorio Regional Osorno, Unidad Laboratorio Pecuario, Servicio Agrícola y Ganadero, Osorno, CL. ⁽⁵⁾ Departamento Laboratorios, Servicio Agrícola y Ganadero, Estación Lo Aguirre, Santiago, CL. ⁽⁶⁾ Instituto de Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL.

Bovine tuberculosis (BTB) causes significant losses in affected countries and exposes humans to zoonoses infection. In 2012, Chile initiated the official control, prevention and eradication program for BTB. This work shows the distribution of the genetic variants of *Mycobacterium bovis* isolated from animals of different regions of Chile, positive for PPD, positive for BTB in culture and real-time PCR specific for *M. bovis*. The study included 640 herds and 1427 georeferenced strains, along with strains obtained from other animal and human species. The results showed SB0140 as the most frequent spoligotype (75%), followed by SB1186, SB0978, SB0990 and SB1809. Strains SB0140 were also isolated from pig samples, suggesting a clonal expansion and the ability of crossing species barrier for this type. Interestingly, the *M. bovis* SB0920, SB0269 and SB1072 types were isolated from patients misdiagnosed with *Mycobacterium tuberculosis*. The varied geographical distribution of the spoligotypes is in agreement with the high mobility of the animals between the different regions of the country, before the implementation of the national, official Program. The combined use of spoligotyping and VNTR showed greater heterogeneity of genotypes. The ETR-A and QUB-18 markers showed the greatest discriminatory power. This study is the first record of the diversity of genotypes of *M. bovis* prevalent in the country, which should be expanded to be used as a tool for the identification of foci of infection, outbreaks and routes of dissemination of *M. bovis*, necessary to implement an effective surveillance, control and eradication program for BTB.

FONDOSAG C5-100-10-23, Corfo12IDL2- 12974, Proyecto BoviMan™ UACH



SMP24.2

Development of blood and skin test based DIVA tests for cattle to distinguish BCG vaccinated from infection cattle

Martin Vordermeier¹, Jones Gareth J.¹, Timm Konold¹, Sabine Steinbach¹, Michael Coad¹, Thomas Holder¹, Hewinson R. Glyn¹. ⁽¹⁾ Department of Bacteriology, Animal and Plant Health Agency, Addlestone, GB.

Bovine tuberculosis, mostly caused by *Mycobacterium bovis*, but also by other pathogens' of the *M. tuberculosis* complex, remains a major and intractable livestock disease with enormous economic, animal welfare and zoonotic importance whose impact is in some countries exacerbated by the presence of wildlife reservoirs. Vaccination of cattle is being considered as additional tool to control this disease. At present the only potentially applicable cattle vaccine is bacilli Calmette Guerin (BCG), the human TB vaccine. Considerable effort has been made to characterise its efficacy and safety parameters in cattle, including field experiments and trials. BCG efficacy is variable at population and individual animal levels and BCG vaccination also causes false-positive reactions to the standard surveillance testes based on tuberculin PPD. Thus, if one would desire to continue with conventional test and slaughter control strategies alongside vaccination, the development of BCG-compatible diagnostic tests is necessary to distinguish infected from vaccinated animals (DIVA). Along with other researchers worldwide, our group has been involved in the development of such DIVA reagents for a number of years. We have developed prototype reagents based on three *M. bovis* antigens, ESAT-6, CFP-10, and Rv3615c, which exhibit DIVA properties. These reagents, originally developed for use in interferon-gamma release assays (IGRA), are now being developed into potent skin test reagents as this test format can easier be adapted to satisfy the stringent specificity targets required. I will present recent data on the development and evaluation of these blood and skin test DIVA reagents, in particular, recent development of a triple (ESAT-6, CFP-10, Rv3615c) fusion protein optimised for application in the skin test. These recent data confirmed the high specificity of this skin test reagent with a sensitivity comparable to standard tuberculin PPD testing. However, larger field trials will be required to fully characterise its performance characteristics. I will also present data on novel blood test that can enhance the sensitivity of current IGRA test formats.

Animal and Plant Health Agency Weybridge, United Kingdom

SMP24.3

Vaccination of cattle with *Mycobacterium bovis* BCG for the prevention of bovine tuberculosis: The Chilean experience

Patricio Retamal¹, Karina Saadi¹, Nicolás Valdivieso², Pedro Ábalos¹. ⁽¹⁾ Medicina Preventiva Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Sanidad Animal, Servicio Agrícola y Ganadero, Santiago, CL.

Bovine tuberculosis (bTB) is a zoonotic disease caused by *Mycobacterium bovis*, which is globally distributed and generates economic losses and public health concern, especially in developing countries. To reduce the sanitary and economic impact of bovine tuberculosis in dairy cattle, vaccination appears as a complementary tool that would facilitate the disease control and eradication. Although several antigens and products have been developed as immunogens, the unique product with manufacturing standards and safety data is the *M. bovis* BCG strain, becoming as the most probable vaccine candidate for animal use in the immediate future. The BCG strain, which is currently used to prevent the human tuberculosis, can interfere with the diagnosis of infection in cattle, reason by what no country has officially approved its use in animals. Since 2016, a collaborative work has been developed between the University of Chile and Servicio Agrícola y Ganadero to determine the efficacy of BCG strain in cattle, thorough the vaccination of calves up to 40 days old, in several dairy farms from the Metropolitan Region, Chile. A double-blind, placebo controlled, randomized study has been implemented in dairy herds with historical data of high bTB prevalence, totalizing 600 BCG and 600 placebo inoculated animals. Once inoculated, bTB has been diagnosed each 6 months by whole-blood sampling of animals and the Interferon gamma release assay (IGRA) using specific antigens of virulent *M. bovis* strains (CFP-10, ESAT-6 and Rv3615). Preliminary results suggest 70% and 61% of efficacy at 6 and 12 months post-inoculation, respectively. Besides, mortality rates are lower in the vaccinated than non-vaccinated group, suggesting a non-specific protective response induced by BCG vaccination in calves. These results confirm that vaccination of calves with *M. bovis* BCG strain generates a significant protection of animals during the first year post-inoculation, in agreement with previous studies made under experimental conditions, supporting its implementation as an alternative sanitary tool, especially in herds with high bTB prevalence.

We thank to Convenio BCG FAVET-SAG for funding support, and Dr. Martin Vordermeier for kindly assist with the Rv3615 antigen.



Miércoles 14 de Noviembre 2018

POSTERS

MI001

Modulation of regulatory B cells and T cells through activation of iNKT cells with glycolipids encapsulated into liposomes

Richard García-Betancourt^{1,2}, Carreño Leandro J^{1,2}. ⁽¹⁾ Programa de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Natural Killer T (NKT) cells are a specialized T lymphocyte subset that express $\alpha\beta$ -T cell receptors together with receptors associated with natural killer cells. One of the key features of NKT cells is their ability to produce very large amounts of pro- and anti-inflammatory cytokines. Invariant NKT (iNKT) cells are a subset of NKT involved in the enhancement of antitumor immunity, protection against infections, and regulation of autoimmunity. The administration of α -galactosylceramide (α -GalCer), the prototypical iNKT cell glycolipid agonist, has been shown to suppress the development of autoimmunity in mice. Whether iNKT cell contributes to develop a tolerogenic response still remains poorly understood, being some evidence suggesting a crosstalk between regulatory cells and iNKT cells and, when they are activated by α -GalCer. Since iNKT cells can be differentially activated by α -GalCer analogs, it is highly important to address whether this differential activation can influence the crosstalk between iNKT cells and regulatory immune cells. In this work, we studied the activation of iNKT cells with different α -GalCer analogues and evaluated whether they modulate the responses of regulatory B cells and T cells (Bregs and Tregs), by using a partially humanized mouse model (hCD1d-Knock-in mouse) that displays similar frequencies and phenotype of iNKT cells compared to humans. We used different α -GalCer analogues (KRN7000, 7DW8-5 and α -GalCer C20: 2), contained into liposomes. The iNKT cell activation was analyzed by multiparametric flow cytometry, in which we determined the levels of different cytokines (IFN- γ , IL-4, IL-10, IL-13) in splenic iNKT cells from α -GalCer analogues- or vehicle-treated mice, as well as the induction of Breg and Treg cells. Our results show that anti-inflammatory activation of iNKT cells significantly induces functional Breg and Treg cells.

FONDECYT 1160336, Millennium Institute of Immunology and Immunotherapy P09/016-F, Copec-UC 2017.J.924 and CONICYT-PFCHA/Doctorado Nacional/2017-21170084 to R.G.



MI002

Identification of components of the unfolded protein response (UPR) in human DC progenitors

Paulina García-González¹, Diane Gutiérrez², Mauro Parra-Cordero², Fabiola Osorio¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Inmunología y Estrés Celular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Unidad Medicina Materno Fetal, Departamento de Obstetricia y Ginecología, Hospital Clínico Universidad de Chile, Santiago, CL.

Dendritic cells (DCs) are professional antigen presenting cells of the immune system, which depending on antigen nature and the local environment, can initiate and maintain pro-inflammatory or tolerogenic responses through the modulation of T cell populations. The ability to modulate immune responses makes DCs targets of study for therapeutic purposes in different inflammatory settings and therefore, the mechanisms of DC differentiation, function and homeostasis are of great interest. DCs differentiate from a common myeloid hematopoietic precursor from which two main populations can be identified: plasmacytoid DCs (pDCs) and conventional DCs (cDCs), the latter which can be further divided into two subgroups: cDC1 and cDC2, each DC type associated with different functions. A fundamental cellular process for DC function and differentiation is the unfolded protein response (UPR), an integrated mechanism of signal transduction which main role is the restoration of protein homeostasis and ER biogenesis. DCs appear to be key targets of the UPR in terms of survival and function, however, most knowledge regarding DC homeostasis and function, as well as the interplay between DCs and ER stress, has been obtained from murine models, and thus, translation of results gained from murine DCs into human DCs is much needed. Our aim is to pinpoint the UPR components that are activated in different human DCs subsets as well as human DC progenitors, and to identify the role and relevance of these factors in DC differentiation and function. To achieve this, we have designed a multiparametric flow cytometry panel to identify DC progenitors-MDP (Monocyte and DC progenitor), CDP (Common DC progenitor)- as well as plasmacytoid DCs (pDCs), cDC precursors (pre-cDC) and cDCs subtypes 1 (cDC1) and 2 (cDC2) in human mononuclear cells isolated from umbilical cord blood. Once identified, these cell subsets will be sorted to obtain RNA for further analysis of gene expression of different components from all three UPR branches through real time PCR. Results from this work will contribute to the understanding of the role of ER stress responses to human DC biology and differentiation, which could be of great use when considering the development of DC-based therapeutic approaches.

Howard Hughes Medical Institute Project #55008744



MI003

The role of the IRE1a/XBP1 axis in the dendritic cell development from hematopoietic progenitors

Antonia Geisse¹, Dominique Fernández¹, Osorio Fabiola B.¹. ⁽¹⁾Laboratorio de Inmunología y Estrés Celular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

The dendritic cells (DC) are the sentinels of the immune system that are fundamental to initiate the adaptive immune response. DCs arise from a common progenitor present in the bone marrow called 'macrophage-dendritic cell progenitor', which differentiates into a cMoP (a precursor of monocytes) or into CDP, the 'common dendritic cell precursor', that is committed towards the dendritic lineage. After this differentiation process, the CDP will give rise to Pre-cDC1 or Pre-cDC2, which exits the bone marrow and constitute the immediate precursors of terminally developed cDC1 and cDC2 in tissues. The unfolded protein response (UPR) is a mechanism responsible to maintain the endoplasmic reticulum (RE) homeostasis. This adaptive response is coordinated by three ER membrane-resident sensors: the kinase/endonuclease IRE1a, the kinase PERK and the sensor ATF6. Remarkably, it has been reported that XBP1s deficient mice, a transcription factor downstream IRE1a, display a marked loss of cDCs and pDCs *in vitro* and *in vivo*. This implies that the IRE1a plays a key role in DC homeostasis and development. Nevertheless, the contribution of the UPR to DC development is still poorly understood. In this project we aim to determine the activation state of IRE1a/XBP1 axis at different stages of DC development, to establish how the IRE1 α pathway affects the differentiation of dendritic cells throughout their different stages. For this purpose, we have used a reporter mouse for monitoring the splicing of *Xbp1* and have identified the basal activity of IRE1a endonuclease in DC precursors. Our data indicates that the cells at the stage of the MDP have the most prominent XBP1s signal compared to cells in different differentiation stages. Ongoing work aims to isolate DC precursors by cell sorting, to quantify the gene signature associated with activation of the IRE1a/XBP1s signature, and evaluate the dependence of this pathway in DC development.

Howard Hughes Medical Institute #55008744, FONDECYT 1161212



MI004

A new melanoma vaccine based on conditioned tumor cell lysates potentiates anti PD1 treatment and inhibits tumor growth

Maria Alejandra Gleisner^{1,2}, Ignacio Avalos^{3,2}, Fabian Tempio^{3,2}, Mariela Navarrete^{3,2}, Cristian Pereda^{4,1}, Andres Tittarelli^{3,2}, Mercedes Lopez^{2,3}, Fermin Gonzalez^{4,1}, Flavio Salazar-Onfray^{3,2}. ⁽¹⁾ Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Universidad de Chile. ⁽²⁾ Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Programa de Inmunología, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Clinical strategies using immune-checkpoint blockers, such as anti-CTLA4, (Ipilimumab) or anti-PD1 antibodies (Nivolumab), have recently demonstrated durable survival benefits in patients with melanoma and other solid tumors. Nevertheless, an important percentage of patients treated with anti-checkpoint antibodies remain refractory, suggesting that combination with other kind of active immunization may impact responses rate. In this context, cancer vaccines become again a complementary alternative as cancer treatment. The optimal delivery of antigens (Ags) and the use of adequate adjuvants are crucial for vaccine success. Here, a prototype of a generic therapeutic vaccine for the treatment of malignant melanoma named TRIMELVax™ was tested in an experimental model. This vaccine is based on conditioned melanoma allogeneic tumor lysates (TRIMEL) combined with a specific adjuvant already used in patients in the context of a DC vaccine, without adverse effects. The vaccine is intended to directly activate the immune response against tumor *in vivo*, inhibiting its growth. TRIMELVax was evaluated, in terms of safety and efficacy at pre-clinical level, in C57Bl/6 murine model of melanoma (B16). In short, immunocompetent mice was vaccinated with three doses of TRIMELVax, and then challenged with B16 melanoma cells. Alternative, immunization was also tested therapeutically in tumor bearing mice. Our results showed that only TRIMELVax was capable to reduce drastically the occurrence of tumor, inhibiting tumor growth in immunized mice. In contrast the separated use of tumor lysate, or adjuvant did not impact tumor growth. This response was associated to CD8+ T cells mediated immune response and antibody production. Anti-PD1 therapy were strongly potentiated by the combination with TRIMELVax in immunocompetent mice, which encourage testing of the combined treatment in future clinical trials.

Financed by grants FONDECYT 1171213; FONDECYT postdoctorado 3170917; FONDEF ID16I10148 and MIII P09/016-F

MI005

Flagelina recombinante de *Vibrio anguillarum* y péptidos derivados de su dominio D1 modulan la expresión de citoquinas en *Salmo salar*

Roxana González-Stegmaier¹, Alex Romero^{2,4}, Isabel Aguirre-Gil², Franz Villarroel-Espíndola³, Ricardo Enríquez², Jaime Figueroa^{4,1}. ⁽¹⁾ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽²⁾ Instituto de Patología Animal, Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽³⁾ Department of Pathology, School of Medicine, Yale University, New Haven, US. ⁽⁴⁾ Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Centro FONDAP.

Flagelina es el principal componente del flagelo de bacterias Gram positivas y Gram negativas, y el ligando que activa el receptor tipo Toll 5 (TLR5) en mamíferos y peces. En vertebrados superiores, la activación de TLR5 de membrana (TLR5M) por flagelina, promueve la expresión de citoquinas pro-inflamatorias y quimioquinas. Previamente, demostramos que flagelina recombinante (rFLA) de *Vibrio anguillarum* y péptidos derivados del dominio D1 de esta proteína (rND1, 518) promueven la sobre-expresión de los principales mediadores proinflamatorios en macrófagos de *Sparus aurata* y *Oncorhynchus mykiss*. En este trabajo, se propuso verificar la capacidad inmunomoduladora *in vivo* de rFLA, rND1 y del péptido 518 en *Salmo salar*. Para ello, se evaluó la inducción *in vitro* de citoquinas en células SHK-1 y en leucocitos aislados de riñón anterior (HKL), y mediante ensayos *in vivo*, se determinó la dosis efectiva de cada molécula. Los resultados de qPCR para IL-8 e IL-1b en ensayos *in vitro*, muestran que rFLA y los péptidos derivados del dominio D1 incrementan la expresión de ambos transcritos 6-8 veces y 1.2-1.3 veces, respectivamente. Respecto a los ensayos *in vivo*, la expresión de los transcritos fue determinada en riñón anterior a las 4, 24 y 72 horas posteriores a la inyección intraperitoneal con 5 µg rFLA o 15 µg de cada péptido por pez. Los resultados indican que todas las moléculas inducen una respuesta pro-inflamatoria aguda y dependiente del tiempo. A las 4h post-inyección, todas las moléculas generaron un incremento en la expresión de IL-1b, alcanzando una de ellas hasta 25 veces sobre el control con PBS y disminuyendo sus niveles progresivamente. Por otra parte, IL-8 fue inducida 13 veces sobre el nivel basal usando rFLA y rND1, y 3 veces usando el péptido 518 a las 4h. Después de 24 horas los niveles de transcritos fueron indetectables. Todos los resultados demuestran que rFLA, rND1 y el péptido 518 modulan la expresión de citoquinas, resaltando su potencial como candidatos para ser usados como inmunoestimulantes o adyuvantes de vacunas en salmones de cultivo.

FONDECYT Postdoctoral 3170356, FONDECYT 1171357.



MI006

Induction of Th1 or Th2-biased cytokine production by stimulation of NKT cells through glycolipids-containing liposomes

Cristián Gutiérrez^{2,1}, Richard García^{2,1}, Pablo Palacios^{2,1}, Leandro Carreño^{2,1}. ⁽¹⁾ Programa de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

It has been extensively shown that the T cell subpopulation corresponding to invariant natural killer T (iNKT) cells have remarkable immunomodulatory properties when activated by glycolipid antigens presented by the CD1d molecule. Once activated, iNKT cells rapidly produce large amounts of pro- and anti-inflammatory cytokines, which can modulate the responses of both innate and adaptive immunity. Thus, the glycolipid-mediated activation of iNKT cells has been of great interest for its immunotherapeutic potential. In this work, we have generated artificial liposomes containing iNKT-activating glycolipids through thin-film hydration followed by extrusion method. These liposomes were able to elicit a potent dendritic cell-induced NKT cell activation *in vitro*. Furthermore, we evaluated the cytokine signature induced by these glycolipid-containing liposomes *in vivo* through intravenous injection using a partially humanized mouse model, the human-CD1d-Knock-in mouse (hCD1d-KI), in which the features of NKT cells are similar to humans. In addition, we determined that liposomes were efficient in the prevention of induction of NKT cell anergy that is frequently induced after treatment with free lipids. We are currently assessing the toxicological features of the liposomes through hepatic injury and the potential use of antigen-loaded glycolipid-containing liposomes in the generation of antigen-specific immune response.

FONDECYT 1160336 and Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy P09/016-F.



MI007

Tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes displaying a resident memory phenotype in renal cell carcinoma patients

Sofia Hidalgo¹, Ernesto López¹, Luis Alarcón², Vincenzo Borgna^{2,1}, Alvaro Lladser¹. ⁽¹⁾Laboratorio Inmunoterapia Génica, Fundación Ciencia & Vida, Santiago, CL. ⁽²⁾Servicio de Urología, Hospital Barros Luco Trudeau, Santiago, CL.

Tissue-resident memory CD8+ T (Trm) cells are a newly described subset of memory cells and are characterized by the expression of CD69 and CD103. The presence of tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes (TILs) displaying a tissue-resident memory phenotype has been associated with a more favorable prognosis in patients with ovarian, endometrial, cervical, bladder, lung and skin cancers. However, the presence of resident memory TILs in patients with renal cancer (RCC) has not been reported. We analyze by multiparametric flow cytometry the phenotype of CD8+ T cells in freshly resected tumor and healthy renal tissue from RCC patients. Our data revealed high frequencies of a population of memory CD8+ T cells co-expressing CD69 and CD103 in both tumor and healthy tissues. However, we found higher numbers of Trm cells infiltrating tumors compared to the healthy tissue, suggesting that these cells are enriched inside tumors. Interestingly, in most of RCC samples, CD69+CD103+ CD8+ T cells also expressed CD49a, a novel marker used to define residency and cytotoxicity. We also found that Trm cells had a tumor-reactive phenotype characterized by the high expression of the immune-modulatory receptors PD-1, 41BB and CD27 compared to non-Trm cells. These data evidence the presence of TILs displaying a resident memory phenotype in RCC tumors.

CONICYT AFB 170004, FONDECYT-11171703, and CONICYT fellowship.

MI008

Functional alterations in the thymus of the systemic lupus erythematosus murine model NZBWF1

Yessia Hidalgo¹, Sarah Núñez², María José Fuenzalida^{1,3}, Mario Rosemblatt^{1,2,4}, Daniela Sauma¹, María Rosa Bono¹.

⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Inmunología Celular y Molecular, Fundación Ciencia & Vida, Santiago, CL. ⁽³⁾ Centro de Citometría de Flujo, Fundación Ciencia & Vida, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Introduction: Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease characterized by the activation of autoreactive T and B cells, autoantibody production and immune complex deposition in the organs. Although the presence of B cells in the thymus is associated with autoimmune disorders such as myasthenia gravis, the contribution of thymic B cells in the development of lupus is not fully understood. **Materials and Methods:** We analyzed thymic T and B cells populations from mice susceptible to development lupus (NZBWF1) by flow cytometry and confocal microscopy compared to healthy age-matched (Balb/cxNZW)F1 mice. Also, we determined the capacity of B cells to induce differentiation on CD4+ thymocytes and whether differentiated follicular T helper cells (TFH) from thymus have the capacity to activate B cells from thymus *in vitro*. Finally, we evaluated whether these B cells differentiated into autoantibody-secreting cells by ELISPOT. **Results:** During the development of the disease there is a dramatic reduction in the percentage and number of double positive T cells, and an increase in CD4+ (single positive) T cells. These CD4+ T cells from thymus of diseased-BWF1 mice show an antigen-experienced (CD44+) phenotype and a fraction represent follicular T helper cells (TFH). In parallel, we observed an increase in the frequency and absolute number of B cells and plasma cells in the thymus of diseased-BWF1 mice compared to healthy mice. Remarkably, thymic B cells are proliferating as assessed by Ki-67 staining and were clustered in structures resembling germinal centers. In addition, a fraction of the thymic antibody-secreting cells from diseased-BWF1 secrete anti-DNA autoantibodies. Interestingly, thymic B cells from autoimmune mice exhibit a higher capacity to induce the differentiation of CD4+ thymocytes into TFH than B cells from healthy mice. **Conclusions:** Altogether our data suggests that B cells in the thymus of autoimmune diseased-BWF1 mice could participate in the expansion of TFH in this organ, which may in turn promote the activation and differentiation of B cells into autoreactive plasma cells. In brief, our results present novel findings that suggest that the thymus constitutes a niche that promotes the maintenance of the humoral response in the development of SLE.

FONDECYT-1140431, FONDECYT-1180385, CONICYT/FONDEQUIP/EQM-114137 and AFB-170004.

MI009

Cx43-mediated Gap junctions intercellular communications participate in cytotoxic immunological synapse enabling tumor killing by CTL

Francisca Hofmann^{1,2}, Javiera Alvarez^{1,2}, Mariela Navarrete^{1,2}, Ma. Alejandra Gleisner^{1,2}, Andrés Tittarelli^{1,2}, Flavio Salazar-Onfray^{1,2}. ⁽¹⁾ ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Inmunología e Inmunoterapia, Instituto Milenio.

Development of antitumor immune responses require communication between different immune cells, and specific immune recognition of tumor cells. Upon tumor cell recognition, CD8+ cytotoxic T lymphocytes (CTLs) and natural killer (NK) cells form the “Cytotoxic Immunological Synapse (CIS)”, a specialized molecular structure fundamental for the polarized delivery of cytotoxic granules and the specific tumor cell killing. Recently, it has been described the participation of Gap Junction Intercellular Communications formed by Connexin 43 (GJIC-Cx43) in the NK cell CIS activity. Despite that CTLs and NK cells present functional and structural similarities in CIS formation, the participation of GJIC-Cx43 in CTL-mediated CIS remains unclear. In this work we have studied the role of GJIC-Cx43 in the activity of CIS formed between CTLs from pMEL-1 mice and B16F10 murine melanoma cells. First, we evaluated by immunofluorescence the polarization of Cx43 to contact site between CTLs and B16F10 during CIS. We found that this protein localizes at the contact site of CIS and this polarization dependent on activation of CTL and is an antigenic-specific process. Then, we decrease Cx43 expression in B16F10 cells using an interference RNA against Cx43 (siRNACx43-B16F10) and we evaluated the participation of Cx43 in the formation of functional Gap Junction channels by Calcein-AM transfer assay and in the cytotoxic activity of CTLs by granzyme B activity assay. We found that CTLs transfer Calcein to B16F10 forming functional Gap Junctions in contrast with when we used a naïve CD8+ T cells as an effector cells. In addition, when siRNACx43-B16F10 are used as a target cells, we observed a decrease in Calcein transfer and granzyme B activity in comparison to the control, indicating that GJIC-Cx43 are formed between CTL and B16F10, and suggesting that their formation is important for tumor cells-killing by CTLs during CIS.

FONDECYT 1171213; FONDEF ID16I10148 and MIII P09/016-F.



MI010

Ecm29 controls antigen processing and presentation in B cells by modulating the subcellular localization of the proteasome during Immune synapse formation

Jorge Ibanez¹, Felipe Del Valle¹, Juan-Jose Saez¹, Andrea Soza², Maria-Isabel Yuseff¹. ⁽¹⁾ Biología Celular y Molecular, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, SANTIAGO, CL. ⁽²⁾ Centro de Biología celular y biomedicina, Medicina, Universidad San Sebastián, SANTIAGO, CL.

Activation of B cells by antigens tethered to the surface of antigen presenting cells, leads to the formation of a tight cell to cell interaction termed immune synapse (IS). At the IS, antigens are extracted and further internalized for processing into peptides, which are mounted onto Major Histocompatibility Complex II to be presented to T lymphocytes. B cells rely on the establishment of a polarized phenotype, where Cdc42, aPKC and Par3, regulate actin remodelling and centrosome polarization to promote lysosomes recruitment to the IS, to facilitate the antigen extraction. In neurons, the proteasome is mobilized by Ecm29 across microtubules, to regulate local actin and microtubule remodelling, thereby promoting growth of the axonal cone. Considering that there is dynamic actin remodelling at the IS, we asked whether proteasome localization regulates this process to control immune synapse formation and consequently impacts antigen extraction. To answer this question, we silenced Ecm29 in a B cell line (IIA1.6) activated with immobilized antigens on beads or surfaces, and evaluated IS formation and function. Localization of the proteasome and other components was analysed by immunofluorescence. The centrosome was isolated by ultra-centrifugation in sucrose gradients, measuring its composition by immunoblot. Antigen extraction assays were performed by quantifying the amount of antigen remaining at the bead after activation. Antigen presentation by B cells was quantified by their capacity to activate T cells in a co-culture assay. Our results show that the proteasome and Ecm29 have a major centrosomal localization and are recruited to the boundaries of the IS after activation. Silencing Ecm29 reduces the mobility of the proteasome and reduces its accumulation at the centrosome, which leads to extensive spreading at the IS interface. Counter intuitively, this increase in the IS area did not result in a higher capacity of B cells to extract and present antigen. In conclusion, our results reveal that Ecm29 controls the motility and localization of the proteasome, thereby coordinating the architecture of IS and then the capacity of B cells to extract and present antigens.

Beca Doctorado Nacional CONICYT, Proyecto FONDECY 1180900, CARE (Center of Aging and Regeneration)



MI011

Alpinone exhibited immunomodulatory activities in Atlantic salmon

Daniela Espinoza¹, Beatriz Valenzuela¹, **Monica Imarai**², Brenda Modak¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Química de Productos Naturales, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Inmunología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL.

In recent years, the aquaculture industry in Chile has suffered great economic losses, due to the increase in presence of intracellular pathogens that cause a high mortality in salmonid cultures. Among the most important diseases for aquaculture, are those caused by viral pathogens, such as Infectious Pancreatic Necrosis Virus (IPNV) and Infectious Salmon Anemia Virus (ISAV). These viruses are responsible for affecting the production of the main salmonid species in Chile, such as rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Although commercial vaccines have been developed during the last years which reduce considerably the mortality of fish due to viral diseases, these are not effective in preventing fish from being infected. Therefore, it is necessary to identify new compounds that can modulate the innate antiviral immune response in salmonids, and used it as a measure of prophylactic control against viral diseases. This work evaluated genes of the innate antiviral immune response, modulated by the flavonoid alpinone isolated from plants of the genus *Heliotropium*. Firstly, it was evaluated *in vivo* the ability of the flavonoid alpinone to induce transcript levels of the IFN α antiviral cytokine in Atlantic salmon fish. Alpinone were administered intramuscularly to Atlantic salmon, after the treatment, the levels of IFN α transcripts were analyzed for Real Time PCR. The results showed that alpinone significantly increases the levels of transcripts of IFN α in the kidney of salmon, suggesting that this compound could induce an antiviral state in salmonids. In relationship to these results, we evaluate the levels of transcripts of key genes involved in the innate antiviral immune response in primary culture of the anterior kidney of Atlantic salmon for Real Time PCR. The results showed that the flavonoid alpinone increases mRNA levels of the transcription factor IRF-3, the MDA-5 and RIG-1 receptors, the cytokine IFN- α and the antiviral protein Mx. In conclusion, the results suggest that the flavonoid alpinone induces the activation of the innate antiviral immune response *in vitro* and *in vivo*. This flavonoid is a potential candidate to be used as an antiviral agent for the treatment of diseases in salmonid.

Proyecto FONDECYT N°11170984, Proyecto FONDECYT N°1180265



MI012

Induction of Autophagy in B Cells decreases their capacity to extract and present extracellular antigens

Jonathan Lagos^{2,1}, Jorge Ibañez¹, Juan José Sáez¹, Silvana Zanlungo², María Isabel Yuseff¹. ⁽¹⁾ Biología Celular y Molecular, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Gastroenterología, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

Antigen presentation by B cells is a highly regulated process, which requires the formation of an immunological synapse (IS), where antigens are extracted and processed. In B cells, synapse formation is associated to a polarized phenotype established by the recruitment of the centrosome and lysosomes to the IS upon B cell receptor (BCR) engagement. Interestingly, antigen encounter changes the autophagic flux, which in turn, can modify the nature of antigen processing. Thus, changes in the environment that modify autophagic flux such as the lack of amino acids could have an impact on the ability of B cells process antigens at the IS. In this work, we addressed this hypothesis and determined whether starvation can have an impact on antigen presentation by B cells. We used a B lymphoma cell line, which was incubated with a low nutrient medium or Torin 1 (a mTOR inhibitor) to induce autophagy. Autophagy was evaluated by levels of LC3-II and P62 by western blot. The polarization of organelles to the IS was determined by immunofluorescence. P62 and LC3-II in centrosome fractions purified by a sucrose gradient were determined by electrophoresis. We evaluated antigen extraction and presentation in a co-culture assay with an antigen-specific T cell line. Our results show that in presence of a BCR ligand, autophagosomes polarize together with the centrosome at the IS. We observed a greater concentration of autophagic proteins associated to centrosome fractions under activating conditions. Given that autophagy regulates antigen presentation, we evaluated this process in starvation conditions. Indeed, when autophagy was induced in B cells, their ability to extract antigen immobilized on beads was impaired, which reflected in a poor capacity to present antigens to helper T cells, without affecting MHC-II at the cell surface. B cells exposed to Torin 1 diminished antigen presentation but had an impact on the ability of B cells to present processed peptides to T cells, suggesting that MHC-II or costimulatory molecules were down-regulated. Overall, our results highlight the importance of balancing autophagy during B cells activation. These differences in the extraction and presentation could be relevant to treatments that depend on humoral immunity.

FONDECYT Regular 1180900

MI013

Interleukin-33/ST2 expression associates to metastasis-supporting events in colorectal cancer patients

Landskron Glauben T¹, De La Fuente Marjorie K¹, Diego Romero², Karen Dubois¹, David Díaz¹, Rodrigo Quera³, Daniela Simian⁴, Sebastian Lopez⁵, Antonella Sanguineti⁵, Maria Julieta Gonzalez⁶, Udo Kronberg⁷, Contreras Hector⁸, Mario Abedrapo⁵, Cristina Peña⁹, Guillermo Diaz¹⁰, Marcela Hermoso¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Inmunidad Innata, Programa de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Departamento de Gastroenterología, Clinica Las Condes, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Subdirección de Investigación, Dirección Académica, Clinica Las Condes, Santiago, CL. ⁽⁵⁾ Departamento de Cirugía Coloproctologica, Hospital Clinico Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁶⁾ Programa de Biología Celular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁷⁾ Departamento de Coloproctología, Clinica Las Condes, Santiago, CL. ⁽⁸⁾ Departamento de Oncología Basica y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁹⁾ Departamento de Oncología Medica, Instituto de Investigacion Sanitaria Ramon y Cajal, Madrid, ES. ⁽¹⁰⁾ Laboratorio de Farmacología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Tumor microenvironment (TM) is relevant in tumorigenesis and cancer progression. Cancer associated fibroblasts (CAFs) are the most abundant component in TM, and alpha-smooth muscle (aSMA) is one of the most consistent markers. CAFs can induce invasion by a reactive fibrotic rearrangement of extracellular matrix (i.e., desmoplasia) and/or activating epithelial - mesenchymal transition (EMT). Recently, IL33/ST2 pathway has gained huge interest as a protumor alarmin, promoting progression to metastasis in a variety of *in vitro* and animal models. Therefore, we evaluate the role of IL33/ST2 in desmoplasia and EMT in CRC. Consequently, 41 patients were recruited from Bio-bank from Universidad de Chile and Coloproctology Departments from CLC and HCUCH, their clinical and histopathological characteristics were collected after signing informed consent. Total IL33 and ST2 content were analyzed in tumor and healthy tissue lysates from CRC patients by ELISA, tissue distribution of both molecules in either epithelia or stroma (reference: aSMA and E-cadherin) were evaluated by immunohistochemistry and quantified by Aperio Imagescope software. Transcript expression of EMT markers (E-cadherin, N-cadherin and vimentin) and cell migration were performed in HT29 cell line. Mann-Whitney test, t-test were performed according data distribution. Lineal regression and correlation coefficients were calculated between quantitative histopathological data and clinical data. Significant p-value: <0.05. IL33 content in left-sided CRC is increased in those patients with lymphatic metastasis ($p=0.007$), and its localization in tumor epithelia is associated with abundant desmoplasia ($r[IC]=0.4[0.01-0.7]$, $p=0.003$). Although ST2 content is similar between tumor and healthy tissue, a decreased immunoreactivity was observed in lymphatic metastasis ($p=0.0085$) and left-sided tumor stroma ($p=0.0359$). This decrease was associated to metastasis related factors, such as more advanced staging ($r[IC]=-0.56[-0.8- -0.16]$, $p=0.007$), abundant desmoplasia ($r[IC]=-0.52[-0.78- -0.11]$, $p=0.013$) and presence of tumor budding ($p=0.03$). Principal component and clustering analysis of IL33/ST2 and aSMA immunoreactivity (with grade of desmoplasia) differentiate clusters of low, intermediate and abundant desmoplasia. IL33 induces a mesenchymal phenotype in HT29 cells (decrease in E-cadherin, increase in n-cadherin and vimentin mRNA, with higher cell migration). These results suggest IL33/ST2 mediates processes associated with metastasis in left-sided CRC participating in tumor microenvironment interaction, specifically between CAFs and epithelial tumor cells.

MI014

Tolerogenic dendritic cells generated with dexamethasone and monophosphoryl lipid A are characterized by a particular transcriptional profile associated with immunoregulatory features

Jaxaira Maggi¹, Paulina García-González¹, Katina Schinnerling¹, Alejandro Sepúlveda-Gutiérrez², Lilian Soto¹, Octavio Aravena¹, Medhi Ahmed M.³, Nel Hendrik J.³, Diego Catalán¹, Ranjeny Thomas³, Ricardo Verdugo², Aguillón Juan C.¹.

⁽¹⁾ Programa Disciplinario de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Programa de Genética Humana, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Diamantina Institute, Translational Research Institute, University of Queensland, Queensland, AU.

Introduction: In autoimmunity, the generation of dendritic cells (DCs) with tolerogenic properties (ToIDCs) represents an attractive immunotherapeutic approach. Although the cellular mechanisms by which ToIDCs exert their function are well known, the molecular processes promoting immunoregulatory properties are poorly understood. In this work we characterize the transcriptome of ToIDCs, generated with dexamethasone (Dex) and monophosphoryl lipid A (MPLA-tDCs), and compared the expression of tolerance-related genes with ToIDCs generated by other protocols.

Methods: MPLA-tDCs were generated from peripheral blood monocytes from healthy donors and rheumatoid arthritis (RA) patients, using untreated-, MPLA-matured- and Dex-modulated-DCs as controls. Total RNA was extracted from DC-subtypes and subjected to Illumina whole genome microarray. Expression of selected Differentially Expressed (DE) genes in MPLA-tDCs was confirmed through qPCR and flow cytometry. For comparison, ToIDCs treated with Bay11-7082 (Bay-DCs), or Dex, vitamin D3 and lipopolysaccharide (VD3-DCs) were generated and the expression of genes of interest was evaluated at protein level by flow cytometry. **Results:** MPLA-tDCs exhibited a characteristic transcriptional profile. Among the 679 DE genes, most of the upregulated genes were related to tolerance, whilst inflammatory genes were repressed. Expression of selected tolerance-associated molecules and transcription factors was confirmed through qPCR and were shown to correlate with protein levels. MPLA-tDCs, Bay-DCs and VD3-DCs showed differences in the expression levels of these molecules. VD3-DCs displayed a higher expression of CD163, MERTK, TLR-2 and MYC, and MPLA-tDCs displayed a lower expression of STAT1, compared to the others. **Conclusion:** The transcriptional profile of MPLA-tDCs supports regulatory features. The expression of tolerance-related molecules depends on the stimulus used to generate ToIDCs.

FONDECYT-Chile 1140553 and MIII P09/016-F

MI015

First evidences of a common mechanism of CD3 ζ signaling between fish and mammals

Camila Flores¹, Andrea Garcés¹, Kevin Maisey¹. ⁽¹⁾ Centro de Biotecnología Acuicola, Facultad de Química y Biología, Universidad De Santiago de Chile, Santiago, CL.

The CD3 subunits are essential components of the T cell receptor (TCR) complex. Based on molecular complementarity between the clonotypic TCR on a specific T cell and its antigen, CD3 subunits transmit the signal into the cytosol to activate signaling events. Here we report a cDNA and the corresponding gene encoding CD3 ζ in rainbow trout. The trout CD3 ζ presents ORFs of 468 bp encoding for 156 amino acids. A multiple alignment of trout CD3 ζ and CD3 ζ sequences from mammals revealed well-conserved $\zeta\zeta$ and ITAM domains. The gene expression of CD3 ζ was analyzed and detected in sorted CD3 ϵ^+ cells from spleen and PBL and also detected from different tissues, resulting in a decreasing expression levels as follows: Thymus>>spleen>head kidney>intestine. The structural model of the trout homodimer CD3 $\zeta\zeta$ was obtained using a NMR structure from human CD3 ζ as template, which aligned with a 55% identity with trout CD3 $\zeta\zeta$ sequence. The predicted interface residues of the trout model showed a conserved polar nature, with the disulphide bond C₂-C₃₂ and the aromatic stacking of Y₁₂ and Y_{42'}, conserved as in the human structure. To examine the function of the trout CD3 ζ chain, we constructed a chimera that fused the extracellular and transmembrane domains of CD8 α to the cytoplasmic domain of CD3 ζ . In Jurkat cells expressing the chimera we demonstrated that CD3 ζ interacts with proteins having tyrosine kinase activity. Our results show that the kinase activity associated to the CD3 complex has characteristics that are quite similar to the previously characterized zeta-associated kinase activity in mammals. This finding suggests that both, trout and mammals TCR components may initiate signaling events using a common molecular mechanism.

FONDECYT Iniciación 11171057



MI016

Regulation of dendritic cell function by the unfolded protein response transcription factors XBP1 and ATF6

Bernardita Medel^{1,2}, Bernales José Ignacio², Fabiola Osorio². ⁽¹⁾ Programa de Doctorado en Biotecnología, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello. ⁽²⁾ Laboratorio de Inmunología y Estrés Celular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Dendritic cells (DCs) are immune cells necessary to prime and direct antigen specific immune responses. DCs unique abilities for T cell priming make them an important target to generate immunotherapies against many pathologies. Thus, there is a special interest on the intracellular mechanisms that account for efficient DC function and homeostasis. One relevant mechanism that has been described to have a crucial role in DCs biology is the unfolded protein response (UPR). The UPR sensor IRE1 α and XBP1s, the transcription factor activated by IRE1 α -dependent splicing, are the most conserved among species and the most characterized in immunity. Besides the canonical role in UPR, IRE1 α /XBP1s pathway also controls function, differentiation and survival of DCs. We have previously shown that dendritic cells constitutively activate IRE1 α signaling, which regulates key aspects of DC biology such as the expression of integrins, the architecture of the endoplasmic reticulum (ER) and the cross-presentation of dead cell-associated antigens. Interestingly, ATF6, another UPR sensor and transcription factor has shown to act in synergy with IRE1 α /XBP1 pathway, as it has been reported that ATF6 processing is required for IRE1 α -dependent induction of UPR genes transcription and that ATF6 and XBP1 can form heterodimers which have different transcriptional program compared to acting alone. Thereby, the role of ATF6 in DCs it has yet to be explore. This project aims to unveil the role of ATF6 in DCs biology and function through the generation of BMDCs from conditional KO and the use of pharmacological inhibitors to specifically inhibit IRE1 α /XBP1 pathway, which we reported was detrimental for CD8⁺ T cell priming in *ex vivo* settings. These experiments will allow us to discover novel targets to develop DC-based immunotherapies.

FONDECYT 1161212, Howard Hughes Medical Institute 55008744, CONICYT-PFCHA/Doctorado Nacional/ 2018-21180249



MI017

Modulation of the lymphocyte axis TH1/TH17/TReg by narrowband ultraviolet B light: Possible role of TRPV1 and TRPV4 channels

Ignacio Montorfano^{2,1}, Lia Hojman^{1,2}, D Hevia^{1,2}, Flavio Salazar¹, Mauricio Henriquez³, Mercedes Lopez¹.

⁽¹⁾ Inmunología, Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Santiago, CL. ⁽³⁾ Fisiología y Biofísica, Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Narrowband UVB (NB-UVB) phototherapy is the gold standard in treatment of vitiligo. Vitiligo is the most common acquired hypopigmentary disease and is produced, among other factors, by an imbalance in the lymphocyte response, where CD8+ and CD4+ T cells (Th1 and Th17 subsets) generates cellular autoimmunity against melanocytes and contribute to progression of vitiligo. It is known that NB-UVB controls the spread of depigmentation areas and promotes repigmentation, however, background in the literature and our own findings suggest that this treatment could exert an immunomodulatory effect on the Th1/Th17/Treg subsets, re-establishing the imbalance of the immune response observed in this pathology. Nevertheless, the mechanisms of action of NB-UVB are still unclear. Recent investigations has shown that UVB modulates the activity of calcium permeable channels, TRPV1 and TRPV4, in murine and human keratinocytes. In addition, these channels participate in the processes of activation and differentiation of CD4+ T cells. In this research, we propose that exposure to NB-UVB *in vitro* on CD4+ T cells promotes the induction of Treg and the decrease of Th1/Th17 responses, mediated by an increase in intracellular TRPV1/TRPV4-dependent calcium concentration, stimulating in this way the CD4+ T cells differentiation. **Methodology:** Human CD4+ T cells isolated from peripheral blood, were exposed to NB-UVB *in vitro* and by flow cytometry the frequency of Th1/Th17/Treg subpopulations was determined. Changes in gene expression of TRPV1 and TRPV4 channels were analyzed by qRT-PCR. Confocal microscopy and calcium sensitive probes were used to verify calcium influx through TRPV1 and TRPV4 channels in CD4+ T cells exposed to NB-UVB. **Results:** It was possible to identify that in a proportion of 1:3 healthy donors analyzed produced an increase in the proportion of Treg lymphocytes. Gene expression analyzes of TRPV1 and TRPV4 channels in CD4+ T cells exposed to NB-UVB, revealed increases in the expression of TRPV1 at doses of 50 mJ/cm². The results obtained allow us to better speculate the direct effects of NB-UVB on T cells, which would modulate the activity of the TRPV1 and TRPV4 channels and possibly favoring the induction of regulatory T cells.

Funded by grant FONDEF D11I1036; FONDECYT 1130324; IMII P09/016F and CONICYT Scholarship 21151106



MI018

Design and evaluation of synthetic peptides as antigens for antibody production against a Toll-like receptor and a mannose receptor from the scallop *Argopecten purpuratus* hemocytes

Varinia Morales-Moya¹, Byron Morales-Lange¹, Nicolás Salinas-Parra¹, Fanny Guzmán¹, Luis Mercado¹, Paulina Schmitt¹. ⁽¹⁾ Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL.

Antibodies are powerful tools in life sciences research because of their ability to bind to proteins with high affinity and specificity. Nowadays, great advances have been made in the development of antibodies against synthetic peptides representing antigenic epitopes. Thus, using the antigenic peptides approach we aimed to obtain antibodies against two pattern recognition receptors (PRRs) from *Argopecten purpuratus* hemocytes, namely a Toll-like receptor and a mannose receptor. Recognition of non-self-substances is mediated by PRRs, which recognize microorganism-associated molecular patterns (MAMPs) and activate the immune response. In scallops, hemocytes are the leading immunocompetent cells with the main function of detecting foreign material, phagocyte and induce defense reactions. Due to the fundamental role played by the hemocytes in the immune response, there is a current need to expand the knowledge about the recognition mechanisms of these cells. To obtain candidate epitopes and produce synthetic peptides, we first predicted the transmembrane topology and signal peptide of the primary structure of both receptor sequences. Then, the antigenicity of the sequences was analyzed in parallel with the hydrophobicity, flexibility and accessibility parameters. Finally, the three-dimensional structure of the proteins was predicted, and the selected candidate epitopes were aligned in the model. Synthetic peptides were obtained by F-moc chemistry and polyclonal antibodies were generated in CF-1 mice against each peptide. Antibody efficiency and specificity were determined by indirect ELISA and Western blot, respectively against the peptide epitopes and hemocyte protein extracts. Results showed that this strategy allow to obtain antibodies targeting Toll-like receptor and mannose receptor from the scallop *Argopecten purpuratus*. In the future, hemocyte primary cultures will be stimulated with different MAMPs and immunofluorescence analysis will be carried out to assess the specific expression of these PRRs.

WORK FUNDED BY FONDECYT 11150009



MI019

DCs participation in the immune response induced by a new vaccine based on conditioned melanoma lysates (TrimelVax)

Mariela Navarrete^{1,2}, Alejandra Gleisner^{1,2}, Flavio Salazar-Onfray^{1,2}. ⁽¹⁾ Anti Tumor Immunology Laboratory, Faculty of Medicine, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Millennium Institute of Immunology and Immunotherapy, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Previously, our laboratory has developed an antitumor vaccine called TAPCells, which consist in the generation of dendritic cells (DCs) from the patient and exposing them to a widely characterized heat-shock conditioned melanoma allogeneic tumor lysate called TRIMEL. Phase I and II studies in advanced melanoma patients showed promising results. However, 40% of the patients do not respond to the therapy or showed weak clinical responses. In this context, our laboratory and other investigators have evaluated the direct use of allogeneic cell lysates combined with adequate adjuvants as an alternative of treatment, as a way to induce the activation of the antitumor response and therefore tumor specific cytotoxic activity. Recently, we have developed a therapeutic vaccine called TRIMELvax, which combines TRIMEL with a specific adjuvant already used in patients in the context of a DC vaccine, without adverse effects. The vaccine is intended to directly activate the immune response against tumor *in vivo*, inhibiting its growth. TRIMELVax was evaluated, in terms of safety and efficacy in C57Bl/6 murine model of melanoma B16F10. Given these results, it is relevant to us to study the mechanisms involved in its potent anti-tumoral function. In this study, we evaluated the effect of the TRIMELvax vaccine in the different types of DC, including plasmacytoid (pDC) and conventional (cDC) dendritic cells, differentiating between cDCs type 1 (cDC1) and cDCs type 2 (cDC2). Using *in vitro* generated bone marrow-derived DCs with the cytokine FLT3-ligand as differentiating factor, we studied the effect of the vaccine and its components in the antigen uptake, activation of the DCs and cross presentation of these antigens in order to initiate an antitumor response. Our results suggest that cDCs are the main DC type responsible of the antigen uptake, being no difference in antigen uptake and activation between cDC1 and cDC2. Despite of that, cDC1 showed to be the ones that performed cross-presentation the best, supporting once again the idea that cDC1 are essential initiators of the antitumor response.

Financed by grants FONDECYT Post-doctorado 3170917, FONDEF D11I1036, FONDECYT 1171213 and IMII P09/016-F.



MI020

***In vitro* methodology for the study of MICA behavior with NKG2D in the presence of scFv-anti-MICA**

Rodriguez Jose A¹, Matias Gutierrez¹, Alfonso Romero¹, Karen Toledo¹, Bastian Jerez¹, Samantha Tello¹, Camila Faría¹, Molina Maria C.¹. ⁽¹⁾ Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

MICA protein is expressed many types of human cancers as result of cellular stress. MICA expressing cancers cells are recognized by NKG2D receptor expressed on the surface of Natural Killer cells. This binding activates the elimination of the target cells by cytotoxic lymphocytes. However, MICA in gastric cancer is released in soluble form, which can lead to NKG2D downregulation and tumor escape, thus being a promising therapeutic target. We developed a single chain variable fragment (scFV) from phage display library directed against MICA. Using genetic engineering we expressed and purify 2 mg/mL of MICA and 0.1 mg/mL of NKG2D for *in vitro* studies. We demonstrated the high binding ability between these proteins using ELISA. Additionally, we standardized the ratio of NKG2D:MICA concentration to 1:4, and the concentrations of secondary antibody and streptavidin-peroxidase, to obtain a significant difference to the background signal. Using this technique, we found that scFv-anti-MICA pre-incubated MICA, showed an increased binding to NKG2D, probably due to stabilization effects; which could aid to NKG2D-mediated cytotoxicity. With this methodology, we can assess the behavior of MICA in the MICA-NKG2D complex upon the binding of different scFV-anti-MICA, to screen the best variants for cancer therapy.

FONDEF Idea ID16110027

MI021

Validation of an *in silico* model of the protein complex MICA and scFv- α MICA, through a site-directed mutagenesis

Alfonso Romero¹, Matias Gutiérrez-Gonzalez¹, Alexis Salas², Alejandro Rodriguez¹, Samantha Tello¹, Camila Faría¹, Bastian Jerez¹, Karen Toledo¹, Maria Carmen Molina¹. ⁽¹⁾ Programa disciplinario de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Farmacología., Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL.

Cancer is one of the leading causes of death worldwide. The immune system is the first defense barrier against cancer, with Natural Killer (NK) cells being capable to detect and kill tumor cells. This vigilance is performed by NKG2D cell activation receptor, which can bind several ligands in tumor cell surface. The MHC class I polypeptide-related sequence A (MICA) molecule is one the most studied NKG2D ligands. It is a transmembrane protein expressed in tumors, and plays in important role in both immunosurveillance and immune evasion by tumors. This last mechanism consists on the release of MICA, in a soluble form or by exosomes. This prevents NKG2D from detecting the tumor which is being blocked by released MICA and induces endocytosis of the receptor. We developed an antibody fragment against MICA through phage display. An *in silico* model of the scFv anti MICA and MICA complex was constructed and the most important residues were identified: 4 tyrosines (hot spot), and residues that when replaced would improve the binding capacity (cold spot) of the scFv to MICA. To validate this model, through site directed mutagenesis, hot spot residues were replaced with alanine, while cold spot were replaced with residues with aromatic groups. These variants were produced in *Escherichia coli* and purified through immobilized metal affinity chromatography. For each mutant and original scFv, we performed an ELISA assay to detect changes in MICA binding. Our results show that replacing a hot spot with alanine lowers the complex formation (WT: 1.1 OD.; Mut: 0,1 OD.) while replacing cold spots increased binding capacity (WT: 0,2 OD.; Mut: 1,1 OD.), thus validating the model. These results help to increase our understanding of the scFv-MICA complex, which will allow us to perform new molecular docking dynamics to identify key residues in the interaction, and to increase scFv affinity towards.

FONDEF-IDEA ID16I10027

MI022

Overexpression of cell surface markers (CD80/86, MHC-II and CD83) in spleen leukocytes from *Salmo salar* in response to rIFN γ /rFlagA

Byron Morales-Lange¹, Fanny Guzmán², Valentina Wong³, Mónica Imarai³, Luis Mercado¹. ⁽¹⁾ Grupo de Marcadores Inmunológicos en Organismos Acuáticos. Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Síntesis de Péptidos. Núcleo Biotecnología de Curauma, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽³⁾ Laboratorio de Inmunología. Departamento de Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL.

Aquaculture suffers economic losses due to the mortality of salmonids caused by viral and bacterial pathogens. In response, the industry has used antibiotics, immunostimulants and vaccines. However, no strategy has given optimal results, this because the pathogens have developed resistance to some antibiotics; the innate response has failed to control persistent infections and vaccines have not protected the animal for an extended period. Given this, an interesting approach is to characterize Dendritic cell-like (DC-like), which are the bridge between innate and adaptive immunity and are crucial for the success of strategies for improving the adaptive immune response. In fish, DC-like existence is still a matter of debate, because the low number of immunological phenotypes markers characterized in aquatic organisms has been a historical problem in the study of fish immunology. In this work, *in silico* analyzes have been carried out to establish antigenic epitopes of Atlantic salmon for the production of antibodies allowing the identification of DC-like surface markers. In addition, *in vitro* strategies were developed to obtain primary cultures of spleen leukocytes (SLs) from *Salmo salar* enriched in the mononuclear fraction to be induced with recombinant Interferon gamma and Flagellin A (rIFN γ /rFlagA). This in order to evaluate the expression of *cd80/86*, *mhc ii*, *cd83* and *zbtb46*. Results by qPCR in SLs showed a significant increase in the expression of DC-like surface markers at 8 and 15 days after induction with rIFN γ /rFlagA and a decrease in the expression of *zbtb46* at 15 days, which is a transcriptional factor that in higher vertebrates it has been described as a regulator of the maturity of DC type. Finally, at the protein level it was possible to detect the presence of dendritic cell surface markers such as CD80/86, MHC II and CD83 by immunofluorescence and flow cytometry.

This study was supported by the Strategic Investment Fund of the Ministry of Economy, Development and Tourism of Chile (FIE-2015-V014 201708070149). BM is a fellow of Advanced Human Capital Formation of CONICYT, Chile (21151176).

MI023

MicroRNA 378a-3p, a novel post-transcriptional regulator of IL33 expression

Karen Dubois-Camacho¹, David Díaz-Jiménez¹, Marjorie De La Fuente¹, Rodrigo Quera², Daniela Simian³, Maripaz Martínez³, Glauben Landskron¹, Mauricio Olivares-Morales¹, Cidowski John A⁴, Xiaojiang Xu⁵, Guangping Gao⁶, Jun Xie⁶, Jonás Chnaiderman⁷, Ricardo Soto-Rifo⁷, María-Julietta González⁸, Andrea Calixto⁹, Hermoso Marcela A¹. ⁽¹⁾ Innate Immunity Laboratory, Immunology Program, Faculty of Medicine, Biomedical Sciences Institute, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Gastroenterology Department, Clínica Las Condes, Santiago, CL. ⁽³⁾ Research Subdirection, Academic Direction, Clínica las Condes, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Laboratory of Signal Transduction, Department of Health and Human Services, National Institute of Environmental Health Sciences, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC, US. ⁽⁵⁾ Department of Health and Human Services, Laboratory of Integrative Bioinformatics, National Institute of Environmental Health Sciences, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC, US. ⁽⁶⁾ Gene Therapy Center, University of Massachusetts Medical School, Worcester, US. ⁽⁷⁾ Molecular and Cellular Virology Laboratory, Virology Program, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁸⁾ Cell and Molecular Biology Program, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁹⁾ Center for Genomics and Bioinformatics, Faculty of Sciences, Universidad Mayor, Santiago, CL.

IL33, a member of the IL1 family, is produced by epithelial cells and its binding to the ST2 receptor induces secretion of pro-inflammatory cytokines by immune cells as well as wound healing. The IL33 expression is increased in intestinal mucosa of ulcerative colitis (UC) patients which is an inflammatory bowel disease characterized by mucosa damage and loss of stability of the immune response. MicroRNAs are deregulated in aUC patients' mucosa and are potential candidates to control IL33-mRNA expression. Therefore, we studied the microRNA and mRNA profile in inflamed colonic samples of UC patients and evaluated the effect of a microRNA (selected according to *in silico* analysis), on IL33 under inflammatory conditions. MicroRNAs and mRNAs profile were evaluated according to inflamed vs. non-inflamed intestinal mucosa by microarray analysis of 8 aUC patients. MicroRNAs and mRNAs with a high fold-change (FC) in microarrays were detected by TaqMan and RT-PCR, respectively, in 14 aUC patients, 13 inactive (iUC) patients, and 12 controls. Colonic epithelial cell line (HT-29) cultures were exposed to inflammatory stimuli (TNF- α) to evaluate the expression of selected microRNAs and mRNAs. Selected microRNA with a binding site on IL33 was evaluated by β -gal reporter vector. The proliferation effect of selected microRNA was determined on stable over-expressing or lacking them in HT-29 cells. Inflammation in the mucosa was associated with an increased 37 microRNAs and 2120 mRNAs, while 49 microRNAs and 1734 mRNAs were decreased. In particular, IL33 mRNA showed an increment of 3.8-fold change (FC). Additionally, one of the top ten decreased microRNAs (-3.4 FC), miR-378a-3p, had a target sequence in the IL33-mRNA 3'UTR and was inversely correlated with IL33 levels in aUC patients' mucosa (Pearson- r =-0.35, P =0.04), compared to iUC and controls (Mann-Whitney test). In line with this, miR-378a-3p and IL33-mRNA were also inversely correlated (Pearson- r =-0.49, P =0.0093) in HT-29 cells exposed to TNF α . Over-expression of miR-378a-3p decreased β -gal levels in an IL33-target-sequence reporter gene and also decreased HT-29 cell proliferation. Conclusions: These results suggest a novel mechanism of IL33 expression regulation by miR378a-3p in an inflammatory environment. Thus, miR-378a-3p might be a potential target for therapeutical intervention of aUC patients.

Clínica Las Condes Academic Project PI2013-B002 (RQ), FONDECYT 1170648 (MHR); National Commission for Scientific and Technological Research Scholarship No. 21150264 (DDJ), No. 21120682 (MOM); and MECESUP Scholarship No. UCH 0714 (KDC).

MI024

Presencia sistémica y niveles de expresión de Gal-1, Gal-3 y de glicosiltransferasas específicas en células mononucleares de pacientes con tuberculosis y su relación con parámetros inmuno-endocrinos

D'Attilio Luciano David¹, Fernández Rocío DV¹, Ariana Díaz¹, Bettina Bongiovanni¹, Cerliani Juan Pablo², Stupirski Juan Carlos², Bottasso Oscar A¹, Rabinovivh Gabriel A², **María Luisa Bay**¹. ⁽¹⁾ IDICER, Facultad de Cs Médicas, CONICET-UNR, Rosario, AR. ⁽²⁾ IBYME, CONICET, CABA, AR.

Los pacientes con tuberculosis pulmonar (PTB) presentan una marcada desregulación inmunoendócrina, aumento en las concentraciones plasmáticas de citocinas pro y antiinflamatorias y cortisol, además de una marcada disminución de dehidroepiandrosterona (DHEA) asociada a la severidad de la PTB. Si bien los pacientes con TB pleural (PLTB) también mostraron un desbalance inmunoendócrino, la relación entre las citocinas plasmáticas IFN γ /IL-4 (Th1/Th2) fue significativamente mayor respecto de PTB. Dentro de las proteínas con incumbencia en la regulación de la respuesta inmune, se encuentran las Galectinas (Gal), entre ellas Gal-1 con reconocidos efectos inmunosupresores sobre la respuesta inmune celular mientras que Gal-3 está involucrada en procesos inflamatorios e infecciosos. Al estudiar el rol de estas proteínas en TB, observamos aumento sistémico de Gal-1 sólo en los pacientes con PTB, en tanto que Gal-3 aumentó en PTB y PLTB. En base a estos resultados se cuantificó la expresión (ARNm, RT-qPCR) de Gal-1 y Gal-3 en células mononucleares (CM) de sangre periférica (PBMC) de pacientes con PBT (n=24) o PLTB (n=11) y de sujetos sanos (HCo; n=17), así como en CM del fluido pleural (PFMC) de pacientes con PLTB. La expresión de los transcritos para ambas Gals mostró un perfil acorde con el de los niveles plasmáticos de cada una de ellas. El transcrito de Gal-1 aumentó sólo en el grupo PTB respecto de HCo ($p < 0.04$) y el de Gal-3 en ambos grupos de pacientes ($p < 0.04$). En PLTB, las PFMC presentaron una menor expresión de ambos ARNm respecto de las de PBMC ($p < 0.04$). El transcrito de la enzima C2GnT, que sintetiza la estructura glicosilada "core 2-O-glicanos" a quien se adicionan los residuos de lactosamina necesarios para que Gal-1 sea funcional, se encontró incrementada sólo en las PBMC de pacientes con PTB ($p < 0.05$ vs HCo). Por su parte la expresión de la enzima GnT5, fundamental para la generación de ramificaciones b1,6 en N-glicanos complejos, motivos fundamentales de reconocimiento de Gal-1 y Gal-3, fue similar en todos los grupos de estudio. La mayor expresión sistémica de Gal-1 y los transcritos relacionados en pacientes con PTB pueden estar reflejando una respuesta menos favorable para la contención y eliminación del *Mtb*

MI025

Determinantes moleculares e espaciais da tuberculose resistente em Fortaleza, nordeste do Brasil

Campelo Thales A.¹, Silva Carolyn S.¹, Lima Luana N.G.C.², Lima Karla V.B.², Sancho Soraya O.¹, Frota Cristiane C.¹

⁽¹⁾ Departamento de Patologia e Medicina Legal, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, BR.

⁽²⁾ Seção de Bacteriologia, Laboratório de Biologia Molecular, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, BR.

Introdução: O município de Fortaleza, capital do estado do Ceará, concentra 81% dos casos de tuberculose (TB) e apenas 56% dos indivíduos tratados evoluem para cura. O estudo tem como objetivo determinar e compreender as variáveis da frequência da TB resistente aos fármacos anti-TB, relacionando com a mutação nos genes *rpoB*, *katG*, *mabA*, *gyrA* e *rrs*, com as características comportamentais, do ambiente domiciliar e da comunidade relacionadas ao hospedeiro, assim como analisar espacialmente as residências dos participantes na região metropolitana de Fortaleza, Ceará-Brasil.

Métodos: Estudo prospectivo, do tipo caso-controle, realizado no período de fevereiro de 2017 a janeiro de 2018. Foram incluídos 49 pacientes com TB pulmonar e com diagnóstico fenotípico de resistência a pelo menos um fármaco anti-TB. Os pacientes foram atendidos no hospital de referência estadual no acompanhamento de TB resistente. Um questionário semiestruturado contendo informações demográficas, socioeconômicas, comportamentais e laboratoriais foi aplicado a todos os participantes. A detecção da mutação foi realizada por MAS-PCR, seguido de sequenciamento genético. As coordenadas geográficas das residências de cada paciente foram georreferenciadas. **Resultados:** Dos 49 isolados de *M. tuberculosis*, 12 (25%) eram resistentes a um fármaco, 18 (37%) a dois fármacos e 19 (39%) a três ou mais fármacos. A média de idade dos pacientes foi de 40,4 anos, 39 (80%) não tinham história de tratamento anterior e 33 (67%) tinham padrão radiográfico de cavitação bilateral. Foram detectadas mutações no códon 315 do gene *katG* em 36 (92%) isolados, e em três (8%) isolados na região determinante de resistência a quinolona (códon 90, 91 e 94) do gene *gyrA*. A análise espacial mostrou que casos de TB resistente residem em regiões da cidade com menor condição socioeconômica e de moradias. **Conclusão:** Os pacientes com TB, em particular a elevada frequência de indivíduos com TB primária, apresentam distribuição geográfica na cidade de Fortaleza relacionados com o padrão demográfico e social. A técnica de MAS-PCR permite a detecção de mutações em genes relacionados a resistência a fármacos que não são cotidianamente empregados nos testes fenotípicos.

Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, Brasil (Edital N° 05/2017, SPU N° 178638234), Capes.

MI026

HNO y micobacterias: Un nuevo candidato para la lucha contra la tuberculosis

Jordana Galizia¹, Mariano Prado Acosta¹, Estefanía Urdániz¹, Federico Issoglio², Suárez Sebastián A.², Martí Marcelo A.¹, Mariana Piuri¹. ⁽¹⁾ Dpto. de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, AR. ⁽²⁾ Dpto. de Química Inorgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, AR.

El nitroxilo (HNO) es una especie altamente reactiva que recientemente ha cobrado relevancia en el campo de la medicina. Biológicamente el HNO tiene numerosos blancos, como las metaloproteínas o los tioles, y es fácilmente interconvertible a otras especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (RNOS), generando un ambiente de estrés nitrooxidativo. *Mycobacterium tuberculosis* es sensible a RNOS y por eso resulta interesante y novedoso evaluar la interacción entre el HNO y las micobacterias. En este trabajo evaluamos, en primer lugar, la viabilidad y respuesta biológica de micobacterias frente a compuestos dadores de HNO. Se observó que el mismo presenta un efecto micobactericida para *M. smegmatis* y también para *M. tuberculosis*, tanto en dosis únicas de dador como con dosis sucesivas de menor concentración. Además analizamos la interacción del HNO con diversos antibióticos observando dos efectos: una interacción positiva para la rifampicina, kanamicina y delamanid y una interacción negativa o antagónica con la isoniazida y el etambutol. En segundo lugar, estudiamos la reactividad de la proteína AhpE, una peroxirredoxina dependiente de tioles - cuyo sitio activo presenta una cisteína - y forma parte del sistema de defensa antioxidante del bacilo. Se observó que, en presencia de NO gaseoso, se forma HNO y se consume por completo al cabo de 15 minutos. En ese tiempo, el estado de oxidación del tiol aumenta, formándose ácido sulfénico (detectado por fluorescencia) y alcanzando la concentración máxima en el lapso mencionado lo cual coincide con una disminución en la concentración de tioles libres (medidos por una reacción con DTNB). Respecto de un posible mecanismo de acción del HNO, basándonos en ensayos realizados con fluoromicobacteriófagos reporteros, se propone que el HNO actúa interfiriendo con la fisiología general de las micobacterias. Esto sería consistente con la interconversión de NO a HNO observada y la multiplicidad de blancos sobre los que dichas especies pueden actuar. Estos resultados posicionan a los dadores de HNO como interesantes candidatos de posibles fármacos para un nuevo régimen de tratamiento contra la tuberculosis.

MI027

Non-classical circulating monocytes in severe obesity-related diabetes and tuberculosis patients may contribute to susceptibility to *Mycobacterium tuberculosis* infection

Resende Danilo P³, Da Costa Adeliâne C³, Rosa Lorena P³, Annelise Santos SAC³, Sousa Jaqueline D³, Ana Paula Rodrigues³, Souza Camila K², André Kipnis¹, Silveira Erika A², **Ana Paula Junqueira-Kipnis**³. ⁽¹⁾ Microbiologia, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, BR. ⁽²⁾ Nutrição, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, BR. ⁽³⁾ Imunologia, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, BR.

Severe obesity is a condition that leads to a significant decrease in quality of life, mainly due to the development of associated diseases, particularly diabetes. Although controversy, population-wide studies have implicated obesity in the development of tuberculosis (TB), and this predisposition may occur via diabetic related metabolic changes that render obese individuals susceptible to TB development. The present study focuses on several monocyte populations of obese, obesity-related diabetic and tuberculosis patients to investigate whether these cells play an important role in the association between diabetes and TB. The monocyte was evaluated by measuring expression of CD86, CD206, TLR-2 and TLR-4 as well as production of IL-6, IL-12, TNF- α , TGF- β and adiponectin. Non-classical monocytes (CD14+CD16+) from obesity-related diabetic and TB patients also exhibited similar activation profiles (CD86/CD206/TLR-2 and TLR-4 expressions), with enhanced Mtb growth. After *in vitro* infection with *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), monocytes from all patients examined were more permissive to Mtb growth than were monocytes from healthy individuals. Monocytes from active TB patients and obesity-related diabetes presented more Mtb than obese individuals, but this susceptibility was not observed for *M. massiliense*. The findings suggest a possible role for non-classical monocytes in the susceptibility of obesity-related diabetes patients to TB infection.

CNPq, CAPES, FAPEG, Brazil

MI028

Recombinant *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* expressing bacterioferritin from *Mycobacterium tuberculosis* presents improved resistance to stressful conditions

Oliveira Fábio M.¹, Ana Paula Junqueira-Kipnis¹, **Andre Kipnis**². ⁽¹⁾ DEBIOTEC, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, BR. ⁽²⁾ DEBIOTEC, Professor, Universidade Federal de Goias, Goiania, BR.

Iron is an essential nutrient for mycobacteria, the absence of this metal is deleterious, while the excess of free metal is toxic for bacillus and hence for ideal balance *Mycobacterium* sp. needs to employ efficient iron acquisition and storage mechanisms. The ferritin-like molecules are essential for iron homeostasis, it has been demonstrated that pathogenic *Mycobacterium* has two types of ferritin-like molecules, ferritin and bacterioferritin, coded by Rv3841 and Rv1871 genes, respectively. Studies have shown the role of these proteins in the virulence and pathogenicity of the genus *Mycobacterium* but the importance of bacterioferritin (BfrA) is still unclear. Some rapidly growing mycobacteria, such as *M. abscessus* subsp. *massiliense* (Mycma), lacks bacterioferritin-coding gene. The aim of this study was to analyze if the expression of a recombinant bacterioferritin from *M. tuberculosis* (Mtb) by Mycma could improve the capacity of this bacillus to resist the host defense mechanisms. It was observed that the expression of bacterioferritin improved the growth rate of recombinant Mycma_BfrA under iron excess, as compared to wild-type. Recombinant Mycma_BfrA presented significant increase in the resistance to oxidative stress produced by hydrogen peroxide *in vitro*. Our results suggest that the presence of recombinant bacterioferritin confers to Mycma growth advantages only under extremely stressful *in vitro* conditions, as such in high iron and hydrogen peroxide. Nevertheless, further studies using *in vivo* model of infection are necessary to determine if the observed *in vitro* improvement conditions could increase the resistance of Mycma_BfrA to host defense mechanisms.

CNPq; FAPEG; CAPES



MI029

Identificación de micobacterias no tuberculosas por técnicas moleculares entre los años 2013 y 2017 en Chile

Karla Kohan¹, Álvaro Díaz¹, Tamara Leiva¹, Marcela Moreno¹, Angélica Scappaticcio¹, Javier Figueroa¹, Jorge Fernández², Fabiola Arias¹. ⁽¹⁾ Biomédico, Sección Micobacterias, Instituto de Salud Pública de Chile, Santiago, CL.
⁽²⁾ Biomédico, Subdepto. Genética Molecular, Instituto de Salud Pública de Chile, Santiago, CL.

Las micobacterias no tuberculosas (MNT) son un grupo de patógenos oportunistas que causan principalmente enfermedades pulmonares similares a la tuberculosis en pacientes inmunocomprometidos o con afecciones pulmonares preexistentes y producen enfermedades que se conocen con el nombre genérico de micobacteriosis. En los últimos años ha existido un aumento en las infecciones por MNT, sin embargo, el último estudio de frecuencia se realizó el año 2008 por el Laboratorio Nacional de Referencia (LRN) por técnicas fenotípicas. Actualmente, la identificación es realizada por técnicas moleculares, por lo tanto el objetivo de este trabajo fue evaluar cambios en las frecuencias de MNT y determinar el aporte del diagnóstico molecular. Se estudiaron 1727 cepas de MNT recolectadas entre los años 2013 y 2017 provenientes de los laboratorios de tuberculosis de Chile. Un total de 967 cepas fueron identificadas mediante hibridación reversa y 760 cepas debieron identificarse mediante secuenciamiento del gen *hsp65* por limitaciones de la técnica anterior. Los resultados obtenidos indicaron que de las 1727 cepas estudiadas, se observó que las especies con mayor frecuencia de MNT aisladas durante los últimos 5 años fueron *M. avium* (29,5%) *M. chelonae* (17,4%), *M. intracellulare* (13,6%), *M. goodii* (8,2%). Los aislamientos restantes correspondieron a otras micobacterias menos comunes como por ejemplo *M. massiliense*, *M. indicus pranii*, *M. sherrissi*, *M. xenopi*, *M. interjectum*, entre otras. En comparación con el último estudio realizado el 2008 donde el aislamiento predominante fue *M. kansasii*, seguida de *M. avium* y en tercer lugar *M. chelonae*, es posible concluir que la especie *M. avium* desplazó a *M. kansasii* en los últimos 5 años registrando un 29,5% y 5,2% respectivamente. Se ha observado una asociación de pacientes con VIH con aislamientos positivos con *M. avium*, por lo que este incremento puede estar relacionado con el aumento de personas infectadas con VIH en Chile. En relación a la identificación por técnicas moleculares es posible concluir que al ser técnicas menos laboriosas que una identificación fenotípica se obtiene un resultado en menor tiempo lo que ha sido un avance en la oportunidad diagnóstica y además, ha permitido identificar nuevos aislamientos de MNT.

Instituto de Salud Pública de Chile

MI030

Investigação de contatos na transmissão da tuberculose em população privada de liberdade: Características demográficas e perfil genético do *Mycobacterium tuberculosis*

Moraes Eloise B¹, Finardi Amanda J¹, Menezes Luciana SR², Pedro Heloisa SP², Cavalcante Ricardo S³, Baptista Ida MFD¹. ⁽¹⁾ Microbiologia, Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, BR. ⁽²⁾ Centro de Laboratórios Regionais (CLR), Instituto Adolfo Lutz, Bauru, BR. ⁽³⁾ Micologia, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, BR.

Introdução: A busca ativa de contatos é imprescindível para o controle e a interrupção da cadeia de transmissão da tuberculose (TB). Nesse contexto, as prisões são ambientes que favorecem a transmissão da TB e estudos de epidemiologia molecular contribuem no rastreamento e na identificação de *clusters* que contribuem na manutenção da cadeia de transmissão. **Metodologia:** Num painel de 530 amostras de DNA avaliados no período de 2012 a 2014 foram identificados 20 pacientes com relação fechada para transmissão da TB. As amostras de DNA desses pacientes foram submetidas a análise de 24 loci MIRU-VNTR e detecção da região de deleção *RD^{Rio}*. Os dados clínico-epidemiológicos dos paciente foram obtidos do Sistema Controle de Pacientes com Tuberculose (TBWeb) do Estado de São Paulo. **Resultados:** Os 20 pacientes dividiam-se em 9 *clusters* com ligações epidemiológicas. Os *clusters* 1, 3, 8 e 9 eram formados por 2 pacientes cada e com link epidemiológico confirmados por relação familiar e em todos os grupos um dos pacientes foi diagnosticado a partir da investigação de contato com paciente com TB. No *cluster* 4, dois pacientes dividiam a mesma cela de uma penitenciária e foram diagnosticados com 2 meses de diferença. Os *clusters* 5, 6 e 7 formados com 2 pacientes cada com relação familiar e 1 em cada grupo no momento do diagnóstico estava em presídio. Os *clusters* 1, 3, 6, 8 e 9 apresentavam 100% de similaridade na análise pelos 24 loci MIRU-VNTR. Nos *clusters* 2, 4, 5 e 7 foi verificada a diferença de 1 repetição nos loci MIRU39, MIRU40 e ETR-A e MIRU 40 respectivamente. A deleção *RD^{Rio}* foi observada nos *clusters* 4, 5, 7, 8 e 9. **Discussão:** O estudo demonstra a importância da vigilância de contatos e da implementação de estratégias eficazes de intervenção para a interrupção da transmissão da TB em unidades prisionais.

Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo. Processo n°2013/09538-3

MI031

Caracterização molecular de *Mycobacterium pinnipedii* isolado em um Leão Marinho do Sul (*Otaria flavescens*) de vida livre no Sul do Brasil

Melo Aryse M.¹, Silva Filho Rodolfo P.¹, **Andrea Von Groll**², Reis Ana J.², Diniz Jaciara L.C.G.², João Perdigão³, Isabel Portugal³, Almeida Da Silva Pedro E.², Xavier Melissa O.⁴. ⁽¹⁾ Centro de Recuperação de Animais Marinhos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, BR. ⁽²⁾ Núcleo de Pesquisa em Microbiologia Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, BR. ⁽³⁾ Instituto de Investigação do Medicamento, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, PT. ⁽⁴⁾ Laboratório de Micologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, BR.

Mycobacterium pinnipedii, membro do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), é o principal agente etiológico da tuberculose em focas e leões marinhos. Apesar dos membros desse complexo diferirem fenotipicamente, a similaridade genética entre as espécies é alta, podendo ultrapassar 99,9% em nível de DNA e sequências idênticas de 16S rDNA. Nesse sentido, a identificação desses microrganismos pode ser feita a partir de assinaturas evolutivas obtidas através de métodos moleculares, sendo o Spoligotyping uma ferramenta amplamente utilizada para este propósito entre membros do MTBC. Esse trabalho tem como objetivo a caracterização molecular de *M. pinnipedii* isolado de um leão marinho do Sul (*Otaria flavescens*) de vida livre, encontrado no Sul no Brasil. O leão marinho era uma fêmea encontrada debilitada na Praia do Mar Grosso, município de São José do Norte, Rio Grande do Sul, Brasil. Após o resgate o animal faleceu com suspeita de Tuberculose. O isolado de *M. pinnipedii* foi obtido a partir do cultivo em tubo MGIT de uma amostra de um granuloma pulmonar coletada durante a necropsia do animal. Após a extração do DNA genômico, o bacilo foi confirmado como pertencente ao MTBC pela amplificação por PCR do fragmento de 245 pb do elemento de inserção IS6110. O método Spoligotyping foi realizado utilizando-se kit comercial. O padrão spoligotype obtido foi comparado com o banco de dados SITVITWEB, e o formato octagonal 074000037777600 foi identificado como o genótipo SIT 593 e pertencente ao clã PINI1. Este padrão genotípico, o qual é característico de *M. pinnipedii*, foi identificado previamente em pinípedes encontrados no Uruguai, Argentina e Austrália. A caracterização molecular deste isolado de *M. pinnipedii* permitiu confirmar a espécie do membro MTBC e contribuir para o conhecimento de sua distribuição mundial.

FAPERGS - CNPq - DECIT/Ministério da Saúde do Brasil

MI032

Genómica comparativa de aislamientos clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* linaje 4 de alta y baja prevalencia en la zona nor-oriental de Medellín–Colombia

Uriel Hurtado Páez^{1,2}, Teresa Realpe Quintero^{2,3}, Veronica Gomez Tangarife², Jaime Robledo^{2,3}, Francois Rouzaud^{2,4}.

⁽¹⁾ Área Curricular Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, CO. ⁽²⁾ Unidad de Bacteriología y Micobacterias, Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, CO. ⁽³⁾ Escuela de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina, Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, CO. ⁽⁴⁾ EQUOLS, Equal Opportunity Life Sciences, Saint-Étienne, FR.

Introducción: *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) linaje 4 posee la mayor distribución geográfica alrededor del mundo y por tanto es responsable de la mayor carga de tuberculosis humana en el planeta. En la zona nor-oriental de Medellín existe una alta prevalencia de los sub-linajes LAM9-SIT42 y Haarlem1-SIT62 comparado con otros sub-linajes presentes en la misma zona geográfica, los mecanismos mediante los cuales los aislamientos de alta prevalencia adquieren la capacidad de propagarse más exitosamente dentro de una misma población son desconocidos. Este estudio tuvo el objetivo de determinar características genéticas asociadas a la alta y baja prevalencia de estos aislamientos a través del análisis de diferentes polimorfismos genéticos de MTB usando herramientas de genómica comparativa. **Metodología:** Un total de 48 aislamientos de MTB colectados entre 2005-2010 (27 de alta y 21 de baja prevalencia) previamente genotipados mediante spoligotyping y 24-locus MIRU-VNTR, fueron incluidos para este estudio. Se cultivaron en medio Middlebrook 7H11 tres semanas. La extracción de ADN se realizó mediante CTAB–cloroformo–alcohol isoamílico. La secuenciación se realizó mediante tecnología Illumina HiSeq2500. Para el análisis *in-silico* se realizó el ensamblaje *de novo* con Spades y Soapdenovo2, la anotación se realizó con Prokka. El análisis de genómica comparativa para la identificación de SPNs e indels se realizó con Pilon, Mauve, Get-homologes y Scoary. La reconstrucción filogenética se realizó por métodos de parsimonia y máxima verosimilitud. **Resultados:** Se determinó que el pangenoma de MTB linaje 4 está constituido de un total de 4.846 genes ortólogos. El 73.5% (3.566) del pangenoma corresponde a los genes comunes conservados en el 100% de los genomas (Core) y el 26.5% (1.280) corresponde al genoma accesorio o genes de adaptación. El análisis genómico comparativo permitió la identificación de 115 genes con un P-valor < 0.01, los primeros 10 genes presentaron la mayor significancia, con fuerte asociación a la prevalencia, estos poseen diferencias a nivel de SNPs e Indels. **Conclusión:** Se determinó el pangenoma de MTB linaje 4. Algunos de los diferentes polimorfismos identificados en este estudio podrían explicar por qué algunos aislamientos de MTB se propagan más exitosamente dentro de una población, además de servir como posibles biomarcadores de transmisión, patogenicidad o virulencia.

Colciencias

MI033

Comparación de PCR tiempo real Boviman® y PCR tiempo real utilizando IS1081 en lesiones granulomatosas dentro del programa nacional de control y erradicación de tuberculosis bovina en Chile

Paulina Zurita U.¹, Carolina Aguayo B.¹, Loreto Díaz A.¹, Nicolás Valdivieso C.², Gabriela Morales T.², Carla Noli S.³, Ihanella Pacheco B.³. ⁽¹⁾ Departamento Laboratorio y Estaciones Cuarentenarias Agrícola y Pecuaria, Servicio Agrícola y Ganadero, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Sanidad Animal, División de Protección Pecuaria, Servicio Agrícola y Ganadero, Santiago, CL. ⁽³⁾ Laboratorio Regional Osorno, Servicio Agrícola y Ganadero, Osorno, CL.

Introducción: El Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) en su programa de control y erradicación de tuberculosis bovina (TBb) incluye como prueba de *screening* para detección de *Mycobacterium bovis*, la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-RT), mediante el kit Boviman®. El año 2017 la Organización Mundial de Salud Animal (OIE) incorpora un nuevo capítulo referido a la infección por complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB). Con el objetivo de integrar este nuevo enfoque, se determina realizar un estudio de concordancia entre la técnica PCR-RT actual utilizada por el SAG y un nuevo protocolo que incluye la secuencia de inserción 1081 (IS1081) orientada al diagnóstico de CMTB.

Materiales y métodos: Se analizaron muestras correspondientes a extractos de ADN provenientes de linfonódulos con lesiones granulomatosas, incluyendo muestras positivas y negativas, determinadas por técnica PCR-RT Boviman® y cultivo en medio Stonebrink. Estas muestras se sometieron al análisis de PCR-RT para IS1081, según protocolo descrito por Dykema *et al.*, 2016. Los resultados obtenidos se sometieron al análisis de concordancia utilizando el coeficiente kappa de Cohen (k). **Resultados** Al comparar los resultados obtenidos por PCR-RT IS1081 en relación a PCR-RT Boviman®, se obtuvo un índice de concordancia de 0,89 y un k de 0,76. De las muestras, 7 fueron negativas por PCR-RT IS1081, pero positivas por Boviman®, de éstas 4 tuvieron resultados positivos por cultivo, esto podría interpretarse como una menor sensibilidad de la prueba, contrario a lo esperado, considerando que IS1081 se ha encontrado entre 5 a 6 copias en cepas del CMTB (Van Soolingen *et al.*, 1992). Sin embargo, la PCR-RT IS1081 identificó 8 muestras positivas a CMTB, las que fueron negativas por Boviman®, de las cuales 7 presentaron cultivo positivo. **Conclusión** La concordancia observada (0,89) y el índice k (0,76) muestran que las pruebas son altamente concordantes, como para incorporar la PCR-RT IS1081 al flujograma diagnóstico de TBb del SAG. La fortaleza del diagnóstico de TBb está en utilizar varias herramientas diagnósticas, es así como la utilización del cultivo es incluida para identificar los posibles falsos negativos obtenidos mediante la técnica PCR-RT.

MI034

Insights into biosynthetic gene clusters of a novel marine rare *Actinomycete* from Valparaíso bay

Fernanda Claverías¹, Andrés Cumsille², **Beatriz Patricia Cámara**². ⁽¹⁾ Centro de Biotecnología, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Química/Centro de Biotecnología, Química/Centro de Biotecnología, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL.

Antimicrobial resistance is a growing public health threat and there is an imperative demand for new antimicrobial compounds. Actinomycetes are Gram-positive bacteria responsible for producing approximately 70% of the antibiotics used in human medicine, being the *Streptomyces* genera the most outstanding group. Soil *Streptomyces* was the traditional source of antimicrobial compounds; however, the number of new scaffolds have decreased. Hence, the search for new compounds is being redirected towards unexplored environments and new groups of actinomycetes. Rare actinomycetes (RA) are defined as non-*streptomyces* strains, whose isolation is less frequent by conventional methods. The isolation of RA has arisen more than 200 genera, from which is reported the production of more than 2,500 bioactive compounds, representing more than the 25% of the total actinomycete metabolite production. Bioinformatic approaches using whole genome sequencing, have opened new opportunities in the exploration of metabolic capabilities of a new bacterium. Working with classic methodologies, such as activity-based screening, and genome mining strategies could bring the opportunity to elucidate the potential of RA for bioactive compound biosynthesis. Bioprospection of actinomycetes from Chilean marine environments has demonstrated the great biodiversity that inhabits our littoral. This study focuses on strain VN6-2, a new marine rare actinomycete that was discovered from Valparaíso Bay. A low similarity of the 16S rRNA gene and several phylogenetic analyses showed that strain VN6-2 appears to represent a new taxon within the *Nocardiopsaceae* family. Preliminary tests showed a strong inhibitory effect against both Gram positive and Gram negative model strains. Genome mining of strain VN6-2 revealed the presence of 10 biosynthetic gene clusters (BGCs). Seven of those clusters belong to polyketide synthase and ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides (RiPPs), such as lantipeptide, lassopeptide, and thiopeptide and have a low similarity with known BGCs. Our study reveals the genomic potential to produce bioactive compounds from a RA.

FONDECYT 1171555, Anillo project ACT172128, Ph.D. fellowship Conicyt (FC)



MI035

Biofilm architectural breakdown in response to antibiotics facilitates community invasion

Francisco Díaz-Pascual¹, Raimo Hartmann¹, Martin Müller², Lucia Vidakovic¹, Boya Song³, Jörn Dunkel³, Hannes Link², Carey Nadell⁴, Knut Drescher⁵. ⁽¹⁾ Drescher Lab, Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, D-35043 Marburg, DE. ⁽²⁾ Link Lab, Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, D-35043 Marburg, DE. ⁽³⁾ Department of Mathematics, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA, US. ⁽⁴⁾ Department of Biological Sciences, Dartmouth College, Hanover, NH 03755, CL. ⁽⁵⁾ Department of Physics, Philipps University Marburg.

Bacterial biofilms often encounter environment changes that lead to stress. However, it is still unclear how do they respond to these changes from a single cell level and an architectural point of view. One of these environmental fluctuations is the exposure to antimicrobial compounds, for which biofilms are highly tolerant. Here we show how *Vibrio cholerae* biofilms respond to antibiotic stress by using confocal microscopy and single cell tracking, together with metabolomics and *in silico* simulations. We found that translational inhibition causes an increase in cell volume and a decrease in cell density in comparison to untreated biofilms. These changes are due to an active mechanism, where cells need to be metabolic active. They lead to a breakdown of the cell-matrix interactions due to changes in the properties of the matrix protein RbmA, for which the putative polysaccharide lyase, RbmB, is necessary. The detachment between the cells and matrix create gaps in the biofilm structure that can be used by invader cells to colonize the biofilm with important consequences for the development and study of antibiotics, and their ecological impact. All these alterations can be mainly explained by mechanical interactions, and they were recapitulated by computational simulations.

MI036

Atividade antibacteriana de *Tropaeolum majus* L. frente a *Staphylococcus* multirresistentes isolados de cães

Gonçalves Daniela D¹, Marchetti Isabella De Fatima L¹, Santos Isabela Carvalho¹, Barbosa Lidiane N¹, Caetano Isabel CS¹, Silva Gustavo R¹, Soares Andréia A², Martins Lisiane Almeida¹. ⁽¹⁾ Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos, UNIPAR, Universidade Paranaense, Umuarama, BR. ⁽²⁾ Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu Mestrado Profissional em Plantas Medicinais e Fitoterápicos na Atenção Básica, UNIPAR, Universidade Paranaense, Umuarama, CL.

A cavidade nasal de cães revela uma variedade de bactérias, algumas delas patogênicas. Dentre esses micro-organismos destacam-se os *Staphylococcus* spp. que são capazes de adquirir resistência a vários antibióticos, especialmente a metilina. Frente ao quadro da resistência bacteriana, novas alternativas terapêuticas devem ser buscadas e as plantas e seus compostos bioativos se destacam devido ao potencial antimicrobiano. O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana do extrato de *Tropaeolum majus* frente a cepas de *Staphylococcus* isoladas da cavidade nasal de cães. Foi coletado o swab nasal de 100 cães domiciliados, saudáveis, de ambos os sexos, com raças e idades variadas. Cada amostra foi semeada em meio de Baird Parker, incubada a 37°C por 48 horas e as colônias isoladas foram analisadas quanto as suas características macroscópicas, microscópicas e provas bioquímicas. Na sequência foi determinado o perfil de sensibilidade a 10 antibióticos por meio de disco difusão. As cepas consideradas resistentes a oxacilina foram submetidas ao teste de microdiluição em caldo para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) frente ao extrato hidro alcoólico de *T. majus* (70%). O teste foi conduzido em Muller Hinton Broth com concentrações de extrato variando de 10 a 150 mg/mL, inóculo bacteriano de 105 UFC/mL e revelação dos resultados com 2,3,5 cloreto trifeniltetrazólio a 10%. Posteriormente, alíquotas foram semeadas em Muller Hinton Agar para a determinação da concentração bactericida mínima (CBM). Foram caracterizadas 40 cepas de *Staphylococcus* resistentes a metilina (MRS). Neste total 87,5% apresentaram resistência a três ou mais antibióticos, e cerca de 43% destas a pelo menos sete antibióticos. A concentração de 114 mg/mL foi capaz de inibir 90% das cepas e, não foi verificado efeito bactericida até a máxima concentração testada (150 mg/mL). Foi encontrado um alto índice de MRS (40%) na cavidade nasal de cães saudáveis e devido ao perfil de multirresistência, estas cepas se apresentam com um risco a saúde pública e única. O extrato de *T. majus* apresentou atividade inibitória frente a todos os MRS se revelando como promissor antibacteriano.

Agradecimento ao DEGPP da UNIPAR.

MI037

Local dissemination of *dfrA7* gene within class 1 integron from *Escherichia coli* isolated from flies and calves

Alves Taila S¹, Lara Gustavo HB², Ribeiro Márcio G², Leite Domingos S¹. ⁽¹⁾ Genética, Evolução, Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, BR. ⁽²⁾ Higiene Veterinária e Saúde Pública, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, BR.

Animal husbandry environment serves to synanthropic flies development. Species as *Musca domestica* exhibit wandering behavior and circulate between contaminated and not contaminated sources (manure and foods, for instance). This behavior contributes to the environmental spread of microorganisms from animal feces. Looking for providing evidence to dissemination by flies of *Escherichia coli* harboring antimicrobial resistance genes, we seek to characterize the antimicrobial resistant determinants from *E. coli* isolated from the manure of healthy calves and to compare to results of an earlier study performed by us. In the previous study, we characterized eight *E. coli* class 1 integron positive isolated from the external surface of flies. Manure samples and flies were collected on a dairy farm (Botucatu, SP, Brazil). Antimicrobials susceptibility was performed by disc diffusion test. Resistance genes (*bla*TEM, *bla*CTX-M, *bla*SHV, *ampC*, and *tetA*) and integrons (*int11*, 5'CS-3'CS, *int12*, *att*-ORFX) were assayed by PCR. The insertion region of gene cassette (5'CS-3'CS) was sequencing using Sanger method for integron-positive *E. coli*. Integron-positive *E. coli* were classified according to phylogroups by PCR and plasmid incompatibility groups (Inc) by PCR-based replicon typing. Conjugation assay also was performed. From 288 *E. coli* from calves' feces, 12 showed class 1 integron (*int11*+5'CS-3'CS). Most integron-positive *E. coli* (11/12; 91.6%) were assigned to commensal phylogroups, 9/12 (75%) were multidrug resistant (MDR, resistant to ≥ 3 antimicrobial classes), and 10/12 (83.3%) transferred class 1 integron under tetracycline pressure (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Six integron-positive *E. coli* were selected for sequencing and showed integron arrangement with one copy of *dfrA7* gene, equally the integron-positive strains isolated from flies, studied previously. Four *dfrA7* sequences from calves' isolates showed 100% of identity with *dfrA7* gene from flies' isolates. Antimicrobial resistance genes and Inc group found in calves and flies were diverse (I, N, HI1, HI2, FIA, FIB, P, K, and F), but I and N Inc groups were found only in *E. coli* from flies. The gene cassette identity, in apparently unrelated strains, indicates the potential *dfrA7* gene dissemination by conjugation associated with tetracycline resistance within the studied farm. This may have been facilitated by flies carrying MDR strains.

FAPESP (2015/15425-2)

MI038

Resistencia a compuestos de amonios cuaternarios (QAC) en bacterias de importancia médica en la interface humana-ambiente-animal: Un desafío para los laboratorios de microbiología clínica

Muñoz M E¹, Q Moura³, Fernandes M R¹, V Bueris¹, L Melo¹, Sellera F P⁴, R Lopes⁴, L Cerdeira¹, L Sartori¹, Monte D F², M Landgraf², N Lincopan¹. ⁽¹⁾ Departamento de Fisiopatologia y Toxicologia, Universidad de Sao Paulo, Sao Paulo, BR. ⁽²⁾ Departamento de Alimentos y Nutrición Experimental, Universidad de Sao Paulo, Sao Paulo, BR. ⁽³⁾ Instituto de Ciências Biomédicas II, Universidad de Sao paulo, Sao Paulo, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Medicina Interna, Universidad de Sao Paulo, Sao Paulo, BR.

Compuestos de amonio cuaternario (QAC) han sido ampliamente utilizados como desinfectantes y antisépticos, siendo esenciales para el control de infecciones humanas y veterinarias. Bacterias clínicamente importantes han sido caracterizadas por su perfil de resistencia a los antibióticos, la resistencia a antisépticos/desinfectantes ha sido negligenciada. El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad *in vitro* (CIM) de desinfectantes de uso doméstico y hospitalario [cloruro de benzalconio (BAC), cloruro de cetilpiridinio (CPC) y bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB)] contra bacterias Gram negativas aisladas de muestras humanas, veterinarias, ambientes acuáticos y alimentos. fueron evaluadas 81 cepas por el método de microdilución en caldo, los resultados de las CIM-90 analizadas para BAC, CPC y CTAB (64, 32 y 64 µg/ml,) de las cuales 50 cepas fueron seleccionadas y secuenciadas utilizando Illumina NextSeq e/ou MiseQ plataformas, el análisis *in silico* de estos datos buscando mecanismos de resistencia a QACs se realizó a través del alineamiento de genes QAC de referencia, contra los contigs de todas cepas utilizando el programa Geneious como resultado esta análisis revelo la presencia de genes QAC (genes identificados / N^o total de bacteria) em: *K. pneumoniae* [*qacEΔ1* (14/ 22),], [*qacA* (13/22),], [*qacE* (13/22),], [*mdfA* (21/22),], [*qacH* (1/22),], [*qacL*(1/22),], *E. coli*, [*qacEΔ1* (10/18),], [*sugE(c)* (6/18),], [*qacE* (8/18),], [*mdfA* (12/18),], [*sugE(p)*(14/18),], [*emrE* (13/18),], *P. aeruginosa*, [*qacEΔ1* (4/5),], [*qacF* (3/5),], [*qacE* (3/5),], [*mdfA* (1/5),], [*qacH* (2/5),], [*qacL*(3/5),], *Enterobacter spp.*, [*qacEΔ1* (1/5),], [*sugE(c)* (1/5),], [*qacE* (1/),], [*mdfA* (5/5),], y 3 cepas no presentaron ningún gen de resistencia para QAC. Estos resultados sugieren que bacterias Gram negativas clínicamente importantes, han sido expuestas a compuestos de amonio cuaternario QACs, presentando resistencia por la adquisición de diferentes determinantes genéticos. Ante el amplio uso de QACs en medicina humana y veterinaria, la evaluación de la actividad *in vitro* de QACs por el laboratorio de microbiología es necesaria para apoyar el uso racional de estos compuestos. Así, el establecimiento y padronización de puntos de corte para criterios de interpretación de la susceptibilidad a los QACs es una prioridad.

Este trabajo fue financiado, por la Coordinación de Aperfeccionamiento del Personal de Nivel Superior (CAPES), y la Fundación de Amparo a la investigación del Estado de Sao Paulo (FAPESP).

MI039

Efecto sinérgico de antimicrobianos y soluciones hipertónicas de solución salina contra *biofilms* producidos por clones hospitalares de alto riesgo del grupo ESKAPE

Fernanda Esposito¹, Vanessa Bueris², Couto Samuel C.F.³, Fernandes Miriam R⁴, Louise Cerdeira⁴, Nilton Lincopan.

⁽¹⁾ Departamento de Fisiopatología y Toxicología, Facultad de Ciências Farmacéuticas, Universidad de São Paulo, São Paulo, BR. ⁽²⁾ Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidad de São Paulo, São Paulo, BR. ⁽³⁾ Laboratorio de Genética Bacteriana, Instituto Butantan, Universidad de São Paulo, São Paulo, BR.

⁽⁴⁾ Departamento de Fisiopatología y Toxicología, Facultad de Ciências Farmacéuticas., Universidad de São Paulo, São Paulo, BR.

Patógenos ESKAPE representan un grupo importante de bacterias resistentes a múltiples Antibióticos (MR), siendo frecuentemente identificados en infecciones asociadas a biofilms, como en fibrosis quística, endocarditis, osteomielitis y heridas crónicas. Por lo tanto, la complejidad y el costo de las infecciones asociadas a biofilms siguen siendo un desafío urgente para la medicina humana. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la eficacia de agentes físicos y químicos para desarrollar una estrategia alternativa efectiva contra biofilms producidos por patógenos del grupo ESKAPE. (*E. faecium* ST478/VRE, *S. aureus* ST5/MRSA, *K. pneumoniae* ST340/KPC-2, *A. baumannii* ST79/OXA-23, *P. aeruginosa* ST277/SPM-1, *E. cloacae* ST131/CTX-M-8, *E. coli* ST10/MCR-1). El efecto antibiofilm de antibióticos (carbapenems, fluoroquinolonas y aminoglucósidos), compuestos de amonio cuaternario [QAC; cloruro de benzalconio (CBA) y cloruro de cetilpiridinio (CCP)] y soluciones hipertónicas de cloruro de sodio (SHCS) fue evaluada, así como el potencial sinérgico entre antibióticos y SHCS; y entre QACs y SHCS. Inicialmente, cerdas de poliamida fueron usadas como modelos de superficie de adhesión para el crecimiento de biofilms, evaluados por microscopía electrónica de barrido (MEB). Posteriormente, cerdas conteniendo biofilms fueron inseridas en larvas de *Galleria mellonella*. *In vitro*, SHCS presentó un efecto bacteriostático (CIM90= 1,7 M) frente a todos los aislados analizados; por otro lado, QACs presentaron una concentración mínima de erradicación de biofilm, CMEB90, de 256 µg/mL, contra biofilm de 24-h. La actividad de QACs y antibióticos se potenció en presencia de SHCS, resultando en una disminución de la CIM ≥4-veces. Finalmente, los biofilms de 08, 12 y 24-h produjeron 100% de muerte de larvas de *G. mellonella* dentro de las 72-h posteriores a la infección. Sin embargo, para biofilms de 08, 12 y 24 h el tratamiento profiláctico con SHCS con posterior terapia antibacteriana resultó en aumento de la sobrevivencia de *G. mellonella* hasta 80, 70 y 40%, respectivamente, con relación al tiempo de maduración de el biofilm. En resumen, el uso combinado de soluciones salinas hipertónicas con antibióticos demostró un alto potencial terapéutico, que se refleja en el aumento de la sobrevivencia de el modelo *in vivo*, constituyendo una alternativa terapéutica efectiva contra biofilms producidos por patógenos ESKAPE.

Este trabajo fue apoyado por becas de investigación de la Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2016 / 08593-9).

MI040

Evaluación antimicrobiana de péptidos sintéticos en *Escherichia coli* productora de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

Estefania Fandiño Devia¹, Marcela Manrique Moreno¹, Edwin Patiño González¹. ⁽¹⁾ Grupo de Bioquímica Estructural de Macromoléculas, Instituto de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, Medellín, CO.

Escherichia coli es una de las bacterias frecuentemente implicadas en infecciones adquiridas en la comunidad y nosocomiales. El incremento de *E. coli* con mecanismos de resistencia a antibióticos β -lactámicos se ha reportado desde el inicio de la era antibiótica, llegando al punto de adquirir mecanismos de resistencia como las β -lactamasas de espectro extendido capaces de resistir el efecto de antimicrobianos de amplio espectro como cefalosporinas de tercera generación, lo que se convierte en un problema de salud pública global. En este contexto tiene lugar la investigación de nuevos antimicrobianos como respuesta a la creciente necesidad de enfrentar eficazmente el aumento en la resistencia bacteriana y la limitación de los métodos terapéuticos disponibles. Por lo anterior se evaluarán dos péptidos sintéticos ($\Delta M3$ y $\Delta M4$), con posible actividad antimicrobiana. El diseño metodológico incluye la determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC) de los péptidos $\Delta M3$ y $\Delta M4$ mediante la técnica de microdilución en placa, siendo $40 \mu M$ y $0,312 \mu M$ las concentraciones máxima y mínima utilizadas, Como control positivo se usó Meropenem. La evaluación de citotoxicidad se realizó en eritrocitos humanos extraída de donantes sanos sin terapia antibiótica previa, esta fué sometida a diferentes concentraciones de los péptidos, como control positivo se utilizó Tritón y como control negativo PBS. Finalmente, el uso de liposomas mediante la técnica espectroscopia infrarroja se hizo con el objetivo de evaluar como los péptidos interaccionan con los lípidos más representativos de la membrana de *E coli* (fosfatidilglicerol y fosfatidiletanolamina). Los resultados de la evaluación de la actividad de los péptidos $\Delta M3$ y $\Delta M4$ demuestran que estos tienen potencial acción antimicrobiana en *E. coli*, con una CIM de $2,1$ y $4,6 \mu M$ respectivamente. La concentración bactericida mínima (CBM) para todas las cepas evaluadas con los péptidos fue de $10 \mu M$. El porcentaje de hemólisis para $\Delta M3$ a $40 \mu M$ y $1,25 \mu M$ fue de $12,3\%$ y 0% , respectivamente. En el caso de $\Delta M4$ se obtuvo un valor de 76% y 2% ; lo que sugiere que el péptido $\Delta M3$ tiene menor actividad citotóxica y, por tanto, sería el mejor candidato en el desarrollo de una terapia antimicrobiana futura.

Proyecto CODI 2015-7669, grupo de Bioquímica Estructural de Macromoléculas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, Grupo de Microbiología Básica y Aplicada, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia.

MI041

Avaliação do perfil de sensibilidade antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* de infecções do trato urinário, Novo Hamburgo, RS–Brasil

Nathalia Feltes¹, Santos Larissa Dos², Carvalho Diésica F.², Jussara Castelan². ⁽¹⁾ Laboratório Exame de Análises Clínicas, Microbiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽²⁾ Microbiologia, Laboratório Exame de Análises Clínicas, Novo Hamburgo - BR, Novo Hamburgo, BR.

A infecção do trato urinário (ITU) é uma das principais infecções bacterianas encontradas tanto na comunidade como no ambiente hospitalar, acometendo principalmente mulheres. É causada por bactérias conhecidas como uropatógenos, sendo a *Escherichia coli* a mais prevalente. A presença de bactérias na urina pode causar desde uma bacteriúria assintomática até a evolução para casos mais graves como pielonefrite. Desta forma, é extremamente importante a realização de culturas para identificação do microrganismo e determinação do seu perfil de sensibilidade. O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de sensibilidade antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* de infecções do trato urinário na cidade de Novo Hamburgo e região, Rio Grande do Sul, Brasil.

Foi realizado um estudo retrospectivo de uroculturas, do período de Janeiro e Fevereiro de 2018, em um laboratório de atendimento de baixa complexidade da cidade de Novo Hamburgo. Foram incluídos apenas os resultados positivos para *E. coli*. Os 688 isolados (92,3% mulheres) incluídos na amostra apresentaram o seguinte percentual de resistência aos antimicrobianos: ampicilina 39,2%, amoxicilina/ácido clavulânico 4%, cefazolina 5,5%, gentamicina 6,8%, norfloxacina e ciprofloxacina 18,7%, sulfametoxazol/trimetoprima 25,3% e nitrofurantoína 2,2%. Dentre os isolados, 38 (5,5%) foram submetidos a testes com mais antibióticos e a utilização de ácido clavulânico como inibidor de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL). Destes, 23 (3,3%) apresentaram produção de ESBL e um isolado apresentou resistência aos carbapenêmicos.

Com este estudo, verifica-se que os isolados de *Escherichia coli* presentes em infecções do trato urinário desta região demonstram maior resistência a ampicilina, sulfametoxazol/trimetoprima e as fluoroquinolonas, porém ainda apresentam um bom perfil de sensibilidade aos antimicrobianos. O percentual de produtores de ESBL e de possíveis produtores de carbapenemases foi baixo.

MI042

Potente atividade virucida de um composto fenólico contra o *Mayaro virus*

Ferraz Ariane Coelho³, Moraes Thaís De Fátima Silva⁴, Cruz Waleska Stephanie⁴, Duarte Lucienir Pains¹, Vieira Filho Sidney Augusto², Magalhães Cintia Lopes B³, Magalhães José Carlos⁴. ⁽¹⁾ Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽²⁾ Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Biologia e Tecnologia de Microrganismos, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Química, Biotecnologia e Engenharia de Bioprocessos, Universidade Federal de São João del Rei, Ouro Branco, BR.

O *Mayaro virus* (MAYV) é um arbovírus subletal transmitido por *Haemagogus janthinomys* de hábito silvestre, conhecido por ser endêmico apenas de regiões ribeirinhas da Amazônia. No entanto, recentemente, após seu isolamento em algumas metrópoles e estudo que mostrou o potencial do *Aedes aegypti* em transmiti-lo, revelou-se uma ameaça latente ao sistema de saúde pública, sendo classificado como um vírus emergente. Com sintomas que são confundidos aos da Febre Dengue e outras arboviroses, a Febre Mayaro é uma doença altamente debilitante, na qual artralgias graves podem persistir por meses após a infecção. Além da inexistência de um sistema de diagnóstico eficiente, não há terapia ou vacina disponíveis contra esse vírus. Assim, o objetivo do trabalho foi investigar a presença de atividade antiviral contra o MAYV de um composto fenólico (FMI) isolado de planta da Família Celastraceae. Preliminarmente, na determinação da concentração citotóxica para 50% das células (CC50), nem mesmo a maior concentração (1600 μ M) foi capaz de reduzir a viabilidade celular. Pelos ensaios antivirais *in vitro*, a concentração efetiva/protetiva para 50% das células infectadas pelo MAYV (CE50) foi determinada, sendo igual a 38 \pm 3,5 μ M, e um índice de seletividade (IS) acima de 40. Na avaliação dos mecanismos de ação, FMI mostrou uma potente atividade virucida, sendo capaz de inibir 100% da produção de vírus (ou até 7 unidades logarítmicas) em concentrações a partir de 50 μ M (moi 0,1), comparada às células apenas infectadas (controle viral). Moderada atividade antiviral na etapa de penetração do vírus a partir da concentração de 160 μ M também foi observada, mas nenhuma ação foi verificada na adsorção viral. Quando adicionado em diferentes momentos após a infecção na concentração de 50 μ M, ainda que menos pronunciada, uma redução de 15 vezes no número de unidades formadoras de placas virais (UFP) foi observada, principalmente quando adicionada nos períodos iniciais do ciclo viral. Dessa forma, os resultados em conjunto nos dão indícios que FMI se liga a elementos virais e não celulares, sendo capaz de inativar o vírus antes da infecção ou quando ele se torna extracelular, numa ação que poderia bloquear seu avanço célula-a-célula ou a tecidos ainda não infectados.

UFOP, UFSJ, Capes e Fapemig

MI043

Efeito do óleo essencial do fruto de *Juniperus communis* no biofilme de *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*

Sousa Nágila Caroline Fialho, Gonzaga Laoane Freitas¹, Silva Thayla Araújo¹, Melo Brunna Oliveira¹, Carvalho Junior Alesxander Rodrigues¹, Pontes Jaqueline Pessoa¹, Pereira Domingos Magno Santos¹, Neto Valério Monteiro², Da Silva Luís Claudio Nascimento¹, Ferro Thiago Azevedo Feitosa¹, Fernandes Elizabeth Soares¹. ⁽¹⁾ Pós graduação em Biologia Parasitária, Universidade Ceuma, Sao Luis, BR. ⁽²⁾ Pós graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, Sao Luis, BR.

Introdução: Infecções hospitalares causadas por bactérias gram-positivas ou gram-negativas são dificilmente combatidas por uma terapêutica de rotina, a qual consiste no uso de antibióticos. Produtos naturais são importantes fontes de compostos antimicrobianos. *Juniperus communis*, conhecido popularmente como zimbro, possui fruto largamente utilizado na culinária, entretanto, sua atividade antimicrobiana tem sido pouco explorada. Assim, avaliou-se o efeito antimicrobiano do óleo essencial do fruto do zimbro. **Métodos:** Para isto, utilizou-se *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Enterococcus faecalis* ATCC 19443. Foram avaliados efeitos antimicrobianos (teste de microdiluição) e anti-virulência (formação de biofilme) do óleo essencial de zimbro (0-30 µg/ml) *in vitro*. Avaliou-se também, a viabilidade e taxa metabólica bacteriana, por adição de resazurina. Veículo (2% DMSO em salina) foi utilizado como controle. **Resultados:** A incubação do óleo essencial do fruto de *J. communis* (10-30 µg/ml) reduziu a formação de biofilme por *S. aureus* e *E. faecalis*. Por outro lado, o óleo promoveu aumento do crescimento e viabilidade destas bactérias quando testado em diferentes concentrações (<3,0 µg/ml). **Conclusão:** Apesar de não inibir o crescimento de *S. aureus* e *E. faecalis*, o óleo essencial do fruto de *J. communis* apresentou importante atividade anti-biofilme nestas bactérias. Sugere-se então, um potencial anti-virulência para este óleo essencial e ressalta-se a importância de estudos mais aprofundados afim de proporcionar um maior entendimento de suas propriedades antimicrobianas.

Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPEMA e UNICEUMA

MI044

Primeiro relato de *NDM-1* (New Delhi metallo-beta-lactamase) associada a enzimas modificadoras de aminoglicosídeos (AMEs) em isolados clínicos de *Proteus mirabilis* e *Serratia marcescens* portadores de *bla*_{KPC-2} no Brasil

Firmo, Elza F.¹, Oliveira, Érica M.¹, Amaral, Renata D.¹, Beltrão, Elizabeth B.¹, Brayner, Fábio A.², Veras, Dyana L.², Lopes, Ana Catarina S.¹. ⁽¹⁾ Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, Recife, BR. ⁽²⁾ Departamento de Microbiologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhaes- CPQAM-FIOCRUZ., Recife, BR.

A disseminação crescente de carbapenemases KPC entre as enterobactérias, como também a emergência de NDM vem se destacando, porém espécies como *Proteus mirabilis* e *Serratia marcescens* ainda são negligenciadas. No Brasil, o tratamento de infecções causadas por essas bactérias geralmente é empírico, usando preferencialmente a associação de carbapenêmicos e aminoglicosídeos. A resistência a estes antimicrobianos representa uma ameaça ao controle dessas bactérias, principalmente por meio da produção de enzimas carbapenemases e enzimas modificadoras de aminoglicosídeos (AMEs), respectivamente. Diante desse contexto, o objetivo desse estudo foi a detecção fenotípica e genotípica de resistência aos carbapenêmicos e aos aminoglicosídeos em 16 isolados clínicos multirresistentes de *P. mirabilis* e *S. marcescens* provenientes de IRAs em hospitais da cidade de Recife-PE, Brasil, no período de 2016/2017. O perfil fenotípico foi determinado pelo método de difusão em ágar. A detecção genotípica foi através de PCR para os genes *bla*_{KPC-2}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{BKC-1}, *bla*_{GES}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *aph(3)-VI*, *aac(3)-Ia*, *aac(3)-IIa*, *ant(2)-Ia* e *aac(6)-Ib*, seguida de sequenciamento dos amplicons. Mais de 90% dos isolados foram resistentes ao meropenem, imipenem e ampicina, 75% resistentes ao ertapenem, 50% à tobramicina e 19% foram resistentes à gentamicina. Na análise genética, observou-se a presença do gene *bla*_{KPC-2} em 13 isolados e o gene *bla*_{NDM-1} foi encontrado em apenas dois. Quanto as AMEs, 13 isolados clínicos apresentaram o gene *aph(3)-VI*, oito o *ant(2)-Ia*, cinco e três isolados apresentaram os genes *aac(6)-Ib* e *aac(3)-IIa*, respectivamente. Os genes *bla*_{BKC-1}, *bla*_{GES}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP} e *aac(3)-Ia* não foram detectados. O perfil fenotípico dos aminoglicosídeos foi corroborado pelo perfil genotípico. A alta taxa de resistência aos carbapenêmicos pode ser explicada pela presença dos genes *bla*_{KPC-2} e *bla*_{NDM-1}. Vale ressaltar, que é o primeiro relato da presença dos genes *bla*_{NDM-1} concomitante aos genes AMEs, nas espécies *P. mirabilis* e *S. marcescens*, no Brasil. Portanto, este estudo mostra o perfil genético de resistência aos carbapenêmicos e aos aminoglicosídeos, com maior presença dos genes *bla*_{KPC-2} e *aph(3)-VI* nos isolados clínicos estudados. A ocorrência desses genes em um mesmo isolado é preocupante, tornando as opções terapêuticas cada vez mais escassas, ocasionando longos períodos de hospitalizações e altas taxas de mortalidade.

Edital Multiusuários, Propesq, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.

MI045

O óleo essencial da raiz de *Zingiber officinale* reduz a formação de biofilme bacteriano

Gonzaga Laoane Freitas¹, Sousa Nágila Caroline Fialho¹, Silva Thayla Araújo¹, Melo Brunna De Oliveira¹, Carvalho Junior Alexsander Rodrigues¹, Pontes Jaqueline Pessoa¹, Pereira Domingos Magno Santos¹, Neto Valério Monteiro², Da Silva Luís Cláudio Nascimento², Ferro Thiago Azevedo Feitosa², Fernandes Elizabeth Soares². ⁽¹⁾ Pós-graduação em Biologia Parasitária, Universidade Ceuma, São Luis, BR. ⁽²⁾ Pós-graduação Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, BR.

Introdução: *Zingiber officinale*, conhecido popularmente como gengibre, apresenta propriedades farmacológicas em extratos da sua raiz incluindo atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos. Por outro lado, os efeitos antimicrobianos e inibitórios da formação biofilmes bacterianos de seu óleo essencial têm sido pouco explorados. Avaliou-se então, o efeito antimicrobiano e antibiofilme do óleo essencial obtido da raiz do gengibre. **Métodos:** Para isto, utilizou-se *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Enterococcus faecalis* ATCC 19443. A determinação da atividade antimicrobianos do óleo de gengibre (0-30 µg/ml) foi realizada através de ensaios de microdiluição e a atividade inibitória de biofilme através de ensaio em microplacas com coloração pelo cristal violeta. Avaliou-se também, a viabilidade e taxa metabólica bacteriana, por adição de resazurina. Veículo (2% DMSO em salina) foi utilizado como controle. **Resultado:** *Z. officinale* não inibiu o crescimento bacteriano, ocasionando aumento do crescimento, viabilidade e metabolismo de *S. aureus* e *E. faecalis* quando testado nas concentrações mais elevadas testadas (3-30 µg/ml). Por outro lado, o óleo de gengibre (10-30 µg/ml) reduziu em 30% a formação de biofilme por estas bactérias. **Conclusão:** Apesar de causar aumento da viabilidade de *S. aureus* e *E. faecalis*, refletindo assim, em maior crescimento e atividade metabólica por estas bactérias, o óleo de gengibre apresentou efeito inibidor importante sobre a formação de biofilme. A formação de biofilme por bactérias permite uma maior sobrevivência e proteção contra antimicrobianos, contribuindo assim para aumento de patogenicidades das mesmas. Assim, com os dados obtidos, sugere-se que o óleo essencial de gengibre pode atuar como inibidor de patogenicidade por *S. aureus* e *E. faecalis*.

Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPEMA e UNICEUMA



MI046

Multiresistencia a metales pesados en bacterias aisladas desde un ambiente poli-extremo natural de altura en el norte de Chile

Katherine Frez¹, Saba Martínez¹, Diego Cornejo¹, Daniela Meneses^{1,2}, Cristina Dorador^{1,2}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Centre for Biotechnology and Bioengineering, (CeBiB), Santiago, CL.

El norte de Chile se caracteriza por presentar distintas condiciones ambientales consideradas extremas, tales como temperaturas que fluctúan entre los -10°C a 25°C, alta salinidad y radiación UV extrema. A esto se suma la presencia de altas concentraciones de metales pesados como el arsénico (As), boro (B), cobre (Cu) y hierro (Fe) que se localizan en la zona, estas características configuran un ambiente poli-extremo. Estudios previos han demostrado que en ambientes acuáticos del norte de Chile existe una alta diversidad microbiana la cual está altamente adaptada a estas condiciones. Debido a la constante exposición de los microorganismos a los metales pesados, se espera que estos hayan desarrollado mutiresistencia. En este estudio se analizó la diversidad cultivable de bacterias de un sistema termal ubicado a 4500 m de altura llamado “Quebrada del Zoquete”, cuyas aguas tienen temperaturas entre 12 y 80°C y pH entre 2.25 y 8.4. En este sistema se tomaron muestras de sedimento, barro y rocas desde las cuales se aislaron 143 cepas, las que fueron cultivadas en medios MB y CMD con una concentración inicial de 5 mM de As, aumentando la concentración del metal en el medio para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI). Las cepas fueron identificadas de acuerdo a las secuencias del gen 16S rRNA utilizando distintas bases de datos. Para evaluar la multiresistencia, las cepas fueron enfrentadas a concentraciones crecientes de Fe, Cu y As. Hasta el momento se han registrado 7 cepas bacterianas (e.g. *Streptomyces*, *Gemmobacter*, *Micromonospora*) que han mostraron una resistencia >100 mM de As. Se espera que las bacterias expuestas a condiciones poli-extremas posean una multiresistencia a metales pesados y que puedan servir como base para entender la multiresistencia natural y posibles aplicaciones biotecnológicas.

FONDECYT 1181773

MI047

Detection of plasmid-mediated quinolone and β -lactam resistance genes in *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from Brazilian soils

Furlan João Pedro R¹, Sanchez Danilo G¹, Gallo Inara Fernanda L¹, Stehling Eliana G¹. ⁽¹⁾ Department of Clinical Analysis, Toxicology and Food Science, School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, BR.

Stenotrophomonas maltophilia is an opportunistic pathogen widely distributed in the environment and can cause different types of infection, including pneumonia and bacteremia. *S. maltophilia* stands out due to the high level of intrinsic resistance to most of the available antibiotics. Among the antibiotics that this pathogen has no intrinsic resistance are levofloxacin and ceftazidime and the resistance to these antibiotics come in increasing and has become a major concern. Plasmid determinants are closely related to resistance to these antibiotics, which can be transferred to different bacterial genera. This study aimed to investigate the resistance profile, the presence of plasmid-mediated quinolone and β -lactam resistance genes and the plasmid families in *S. maltophilia* isolated from Brazilian soils. Soil samples were acquired from different plantation areas from several cities of Brazil. The bacterial isolation was carried out and the genomic DNA was extracted. Identification was performed using the sequencing of 23S rRNA gene. The resistance profile was performed using the minimum inhibitory concentration assay for the levofloxacin and ceftazidime. PCR reactions were performed for detection of quinolone and β -lactam resistance genes and the several plasmid families based in the replication regions. A total of 17 isolates was obtained and among them, 12 (70%) were non-susceptible (intermediate and resistant) to levofloxacin and 15 (88%) to ceftazidime, presenting MIC between 4 and > 256 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Fifteen isolates presented one or more resistance genes. Among the quinolone resistance genes, *aac(6')Ib-cr* was the most prevalent, being found in eight isolates, followed by *qnrA* (6), *qnrS* (5), *qnrB* and *oqxB* (4) and *oqxA* (3). The β -lactamase encoding gene most predominant was the *bla*_{SHV'}, being found in five isolates. The *bla*_{OXA-1-like} was detected in four isolates, the *bla*_{CTX-M-Gp1} and *bla*_{PER} in three isolates and the *bla*_{OXA-48-like} in two isolates. The ColE plasmid family was detected in all isolates and the IncL/M was detected in only one isolate. These results indicate that *S. maltophilia* isolated from soil harbor different quinolone and β -lactam resistance genes and that these genes are closely related to ColE plasmid, in which they can be transferred to different bacterial genera.

This work was supported by São Paulo Research Foundation - FAPESP [grant number 2015/18990-2].

MI048

Relação estrutura-função de peptídeos sintéticos modificados de vespa *Apoica pallens* contra *Candida albicans* e segurança em embriões de Zebrafish (*Danio rerio*)

Galeane Mariana Cristina², Gomes Paulo Cesar², Singulani Junya DeLacorte², De Souza Bibiana Monson¹, Palma Mario Sergio³, Mendes-Giannini Maria José Soares³, Almeida Ana Marisa Fusco³. ⁽¹⁾ Instituto de Biociências, Universidade Estadual paulista - UNESP, Rio Claro, BR. ⁽²⁾ Análises Clínicas, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Araraquara, BR. ⁽³⁾ Instituto de Biociências, Universidade Estadual paulista - UNESP, Rio Claro, BR.

Candidíase é uma infecção séria causada por espécies de *Candida*, principalmente *Candida albicans*. Este fungo é comensal na mucosa humana e dependendo das condições do paciente, como imunocompetência e o vírus da imunodeficiência humana (HIV), o microorganismo pode causar desde uma simples micose até uma doença sistêmica. Embora existam tratamentos antifúngicos contra muitos patógenos, a toxicidade e teratogenicidade estão presentes na maioria deles. Portanto, uma vez que tratamentos antifúngicos especialmente não teratogênicos são escassos nesta área, o estudo de modificações estruturais é essencial no desenvolvimento de novos agentes antifúngicos. Neste estudo, análogos de Mastoparanos originados de vespas com modificações no número e no posicionamento de resíduos de Lisina foram testados contra *C. albicans*. Adicionalmente, o modelo animal alternativo Zebrafish foi utilizado para ensaios de teratogenicidade. Os resultados mostraram uma boa atividade anti-*Candida* com baixa toxicidade em cultura de células (fibroblasto pulmonar) e baixa teratogenicidade em modelo Zebrafish. Além disso, análise qualitativa por espectrometria de massas foi realizada para avaliar a permeação de peptídeos no córion de embriões de Zebrafish. Foi observado que a diferença na quantidade e posicionamento de resíduos de Lisina podem modificar a atividade antimicrobiana e o comportamento dos peptídeos quando relacionado a permeação do córion.

CAPES, FAPESP, FINEP



MI049

Antibacterial potential of nonpolar fractions of metanolic and hydroalcoholic extracts of *Melipona quadrifasciata* bees species propolis

Caroline Galgowski¹, Sara Frare², Alessandro Guedes³, Caio Maurício Mendes De Cordova¹, Debora Mafra¹.

⁽¹⁾ Department of Pharmaceutical Sciences, Master's Degree Program in Chemistry, University of Blumenau, Blumenau, BR.

⁽²⁾ Department of Pharmaceutical Sciences, Biomedical Science, University of Blumenau, Blumenau, BR.

⁽³⁾ Department of Pharmaceutical Sciences, University of Blumenau, Blumenau, BR.

Background: Propolis is a natural product, a resin mixture derived from the production of the bee by the collection of plant exudates. Studies on the crude hydroalcoholic (CHE) and methanolic (CME) extraction of propolis from several species of bees demonstrate a great antibacterial potential for both *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, but have not shown so far effect against strains of *Escherichia coli*. Hence, in the present study we aimed to evaluate the antimicrobial action of the Brazilian native bee *M. quadrifasciata* propolis in relation to the above mentioned bacteria. **Methods:** Three different bacterial strains including the gram-positive *S. aureus* (ATCC 25923) and gram-negative strains of *E. coli* (ATCC 25922) and *P. aeruginosa* (ATCC 27853) were used. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) in Muller Hinton culture medium was performed on a 96-well plate as recommended by CLSI. As a positive control, gentamicin was used and the samples - CHE, CME and hexane and dichloromethane fractions of both extracts - were diluted to 2 mg ml⁻¹. The plate was treated with a methanolic solution of triphenyl tetrazolium (5 mg/ml) to reveal the bacterial growth in the presence of serial dilutions of the extract to be tested. The MIC corresponds to the previous well that the bacterial growth still occurs, corresponding to bacterial viability. **Results:** The best MIC results were found equal or below 125 µg ml⁻¹, being the most promising that of CME against *S. aureus* and *P. aeruginosa*. For *E. coli* the MIC values were also 125 µg ml⁻¹ for the hexane fractions of both CHE and CME and the dichloromethane fraction of CHE. **Conclusion:** Although the studies on bees propolis in general demonstrate better potential in relation to gram positive bacteria than gram negative, we could verify that the propolis of this bee species behaves differently probably due to the apolar characteristics present in its constituents. We are pursuing our studies to determine the chemical characteristics of this propolis type in relation to its antimicrobial activity.

FAPESC/PPSUS (2016TR2232). Scholarship aid. FURB – University of Blumenau.

MI050

Quantificação e perfil de resistência a antimicrobianos de estirpes de *Enterococcus* spp. Isoladas de ambientes de aquicultura no sul do Brasil

Araújo Alberto J. G.¹, Costa Letícia F. X.¹, Grassotti Tiela T.¹, Frazzon Ana P. G.¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia e Imunologia, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR.

A aquicultura é o setor de produção alimentício que mais cresce no mundo, sendo uma alternativa viável para a produção em detrimento dos impactos causados pela exploração dos estoques pesqueiros naturais. O despejo de efluentes domésticos sem tratamento em corpos hídricos que abastecem sistemas de aquicultura tem chamado a atenção dos produtores e também dos órgãos ambientais. Embora as bactérias do gênero *Enterococcus* resistam mais tempo na água do que os coliformes termotolerantes e sejam consideradas indicadores mais precisos de contaminação fecal recente do ambiente aquático, a legislação brasileira não estabelece limites desses micro-organismos nesses ambientes. Este estudo objetivou verificar a ocorrência de *Enterococcus* spp. em ambientes de aquicultura no Rio Grande do Sul-Brasil e traçar os perfis de resistência a antimicrobianos de uso clínico e veterinário. Foram realizadas quatro coletas durante um ano, totalizando 24 amostras de água e 12 de sedimento. Os isolados foram identificados utilizando-se o equipamento de MALDI-TOF e o antibiograma feito pela técnica de difusão em ágar. Não foi possível quantificar os enterococos no inverno e no verão. Os valores de Número Mais Provável (NMP) de enterococos/ml-g no outono e primavera foram similares, variando entre 1600 e >1600 nas amostras de água e 1000 a >1100 no sedimento. Foram isoladas e identificadas 79 cepas (38-outono; 41-primavera). Foram identificadas 5 espécies, das quais *Enterococcus casseliflavus* (15-outono; 14-primavera) e *Enterococcus faecalis* (21-outono; 14-primavera) foram mais prevalentes nas duas estações, com 36,71% e 44,31% respectivamente. *Enterococcus hirae* (n=2) só foi isolado no outono, enquanto que *Enterococcus faecium* (n=11) e *Enterococcus gallinarum* (n=2) na primavera. Os antimicrobianos Ampicilina-10µg, Cloranfenicol-30µg, Estreptomina-300µg, Gentamicina-120µg e Linezolida-50µg mostraram-se 100% eficazes contra as cepas identificadas. Nitrofurantoína-300µg (10,1%), Norfloxacin-10µg (8,9%), Tetraciclina-30µg (20,3%) e Vancomicina-30µg (8,9%) também mostraram-se eficientes, embora algumas estirpes tenham apresentado alguma resistência. Um maior número de estirpes mostrou-se resistente à Ciprofloxacina-5µg (35,5%), Eritromicina-15µg (36,7%) e Rifampicina-5µg (58,2%). A proximidade deste setor alimentício com atividades humanas demonstra a potencial importância deste setor como reservatório e disseminador de bactérias resistentes na cadeia alimentícia.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

MI051

Evaluación de diferentes antibióticos sobre comunidades bacterianas intracelulares de *Escherichia coli* uropatogénica

María José González¹, Luciana Robino², Victoria Iribarnegaray¹, Pablo Zunino¹, Paola Scavone¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, UY. ⁽²⁾ Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Instituto de Higiene, Montevideo, UY.

El principal agente etiológico causante de las infecciones del tracto urinario (ITU) es *Escherichia coli* Uropatogénico (UPEC). Como parte de la patogenicidad de UPEC, se describió la capacidad de formar comunidades bacterianas intracelulares (CBIs) en las células del epitelio de la vejiga. Así, UPEC es capaz de persistir en el tracto urinario, producir recurrencias, resistir la actividad antimicrobiana y evadir el sistema inmune. En un trabajo previo se demostró la capacidad de 2 aislamientos clínicos de UPEC (7 y 144), provenientes de muestras de orina de niños con ITU de formar CBI en células descamadas en orina. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de diferentes antibióticos sobre las CBI. Diferentes concentraciones de antibióticos fueron analizadas sobre UPEC 7 y 144 formando CBI en cultivo de células T24, proveniente de carcinoma de vejiga humana. Los antibióticos analizados fueron ceftriaxona (500, 1000 y 1500 mg/ml), ciprofloxacina (2, 3 y 5 mg/ml), azitromicina (20, 100 y 500 mg/ml). Como control negativo se empleó la amikacina (500, 1000 y 2000 mg/ml) que no es capaz de ingresar a las células. Luego de formados los CBIs, el cultivo fue incubado con cada antibiótico por 10 hs. La amikacina no presentó ningún efecto sobre las CBI, como se esperaba. La ceftriaxona, a pesar de ser un antibiótico sin actividad intracelular, presentó una disminución significativa de las bacterias intracelulares a 1000 y 1500 mg/ml. La ciprofloxacina, usada comúnmente para el tratamiento de ITU, presentó una gran disminución de bacterias intracelulares para ambas cepas en comparación al control sin antibiótico. Para la cepa 7, la reducción fue significativa en todas las concentraciones ensayadas, mientras para la 144 solo fue significativa con 3 mg/ml de ciprofloxacina. En cuanto a la azitromicina, el porcentaje de bacterias intracelulares recuperadas descendió significativamente con 500 mg/ml. A partir de estos resultados, si bien UPEC es capaz de evadir el efecto de los antimicrobianos al formar CBI, los antibióticos ensayados fueron eficientes disminuyendo las bacterias intracelulares en las concentraciones analizadas *in vitro*. Se deberá evaluar en modelos *in vivo* si éstos antibióticos mantienen la capacidad de actuar sobre las CBI.

MI052

Evaluación del efecto antimicrobiano de la solución etanólica de propóleos de abejas indígenas de Santa Cruz-Bolivia

Eugenia Grisolia¹, Milenka Velasco¹. ⁽¹⁾ Laboratorio LIMAB, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno, Santa Cruz, BO.

El presente estudio tuvo como objetivo demostrar la acción antimicrobiana y su estabilidad en el tiempo de dos soluciones etanólicas de propóleo de abejas indígenas de la subfamilia *Miliponinae* provenientes de la zona de Buenavista en Santa Cruz, Bolivia; “Suro” (*Scaptotrigona postica*) y “Señorita” (*Tetragonisca angustula*). Ambas a concentraciones de 100 mg/mL. Las cepas ensayadas fueron, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Salmonella Choleraesuis*. Se realizaron ensayos de difusión en placa según Bauer & Kirby, para ambos tipos de propóleos. En las 4 cepas ensayadas las soluciones etanólicas de propóleo mostraron una acción antibacteriana, teniendo una mayor efectividad frente a *Pseudomonas aeruginosa*. Para determinar las concentraciones mínimas inhibitorias se utilizó la metodología modificada de macro dilución en tubo y posterior siembra en placa. La concentración mínima inhibitoria para *Staphylococcus* fue de 25 mg/mL para ambos propóleos. En el caso de *S. Choleraesuis* se obtuvo una concentración mínima inhibitoria de 50 mg/mL para el propóleo de “Suro” y menor a 25 mg/mL para el propóleo de “Señorita”. En *P. aeruginosa* fue menor a 12,5 mg/mL; para “Suro” y 25 mg/mL para “Señorita”. Similares resultados se obtuvieron con las soluciones de propóleos conservadas de 5 años, demostrándose una gran estabilidad de la acción antimicrobiana en ambos casos.

MI053

Next-generation sequencing and cloning as tools for identification of a plasmidial gene related to the expression of an antimicrobial substance active against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*

Natália Guimarães¹, Silva Carolina P¹, Batista Thiago M², Tagliaferri Thaysa L¹, Brito Gabriel A. M², Santos Simone G¹, Farias Luiz M¹, Magalhães Paula P¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas - ICB/UFMG, Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Belo Horizonte, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Genética e Bioquímica, Departamento de Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas - ICB/UFMG, Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Belo Horizonte, BR.

Bacterial resistance to antimicrobial drugs is an increasingly serious threat to public health of global proportions. For effective control of infectious diseases, the search for new antimicrobials, including non-conventional antibiotics, is fundamental. However, the difficulties inherent to the process of purification of natural substances hamper the availability of new compounds for commercial use, which indirectly stimulates the development of new methodologies for their isolation and identification. Among them, it is important to highlight next-generation sequencing (NGS) and molecular genetics technology. This study aimed the identification of a plasmidial gene that codes for the antimicrobial substance by NGS and cloning techniques, following a previous investigation that detected activity of the substance against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. Plasmid DNA was extracted using the Geneaid™ Maxi Plasmid Kit. For plasmid sequencing, DNA was quantified using the Qubit version 2.0 fluorometer (Qubit® dsDNA HS Assay Kit) and its quality was evaluated by gel electrophoresis. Paired-end libraries were constructed with Nextera XT DNA Library Preparation Kit. Generated reads with a mean length of 301 pb were sequenced using the Illumina MiSeq sequencer. The *de novo* assembly was performed employing the software SPAdes version 3.10.1 and confirmed by PCR. Sequence similarity analysis was performed using the Blastx tool. The assembly of plasmid DNA generated a contig of 11,060 bp, with twelve ORFs, confirmed by PCR. The sequence similarity analysis indicated that the plasmid should be included in the Rep-3 superfamily, according to a RepB replication protein. Preliminary data allowed us raising the hypothesis that five of the twelve ORFs may be coding for the antimicrobial substance. This hypothesis is based on previous results of mass spectrometry and functional analysis of the annotated ORFs.

CNPq, CAPES, FAPEMIG e PRPq/UFMG

MI054

Prevalencia de mutaciones en los genes *gyrA*, *gyrB* y *parC* y detección de genes plasmidiales asociados a la resistencia no clásica de quinolonas en aislados clínicos de *Salmonella* Typhi en Chile

Perla Gutiérrez¹, Daniel Ibañez², Diego Gárate³. ⁽¹⁾ Bacteriología, laboratorio microbiología molecular, UTEM, ISPCH, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratorio Microbiología molecular, bacteriología, Universidad Tecnológica Metropolitana, Santiago, CL. ⁽³⁾ Biomedico, microbiología molecular, ISP, Santiago, CL.

Salmonella enterica serovar Typhi es el agente causante de la fiebre tifoidea, cuyo principal agente antimicrobiano utilizado para el tratamiento, son las fluoroquinolonas. Su mecanismo de acción va dirigido al ADN girasa y topoisomerasa IV, inhibiendo la replicación del ADN. La resistencia a estos antimicrobianos surgida por mutaciones cromosómicas son cada vez más frecuentes. Inesperadamente la resistencia transferible por plásmidos también ha surgido para comprometer la utilidad clínica de las fluoroquinolonas. **Objetivo** estudiar los mecanismos moleculares implicados en la resistencia a las fluoroquinolonas en cepas de *Salmonella* Typhi. **Métodos** Se estudiaron 45 cepas caracterizando el perfil fenotípico con pruebas de susceptibilidad y genotípico mediante técnicas de PCR y secuenciación. **Resultados** Se encontraron 4 perfiles de susceptibilidad de los cuales el 13,33 % (6/45) de las cepas presenta resistencia a ciprofloxacino y al ácido nalidíxico, se observó que el 33,33 % (15/45) de las cepas presenta un fenotipo de resistencia no clásica a quinolonas, donde las cepas presentan susceptibilidad intermedia a ciprofloxacino y sensibilidad al ácido nalidíxico. El análisis de QRDR descubrieron mutaciones en los genes *gyrA* (Ser83Phe, Asp87Asn), *gyrB* (Ser464Phe) y *parC* (Ser80Ile). Además se detectó los genes plasmidiales *qnrB* y *aac(6)-ib*. **Conclusión** Las cepas con doble mutación en *gyrA* más una mutación en *parC* presentaron alta resistencia a quinolonas (CIM < 32 µg/mL). La mutación Asp87Asn ubicado en el gen *gyrA* es la que otorga niveles de resistencia más elevado a ciprofloxacino. La resistencia no clásica a quinolonas se asocia con la mutación Ser464Phe del gen *gyrB*, además las cepas con mutación en *gyrB* también pueden albergar algún plásmido ya sea *qnrB* ó *aac(6)-ib* demostrando que las subunidades girasas pueden interactuar con los genes codificados en plásmidos, otorgándole una baja resistencia a quinolonas.

Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile.

MI055

Evaluation of antifungal activity of mastoparan peptide Polybia-MPII against *Cryptococcus neoformans*

Veloso Júnior Paulo H. H¹, Simon Karina S¹, Castro Raffael J. A¹, Oliveira Stephan A. M¹, Dias Jhones N¹, Coelho Luísa C¹, Bocca Anamélia L¹. ⁽¹⁾ Department of Cell Biology, Institute of Biological Sciences, University of Brasilia, Brasilia, BR.

Cryptococcus neoformans is known as the etiologic agent of cryptococcosis, a disease that commits especially immunocompromised individuals, causing high morbidity and high mortality. The pharmacological treatments available for this infection have shown limited efficiency and most are toxic to the organism. Considering that antimicrobial peptides have a wide range of action, including antifungal and immunomodulation abilities, the main purpose of this paper is to evaluate the activity of antimicrobial peptide Polybia-MPII, from wasp venom, against the fungus *Cryptococcus neoformans*. First, it was determined the minimal inhibitory concentration (MIC) of Polybia-MPII peptides against *Cryptococcus neoformans*, after 48 hours of incubation. Additionally, it was induced the formation of this fungus biofilm and then the fungal cells were challenged with the peptide. In both assays viability reagent was utilized to confirm the results. Furthermore, a hemolysis assay was performed to verify the peptide's ability to lyse red blood cells. Also, the macrophage cytotoxicity of the peptides was accessed with the dosage of the cytoplasmatic enzyme lactate dehydrogenase. The immunomodulatory activity was verified by the interaction of each peptide with bone marrow derived macrophages (BMDMs) and bone marrow derived dendritic cells (BMDCs), stimulated with LPS. The culture supernatants obtained were used in order to evaluate the levels of the cytokines TNF- α and IL-1 β and to determine the concentration of nitric oxide (NO). The MIC of Polybia-MPII was of 25 μ M, a concentration unable to cause more than 50% of mammalian cells death. Polybia-MPII showed activity against biofilm in concentrations higher than 200 μ M. The analysis of immunomodulatory activity showed that Polybia-MPII was able to significantly reduce the levels of TNF- α e IL-1 β cytokines and the NO doses in both types of investigated cells. Considering the limited treatment alternatives for systemic mycosis such as cryptococcosis, antimicrobial peptides are promising as a new therapeutic approach for this kind of diseases, given their high fungicidal capacity and the absence of reports concerning fungi resistance mechanisms triggering. Therefore, the use of Polybia-MPII may be considered as alternative for the development of new antifungal therapies.

Capes, CNPq.

MI056

Caracterización clínica y perfil de la sensibilidad a los antifúngicos de especies de *Candida* aisladas de adultos mayores inmunocompetentes en cuidados intensivos (Caldas, Colombia)

Hernandez Botero Johan Sebastián¹, Pérez Cárdenas Jorge Enrique², Rojas Rodríguez Ana Elisa³, Florián Pérez María Cristina⁴, Correa Salgado Ricardo Andrés⁵, Cañón Franco William Alberto⁶, López Zuluaga Jorge Iván⁷, Estrada Álvarez Jorge Mario⁸. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Básicas de la Salud, Facultad de Ciencias para la Salud - Escuela de Medicina, Universidad de Manizales - Grupo de Resistencia Antibiótica de Manizales (GRAM), Manizales, CO.

⁽²⁾ Ciencias Básicas para la Salud, Facultad de Ciencias para la Salud, Universidad de Caldas - Grupo de Resistencia Antibiótica de Manizales (GRAM), Manizales, CO. ⁽³⁾ Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Católica de Manizales - Grupo de Resistencia Antibiótica de Manizales (GRAM), Manizales, CO.

⁽⁴⁾ Coordinación Unidad de Cuidados Intensivos - Departamento Clínico, Facultad de Ciencias para la Salud, Universidad de Caldas - Hospital Departamental Santa Sofía, Manizales, CO. ⁽⁵⁾ Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Agropecuarias, Universidad de Caldas - Grupo de Resistencia Antibiótica de Manizales (GRAM), Manizales, CO. ⁽⁶⁾ Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales, CO. ⁽⁷⁾ Especialización de Geriátrica Clínica - Departamento Clínico, Facultad de Ciencias para la Salud, Universidad de Caldas, Manizales, CO. ⁽⁸⁾ Departamento de Epidemiología, Ciencias para la Salud, FUNANDI, Pereira, CO.

Introducción: Siendo la candidiasis invasiva una amenaza para el anciano gravemente enfermo, el perfil de sensibilidad a los antifúngicos y el perfil clínico de dichos pacientes no ha sido estudiado en nuestra región. El presente estudio busca caracterizar por primera vez el fenómeno analizando una muestra de adultos mayores y sus aislamientos durante un año en una UCI de la región. **Metodología:** Estudio unicéntrico, descriptivo, de corte transversal. Muestra aleatoria de adultos mayores inmunocompetentes y sin uso de antifúngicos ingresados a la UCI del Hospital Departamental Santa-Sofía (2012). Se caracterizó el perfil clínico mediante descripción de variables categóricas y numéricas, seguido de una regresión logística multivariada para explorar factores asociados a multicolonización. Tanto de muestras no-estériles como de hemocultivos se identificó los aislamientos hasta nivel de especie; se analizó la sensibilidad mediante microdilución CLSI (M27-A3 y M27-S4) a: anfotericina, anidulafungina y fluconazol. Aislamientos no-silvestres de *C. albicans* (CMI>0,5 µg/ml de fluconazol) se secuenció *ERG11*, y analizó expresión génica de *CDR1*, *MDR1* y *ERG11* (RT-qPCR). **Resultados:** Fueron 189 pacientes (8 exclusiones), edad de 72 años (SD+/-8,8), el 52,9% fueron hombres, y el 50,2% provenían de zona rural. Se presentaron dos candidiasis invasivas (1,1%) con igual especie colonizante e invasora; además, 30% de multicolonización y se asoció independientemente con ventilación mecánica (OR=2,99 IC95% [1,19–7,5; p=0,019]) y el diagnóstico de sepsis (OR=3,76 IC95% [1,31–10,75; p =0,014]). Se aislaron 194 *C. albicans*, 65 *C. glabrata*, 64 *C. tropicalis*, 31 *C. krusei*, 27 *C. parapsilosis*, y 55 otros géneros. Resistencia antifúngica: anfotericina (0); anidulafungina (*C.glabrata*=6); fluconazol (*C.tropicalis*=8, *C.glabrata*=1 y *C.parapsilosis*=1). De los siete aislamientos no-silvestres de *C.albicans*, algunos evidenciaron diferencias en la expresión de *MDR1* sin diferencias en *ERG11* y *CDR1* al estar expuestos a fluconazol. Un aislamiento resistente (CMI≥64 µg/ml) exhibió elevada sobre-expresión de *MDR1*, que acompaña sustitución G464S previamente reportada [Biomédica 2017;37(Supl.3):p124-125]; dos aislamientos resistentes (CMI 4 y 8 µg/ml) presentaron sustituciones D116E y K128T, en *hot-spot-I*. **Conclusión:** En Caldas el 35,4% de los adultos mayores ingresados a la UCI presenta multicolonización por *Candida*, esta se asocia independientemente a la presencia de ventilación mecánica y diagnóstico de sepsis. Se sugiere vigilar la sensibilidad de *C. tropicalis* a los azoles y de *C. glabrata* a las equinocandinas.

Financiado por Universidad de Caldas, Universidad Católica de Manizales y Hospital Departamental Santa Sofía. Agradecimientos: Universidad de Manizales (Grupo Investigación Médica), Universidad Católica de Manizales (Grupo GINEI)



MI057

Efecto antimicrobiano de péptidos derivados de veneno de alacrán en heridas infectadas por *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*

Marco Antonio Ibarra¹, Gerardo Corzo². ⁽¹⁾ Medicina molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. ⁽²⁾ Medicina Molecular y Bioprocesos, Universidad Nacional Autónoma de México, Morelos, MX.

Las infecciones por bacterias multidrogo resistentes (MDR) han despertado el interés en el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos para su tratamiento. Entre estos se encuentran los péptidos antimicrobianos (PAM), que, por su hidrofobicidad, carga catiónica, amplia distribución en la naturaleza y actividad contra organismos MDR, surgen como alternativa al uso de antibióticos convencionales. Nuestro grupo de investigación generó los péptidos Pin2[G], derivado de la pandinina del veneno del alacrán *Pandinus imperator*, y FA1, de una quimera entre la vejovina y hadrurina de los alacranes *Vaejovis mexicanus* y *Hadrurus gerstchi*, respectivamente. Ambos péptidos fueron probados contra las cepas bacterianas de referencia: *Staphylococcus aureus* ATCC21293 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC17853, y contralascepas MDR: *S. aureus* UDP13 y *P. aeruginosa* UDP3, ambas aisladas de un paciente con úlcera de pie diabético en un hospital de la ciudad de Cuernavaca, Morelos. Los ensayos de concentración mínima inhibitoria y bactericida media, de ambos péptidos, revelaron un comportamiento bactericida hacia ambas cepas de *P. aeruginosa* y, solo en el caso de Pin2[G], también contra ambas de *S. aureus*. El mecanismo de acción de los péptidos se determinó por microscopía confocal y se demostró que Pin2[G] y FA1 actúan sobre la membrana celular, pero solo el segundo se internaliza al citoplasma bacteriano. Para conocer el efecto que tendrían sobre un modelo animal se realizaron pruebas de hemólisis y de irritación en piel. Pin2[G] resultó bastante hemolítico, pero nada irritante, mientras que FA1 no fue hemolítico, ni irritante. Con esto, se optó por establecer un modelo de infección de herida cutánea en conejos. En este, Pin2[G] contrarresta la infección al mismo tiempo que favorece la cicatrización de la herida. Mientras que FA1, además de fallar en la inhibición del crecimiento bacteriano, afecta la recuperación de la piel al aumentar el área de la herida. En conclusión, Pin2[G] y FA1 cuentan con características que los hacen buenos agentes antimicrobianos y poseen particularidades en las que hay que enfocarse para aprovecharlas de forma efectiva. Además de que no se descarta que actúen como “Péptidos de defensa de huésped” estimulando diversas vías moleculares que participan en la recuperación del individuo.

MI058

Mining non ribosomal peptides and polyketide synthase genes from microbial mats in the polyextreme ecosystem in Salar de Huasco, Chilean Altiplano

G Icaza^{1,2}, V Araya¹, V Molina³, C Dorador^{2,1}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Centre for Biotechnology & Bioengineering (CeBiB), Chile. ⁽³⁾ Departamento de Biología, Observatorio de Ecología Microbiana, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, CL.

Mining of bioactive compounds from extreme environments is a current research topic that highlights the need to discover new compounds with biological activity mainly for the treatment of emerging diseases and antibiotic resistance. Great efforts have been made to obtain new isolates and compounds of Actinobacteria from northern Chile, especially from the Atacama Desert. The Salar de Huasco is a high altitude wetland (3800 masl) located in the Chilean Altiplano. Environmental conditions typically make up a “poly-extreme” ecosystem, in which high solar radiation, wide variation in salinity, high aridity and temperature variations modulate biota and its interactions. Previous studies have revealed a very high active microbial diversity dominated by Bacteria, including Proteobacteria, Bacteroidetes and Actinobacteria in microbial mats, water and sediments of the Salar de Huasco. Given the positive relationship between the bioprospecting of new strains and new bioactive compounds, it is possible to expect a directly proportional relationship. To prove this, we used culture independent approaches based on the search for PKS and NRPS genes from environmental samples from the Salar de Huasco. We analyzed the presence and diversity of functional genes related to the main biosynthetic pathways (PKS and NRPS) using PCR-based clone libraries and metagenomic shotgun sequencing. An in house pipeline was used for metagenomic data analysis: MegaHit for de novo assembly, Orphelia for identification of open reading frames, CD-HIT for clustering and reduction of sequence redundancy, and DIAMOND for alignment of clustered sequences against the reference database of NCBI-NR proteins. Then, we manually searched for PKS and NRPS sequences using non-ribosomal peptide synthetase and polyketide synthase terms filters. In total, PKS and NRPS genes related to Proteobacteria were detected using specific primers. Metagenome analysis revealed a high proportion of PKS and NRPS genes (2384 and 3014, respectively) associated with different bacterial species. However, most of the genes associated with secondary metabolism were related to those involved in the microbial transformation of monoterpenes (degradation and biosynthesis) and compounds such as carotenoids, phenazine, tetracycline, zeatin and others. This study shows the potential of independent culture techniques for bioprospecting environments searching for new bioactive compounds.

CeBiB FB0001; FONDECYT 1140179, 1181773

MI059

Antifungal activity of Agelaia-MPI against the etiological agent of cryptococcosis, *Cryptococcus neoformans*

Karina Simon S¹, Veloso Júnior Paulo H. H¹, Castro Raffael J. A¹, Oliveira Stephan A. M¹, Dias Jhones N¹, Coelho Luísa C¹, Bocca Anamélia L¹. ⁽¹⁾ Department of Cell Biology, Institute of Biological Sciences, University of Brasilia, Brasilia, BR.

Cryptococcosis is a disease caused by *Cryptococcus neoformans* fungus that afflicts mainly immunocompromised individuals causing high morbidity and high mortality. This disease's pharmacological therapies has limited efficiency and most of them are toxic to the organism. Considering that antimicrobial peptides have a wide range of action, including antifungal and immunomodulation abilities, in this paper we aimed the evaluation of the activity of antimicrobial peptide Agelaia-MPI, from wasp venom, against *C. neoformans*. We first determined the minimal inhibitory concentration (MIC) of Agelaia-MP peptides against this fungus, after 48 hours of incubation and against its biofilm. Then we performed mammalian cells viability tests with human red blood cells and murine macrophages, accessed by colorimetric tests. The immunomodulatory activity was verified by the interaction of each peptide with bone marrow derived macrophages and bone marrow derived dendritic cells, stimulated with LPS. The culture supernatants obtained were used in order to evaluate the levels of the cytokines TNF- α and IL-1 β and to determine the concentration of nitric oxide (NO). The MIC of Agelaia-MP was of 12.5 μ M, a dose lower than it was needed for a high mammalian cells cytotoxicity. Moreover, Agelaia-MP showed activity against biofilm in concentration near 100 μ M. Immunomodulatory activity analysis showed significant ability of Agelaia-MP to reduce levels of TNF- α e IL-1 β cytokines and NO doses. Considering the limited treatment alternatives for systemic mycosis such as cryptococcosis, antimicrobial peptides are promising as a new therapeutic approach for fungal diseases for their high fungicidal capacity and the absence of reports concerning fungi resistance mechanisms triggering. Therefore, Agelaia-MP may be considered for new anti-fungal therapy.

Capes, CNPq.

MI060

Efeito da combinação de estreptomicina com piperina sobre a atividade de bombas de efluxo em *Mycobacterium tuberculosis*

Calsavara Leonora Lacerda¹, Hegeto Laíse Adriane¹, Souza João Vitor Perez¹, Murase Letícia Sayuri¹, Siqueira Vera Lúcia Dias¹, Scodro Regiane Bertin¹, Cardoso Rosilene Fressatti¹, Caleffi-Ferracioli Katiany R. Caleffi-Ferracioli Rizzieri¹.

⁽¹⁾ Laboratório de Bacteriologia Médica, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, BR.

As bombas de efluxo (BEs) são um importante mecanismo de resistência aos antimicrobianos em *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) pois realizam o transporte ativo de fármacos para o meio extracelular diminuindo assim a concentração dos mesmos no ambiente intracelular e conseqüentemente, o seu efeito sobre o bacilo. Dessa forma, a inativação deste sistema de efluxo através do uso de inibidores, têm se mostrado uma solução promissora no combate às cepas resistentes, bem como na reinserção de antigos fármacos antituberculosos no atual esquema terapêutico. A piperina (PIP) é um alcaloide derivado da *Piper Nigrum*, popularmente conhecida como Pimenta do Reino, que apresenta entre outras atividades, ação inibitória sobre BEs em *Mtb* quando associada à fármacos antituberculosos, como a estreptomicina (SM). Neste sentido, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da combinação de SM com PIP na atividade de algumas BEs da família ABC em *Mtb*. O RNA do *Mtb* H37Rv foi extraído após a exposição aos fármacos isoladamente e em combinação. Na seqüência, o cDNA foi sintetizado e a expressão relativa de cinco genes que codificam para as BEs (*Rv1458c*, *Rv1457c*, *Rv1218c*, *Rv1217c* e *Rv1819c*) foi avaliada utilizando a técnica de RT-qPCR. Quando combinada à SM, a PIP mostrou-se capaz de potencializar a atividade da mesma contra *Mtb* provocando a diminuição da expressão gênica de todas as BEs da família ABC em relação a SM isoladamente e ao controle (ausência de fármacos) ($p \leq 0,01$). Os dados foram calculados pelo método $2^{-\Delta\Delta CT}$ e analisados por meio do teste ANOVA seguido de teste de Tukey *post-hoc*. Neste estudo, a associação de PIP com SM mostrou-se vantajosa, sugerindo a possibilidade de reintegração deste fármaco ao esquema de tratamento da tuberculose, principalmente em casos de resistência à SM.

Gostaríamos de agradecer ao Laboratório de Bacteriologia Médica pertencente à Universidade Estadual de Maringá. Agradecemos também ao CNPq por financiar esse trabalho.

MI061

Determinação da atividade *in vitro* de derivados diamina frente ao *Mycobacterium tuberculosis* sensível e multidroga resistente

Laet João Paulo De Lucena¹, Linhares Leonardo De Aquino⁶, Sousa Luanna De Ângelis Correia², Peixoto Aline Dos Santos⁶, Hernandes Valéria Pereira³, Santos Aline Caroline Da Silva³, Neves Maria Madileuza Carneiro⁴, Romero Ricardo Escarcena⁵, Nerea Escala⁵, Feliciano Arturo San⁵, Schindler Haiana Charifker⁶, Pimentel Lílian Maria Lapa Montenegro⁶. ⁽¹⁾ Imunologia, Laboratório de Imunoepidemiologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Instituto Aggeu Magalhães, Recife, BR. ⁽²⁾ Imunologia, Laboratório de Imunoepidemiologia, Faculdade Integrada de Pernambuco, Instituto Aggeu Magalhães, Recife, BR. ⁽³⁾ Imunologia, Laboratório de Patologia e Biologia Molecular, Instituto Aggeu Magalhães, FIOCRUZ, Recife, BR. ⁽⁴⁾ Microbiologia, Laboratório Central de Saúde Pública, Secretária Estadual de Saúde, Recife, BR. ⁽⁵⁾ Ciências Farmacêuticas: Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade de Salamanca, Salamanca, ES. ⁽⁶⁾ Imunologia, Laboratório de Imunoepidemiologia, Instituto Aggeu Magalhães, FIOCRUZ, Recife, BR.

Mycobacterium tuberculosis (*Mtb*) é o agente causador da tuberculose (TB), uma doença infectocontagiosa, considerada uma das mais mortais do mundo. A TB continua sendo um grande problema de saúde pública mundial e até o momento não houve uma forma efetiva de erradicá-la. Uma grande mudança na trajetória da TB aconteceu com a introdução das primeiras drogas anti-TB e por consequência o surgimento de formas de resistência aos antimicobacterianos, a tuberculose multidroga resistente (MDR-TB) e a tuberculose extensivamente resistente (XDR-TB). A partir disso, surge a necessidade de novos fármacos serem propostos no tratamento dessa doença. O trabalho tem como objetivo avaliar compostos do tipo diamina, relacionados ao etambutol, frente ao *Mtb* sensível e MDR. Seis compostos derivados da classe 1,2-alcano-diamina foram sintetizados e caracterizados estruturalmente pelos laboratórios de química farmacêutica da Universidade de Salamanca e fornecidos através de cooperação internacional. Para os testes biológicos foi utilizada a cepa padrão de referência, H37Rv (ATCC 27294) classificada como cepa sensível a todas as drogas utilizadas no tratamento da TB e um isolado clínico de paciente acometido pela tuberculose pulmonar com perfil de MDR, cedido pelo Laboratório Central de Saúde Pública de Pernambuco. A avaliação da atividade dos compostos foi determinada pela Concentração Inibitória Mínima (CIM) em placas de 96 poços através do método de microdiluição colorimétrico. As placas foram incubadas a 37°C de 7 a 10 dias. Para a realização da citotoxicidade (CC₅₀) foi utilizado o teste do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) com a linhagem celular J774A.1. O índice de seletividade (IS) foi calculado pela razão da CIM e a CC₅₀. Os seis compostos testados apresentaram uma CIM variando entre 4,0 a >64,0 µM para cepa H37Rv e MDR 1576. Em relação a CC₅₀, os compostos apresentaram uma faixa de concentração variando em 5,7 a 32,8 µM. O composto D15 exerceu a melhor atividade frente a cepa de referência (HR37Rv), a cepa MDR (MDR 1576) e no teste de citotoxicidade. Os compostos avaliados neste estudo demonstraram relevante atividade contra o *Mtb* e suportam a continuidade do estudo pré-clínico dos derivados 1,2-alcano-diamina testados.

FIOTEC (Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Saúde); FACEPE.(Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco); Programa MINECO-RETOS: AGL2016-79813-C2-2-R; Red RETIC RD16/0027/0018.

MI062

Análise do crescimento bacteriano e da multirresistência a antibióticos em cepas isoladas de brinquedos da ala pediátrica de um Hospital Escola no Sul de Minas Gerais, Brasil

Lage Fernanda S¹, Verardo Carolina L¹, Andrade Mariléia C². ⁽¹⁾ Acadêmica do 4º ano de Medicina, Faculdade de Medicina de Itajubá, AISI - FMIt, Itajubá, BR. ⁽²⁾ Professora titular das matérias: microbiologia, parasitologia e imunologia, Faculdade de Medicina de Itajubá, AISI - FMIt, Itajubá, BR.

Introdução: Crianças hospitalizadas apresentam-se suscetíveis à infecções devido a fatores como doença de base e ao processo de internação. Brinquedos de uso comum são potenciais fontes de contaminação, podendo funcionar como reservatório de microrganismos potencialmente patogênicos e multirresistentes, e seu compartilhamento entre crianças hospitalizadas favorece o processo de contaminação cruzada, aumentando o risco de infecção. **Objetivos:** analisar o crescimento microbiológico em superfícies de brinquedos em uma brinquedoteca pediátrica de um Hospital Escola no Sul de Minas Gerais, Brasil. **Métodos:** Foram analisadas bactérias heterotróficas obtidas de 40 brinquedos, sendo 20 coletadas na estação seca, e outras 20 na estação chuvosa, por meio de swab umedecido em solução fisiológica estéril. As amostras foram crescidas em meio enriquecido BHI e, em seguida, plaqueadas em ágar nutriente. Colônias bacterianas que cresceram em ágar nutriente, foram fenotipicamente caracterizadas quanto a forma, cor, presença ou ausência de brilho e goma. Em seguida, todas as colônias foram submetidas ao antibiograma contra 11 antibióticos, sendo eles: Amicacina (AMI), Azitromicina (AZI), Ciprofloxacina (CIP), Cloranfenicol (CLO), Eritromicina (ERI), Estreptomicina (EST), Gentamicina (GEN), Oxacilina (OXA), Rifampicina (RIF), Tetraciclina (TET), Vancomicina (VAN). **Resultados:** Houve crescimento bacteriano de todas amostras na estação chuvosa, já na estação seca houve 85% de crescimento. Quanto ao perfil de resistência avaliado no antibiograma, obteve-se baixa variação no percentual de cepas resistentes, sensíveis e de perfil intermediário nas diferentes estações. Surpreendentemente, na estação chuvosa, não houve cepas com perfil de multirresistência, mas, por sua vez, na estação seca 11,76% das cepas apresentaram resistência a 3 ou mais antibióticos. Os isolados bacterianos apresentaram discreta variabilidade quanto aos aspectos morfoculturais, indicando um perfil similar de colonização dos brinquedos nas duas estações avaliadas. **Conclusão:** Devido à baixa variação de resistência bacteriana apresentada pelas cepas, presume-se que as estações interferem minimamente na proliferação destes microrganismos. Presume-se ainda que microrganismos multirresistentes podem ser encontrados em brinquedos de hospital, podendo ser considerados veículos de infecção cruzada.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - (FAPEMIG), Associação de Integração Social de Itajubá (AISIS) - Faculdade de Medicina de Itajubá (FMIt) - Hospital Escola (HE)

MI063

Avaliação *in vitro* de análogos da diidroesfingosina e etambutol como protótipos de fármacos contra *Mycobacterium tuberculosis* multirresistente

Linhares Leonardo Aquino¹, Peixoto Aline Santos¹, Laet João Paulo Lucena¹, Sousa Luanna A Correia¹, Silva Yuri J. A.¹, Santos Aline Caroline Da Silva², Ricardo Escarcena⁴, Nerea Escala⁴, Neves Maria Madileuza C.³, Hernandes Valéria P.², Feliciano Arturo San⁴, Schindler Haiana Charifker¹, Pimentel Lílian M. L. Montenegro¹. ⁽¹⁾ Imunologia: Imunoepidemiologia, Instituto Aggeu Magalhães, Fiocruz, Recife, BR. ⁽²⁾ Imunologia: Imunopatologia e Biologia Molecular, Instituto Aggeu Magalhães, Fiocruz, Recife, BR. ⁽³⁾ Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN-PE), Secretaria Estadual de Saúde, Recife, BR. ⁽⁴⁾ Ciências Farmacêuticas: Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade de Salamanca, Salamanca, ES.

A tuberculose (TB) é uma das doenças mais antigas que ainda constitui uma grave pandemia, com um aumento preocupante nos casos de TB multirresistente (MDR, XDR, XXDR) aos antimicrobianos disponíveis e tornando a doença cada vez mais mortal e difícil de tratar. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicobacteriana de compostos relacionados à esfingosina e ao etambutol (EMB), bem como determinar sua seletividade. As substâncias sintetizadas e avaliadas se agrupam em três tipos: derivados de 2-aminoalcanol (8 compostos), derivados de 1-aminoalcan-2-ol (4 compostos) e derivados de 1,2-alcanodiamina (5 compostos). Estes foram testados contra a cepa de referência de *M. tuberculosis* (*Mtb*) H37Rv (ATCC 27294) sensível aos fármacos de primeira linha, e contra o isolado clínico MDR-1576 (LACEN-PE-BR). A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo de cultura. A citotoxicidade foi determinada frente ao macrófago murino, J774A.1 (ATCC TIB-67). Todos os compostos avaliados foram ativos contra ambas as cepas de *Mtb*, com potência similar ou ainda maior que o EMB contra a cepa MDR-1576. Os compostos derivados de 2-aminoalcanóis apresentaram maior atividade contra a linhagem sensível, com CIM variando de 1,5 a 16 μM . No entanto, os derivados de 1-aminoalcan-2-ol foram os que apresentaram melhor atividade contra a linhagem MDR, com CIM entre 2 e 16 μM . Com relação à citotoxicidade, os compostos apresentaram valores de CC_{50} entre 5,2 e 119,5 μM . O derivado 2-aminohexadecanol OA-10d/00/14 demonstrou melhor atividade, com uma CIM de 8 μM contra ambas as cepas, sendo 4,9 vezes mais potente que o EMB para a linhagem MDR, e apresentou menor citotoxicidade ($\text{CC}_{50} = 119,5 \mu\text{M}$), atingindo uma seletividade de 14,9. Este resultado suporta, assim, a continuidade da pesquisa pré-clínica para validar a eficácia e segurança *in vivo*, bem como avaliar seu desenvolvimento em direção a um potencial uso terapêutico.

Os autores agradecem ao Programa Translacional de Tuberculose, FioTB (VPPLR 002 FIO 14, FIOTEC) e ao Programa MINECO-RETOS: AGL2016-79813-C2-2-R pelo financiamento do projeto. RE agradece a bolsa à Rede RETIC RD16/0027/0018.

MI064

Evolución del resistoma bacteriano en cerdos de granja alimentados sin suplementos antimicrobianos

Fernanda Loayza¹, Gabriel Trueba¹. ⁽¹⁾ COCIBA, Instituto de Microbiología, Universidad San Francisco de Quito, Quito, EC.

Los patógenos oportunistas multirresistentes pertenecen a géneros de bacterias comensales del intestino de animales domésticos y humanos. El aumento en la cantidad de genes de resistencia a antimicrobianos se relaciona con el uso de antibióticos profilácticos o promotores de crecimiento en animales de granja. El objetivo de este estudio fue comparar la frecuencia de *Escherichia coli* comensal resistente en cerdos de granja en presencia y ausencia de profilaxis antimicrobiana. **Métodos:** Se seleccionó al azar 20 madres divididas en dos grupos: A. alimentación con profilácticos, B. sin suplementos antimicrobianos, los antibióticos fueron restringidos a terapias individuales. Se seleccionó 10 lechones de cada grupo y se tomó 5 muestras fecales dentro de un período de 170 días. Las muestras fecales diluidas fueron inoculadas Mac Conkey Lactosa con ampicilina, tetraciclina o cotrimoxazol para recuento de *Escherichia coli*. Se evaluó patrones fenotípicos de resistencia de una colonia aislada de cada plato con el método de Bauer-Kirby. Los parámetros zootécnicos fueron registrados, analizados y comparados con InfoSTAT. **Resultados:** La ausencia de suplementos antimicrobianos no afectó el rendimiento de la producción porcina, ni la morbi-mortalidad. Se aisló *E. coli* resistente a tetraciclina (80%), ampicilina (37%) y cotrimoxazol (47%). No hubo diferencias de frecuencia entre grupos. Los perfiles fenotípicos demostraron 69% de *E. coli* resistente a más de tres antibióticos, independientemente 63% resistentes a gentamicina y 63% a amoxicilina con ac. clavulánico, 40% a cloranfenicol, 23% a ceftriaxone. **Conclusión:** La falta de profilaxis antimicrobiana no afectó el rendimiento de los porcinos en el estudio. La frecuencia de *E. coli* comensal resistente incrementó en relación con la edad de los animales sin diferencias entre grupos en el recuento de *E. coli* resistente. Una limitante fue la infraestructura de aislamiento de los animales, por lo que transferencia de bacterias resistentes pudo darse a través del aire, partículas de polvo u otros fómites.

Este trabajo fue financiado por la Universidad San Francisco de Quito. Instituto de Microbiología.

MI065

Ocorrência dos genes *bla*NDM-1, *bla*KPC-2, *qnr*B e bombas de efluxo em isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* multirresistentes provenientes de Recife-PE, Brasil

Lopes Ana Catarina Souza¹, Scavuzzi Alexandra Lima¹, Firmo Elza Ferreira¹, Oliveira Érica Maria¹, Lima Giselle Jucá¹, Veras Dyana Leal². ⁽¹⁾ Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, BR.

⁽²⁾ Laboratório de Biologia Celular e Molecular, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fiocruz-PE, Recife-PE, BR.

A *Klebsiella pneumoniae* se destaca entre as enterobactérias produtoras de carbapenemases, estando associada as infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAs). Considerando que a multidroga resistência desta espécie bacteriana pode estar associada a ocorrência de um conjunto de mecanismos, o objetivo desse trabalho foi investigar a associação de mecanismos genéticos de resistência a carbapenêmicos e quinolonas em isolados de *K. pneumoniae* multirresistentes, provenientes de IRAs em pacientes de hospitais de Recife-PE, Brasil. Portanto, foram analisados 15 isolados de *K. pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos. A identificação bioquímica das bactérias e a susceptibilidade aos antimicrobianos foi detectada por sistema automatizado. Os genes de resistência aos carbapenêmicos (*bla*KPC, *bla*VIM, *bla*IMP, *bla*GES e *bla*NDM), às quinolonas (*qnr*B e *aac*(6')-*Ib-cr*) e bombas de efluxo (*qep*A e *acr*B), foram investigados pela técnica de PCR, seguida do sequenciamento dos amplicons. A ERIC-PCR foi utilizada para determinar a relação clonal dos isolados. Todos os isolados de *K. pneumoniae* analisados mostraram resistência a ampicilina e ertapenem, como também alta taxa de resistência (acima de 86%) ao imipenem, meropenem, cefalosporinas e à ciprofloxacina. Alguns isolados apresentaram relação clonal. A análise genética demonstrou que 12 isolados apresentaram *bla*KPC-2, cinco apresentaram *aac*(6')-*Ib-cr*, quatro apresentaram *qnr*B (*qnr*B1, *qnr*B12 ou *qnr*B19) e um apresentou *bla*NDM-1. A investigação de bombas de efluxo revelou a presença do gene *acr*B em todos os 15 isolados e em cinco isolados a presença do gene *qep*A. Destaca-se que sete isolados de *K. pneumoniae* apresentaram diferentes mecanismos genéticos de resistência, associando gene para carbapenemase (*bla*KPC ou *bla*NDM), gene para bombas de efluxo (*acr*B ou *qep*) e gene de resistência à quinolonas (*qnr* ou *aac*(6')-*Ib-cr*). Não foram encontrados os genes *bla*VIM, *bla*IMP e *bla*GES. O isolado K2-R2 não apresentou o gene *bla*KPC-2, porém apresentou o gene *bla*NDM-1, justificando a resistência aos carbapenêmicos, sendo o primeiro relato de *bla*NDM-1 na cidade de Recife-PE. Os resultados apresentados são preocupantes pois revelam o surgimento do gene *bla*NDM-1 em *K. pneumoniae* em Recife-PE, Brasil, e o potencial de acúmulo de diferentes mecanismos de resistência aos antimicrobianos por essa espécie, tornando um desafio o tratamento das infecções causadas por essas bactérias.

UFPE/Propesq (Edital Laboratório Multiusuários).

MI066

Resistoma de dos aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* multidrogo-resistentes y resistentes a carbapenémicos

Alma López-García¹, María Elena Bello-López¹, Rosa Del Carmen Rocha-Gracia ¹, Miguel Ángel Cevallos², Margarita María De La Paz Arenas-Hernández ¹, Yolanda Sáenz³, Guadalupe Jiménez-Flores⁴, Patricia Lozano-Zarain ¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias. Posgrado en Microbiología, Benemerita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, MX. ⁽²⁾ Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, MX. ⁽³⁾ Area de Microbiología Molecular, Centro de Investigación Biomédica de La Rioja, Logroño, ES. ⁽⁴⁾ Laboratorio de Análisis Clínicos, Área de Microbiología, Hospital Regional I.S.S.S.T.E, Puebla, MX.

Introducción: *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno oportunista capaz de desarrollar resistencias por mutaciones en genes cromosómicos o por adquisición de genes en elementos genéticos movilizables. **Objetivo:** Analizar los mecanismos de resistencia de dos aislados clínicos de hospitales mexicanos, multidrogo-resistentes y resistentes a carbapenémicos; uno portador de carbapenemasa y otro no, pero con la misma concentración mínima inhibitoria (CMI) a carbapenémicos. **Material y Métodos:** El ADN genómico de la cepa Ps25, la cual, no porta carbapenemasas y PE21 que porta *bla*_{IMP-62}, fue secuenciado por Illumina NextSeq 2x75 ciclos, lecturas pareadas. **Resultados:** La cepa PE21 (ST167), porta los genes de resistencia: *bla*_{OXA-50'}, *fosA*, *catB7*, *catA1*, *aph(3)-VIa*, *aph(3)-IIb*, *aph(6)-Id*, *aadA6*, y dos variantes nuevas de β-lactamasas (*bla*_{GES-32'}, *bla*_{IMP-62}), en dos integrones clase 1 con nuevos arreglos, uno de ellos detectado en un plásmido. Presentó mutaciones en GyrA (T83I) y ParC (S87L). El gen *oprD* presentó Loop-7 corto y un codón de paro prematuro y por Western blot no se detectó a la proteína OprD. Presentó mutaciones en las bombas RND, no relacionadas con la resistencia a meropenem, corroborándolo con el uso de inhibidor de bombas (EPI). El gen *bla*_{AmpC} presentó mutaciones (R79Q y T105A) relacionadas con resistencia a imipenem. Todos estos mecanismos explican el fenotipo de resistencia de la cepa PE21. La cepa Ps25 (ST155) carece de carbapenemasas, porta los genes: *bla*_{OXA-50'}, *aph(3)-IIb*, *aph(3')-IIa*, *aph(6)-Ic*, *fosA*, *catB7* y *catA1*. Presentó mutaciones en GyrA (T83I) y ParC (S87L) y las mismas mutaciones en las bombas RND y en *bla*_{AmpC'} que la cepa PE21. El gen *oprD* presentó Loop-7 corto y un cambio de marco de lectura por inserción de un nucleótido, la proteína OprD fue detectada, aunque se desconoce si es funcional. Los mecanismos identificados en Ps25 no explican el perfil fenotípico de resistencia presentado para carbapenémicos. **Conclusiones:** Este estudio muestra que a pesar de que ambas cepas presentan los mismos niveles de CMI a carbapenémicos, portan diferente genotipo de resistencia, lo que hace pensar que otros mecanismos, factores estructurales o de regulación pueden estar involucrados en la resistencia a carbapenémicos, complicando aún más los tratamientos para controlar las infecciones causadas por estas bacterias.

MI067

Caracterización de un plásmido portador de *bla*NDM-1 en una cepa clínica de *Acinetobacter haemolyticus* aislada en un hospital pediátrico de Puebla, México

María Elena Bello-López¹, Semiramis Castro-Jaimes², Miguel Ángel Cevallos², Rosa Del Carmen Rocha-Gracia¹, Yolanda Sáenz³, Carmen Torres⁴, Zita Gutiérrez-Cázares⁵, Miguel Castañeda-Lucio¹, Ygnacio Martínez-Laguna¹, **Patricia Lozano-Zarain**¹. ⁽¹⁾ Posgrado en Microbiología. Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Puebla, MX. ⁽²⁾ Programa de Genómica Evolutiva, Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, MX. ⁽³⁾ Área de Microbiología Molecular, ., Centro de Investigación Biomédica de la Rioja (CIBIR), Logroño, ES ⁽⁴⁾ Área Bioquímica y Biología Molecular, ., Universidad de la Rioja, Logroño, ES. ⁽⁵⁾ Área de Microbiología, Laboratorio de Análisis Clínicos, Hospital para el Niño Poblano, Puebla, Puebla, MX.

Introducción: La metalo-beta-lactamasa NDM-1 se ha diseminado por todo el mundo en diferentes géneros y especies bacterianas. En América Latina, se ha reportado en *K. pneumoniae*, *E. coli* y *P. rettgeri* y en BGNnF como *A. baumannii*, *A. pittii* y *A. bereziniae*; pero no hay informes en *A. haemolyticus*. **Objetivo:** Caracterizar un plásmido portador de *bla*NDM-1 en una cepa clínica de *A. haemolyticus*. **Material y Métodos:** Se estudiaron dos cepas de *A. haemolyticus* portadoras de *bla*NDM-1. El genoma de la cepa AN54 fue secuenciado (Illumina NexSeq 2x75-lecturas pareadas y PacBio RS II system), se realizó un ensamblaje híbrido (Unicycler v.0.4.1 y SPAdes v.3.11.1). Anotación, localización de genes y análisis con RAST, ResFinder 2.1, MAUVE y BLASTn. Perfil de plásmidos (PFGE-S1) e hibridación. Ensayos de conjugación y transformación con *E. coli*J53Rif, C600Rif, DH5 α NA y *A. baileyi*. **Resultados:** Se analizaron dos cepas de *A. haemolyticus* (AN54 y AN57) del mismo paciente de Líquido de Diálisis Peritoneal, resistentes a aminoglucósidos, betalactámicos y carbapenémicos, fenotipo de metalobetalactamasas positiva y portadoras de *bla*NDM-1, *bla*OXA-265, *aph*-(3')-VIa y *aac*-(6')-I_g. Mediante WGS de la cepa AN54 se obtuvo draft del genoma (\approx 3.1Mb) y la secuencia completa de 4 plásmidos: 4.7Kb, 11.4Kb, 12.8Kb y 45.4Kb nombrados pAheAN54-a, pAheAN54-c, pAheAN54-d y pAheAN54-e respectivamente, el último transporta *bla*NDM-1 detectado por hibridación, tiene 53 ORFs y 99% de identidad con pNDM-BJ02 de *A. lwoffii*. NDM-1 se localizó en un transposon compuesto 5'-*IS*Aba14-*aph*A6-*IS*Aba125-*bla*NDM-1-*ble*-*trpF*-*tat*-*cutA*-*groES*-*groEL*-*IS*91-3' diferente a los reportados en *A. lwoffii* y *A. haemolyticus*. La región putativa de transferencia y replicación consta de *parA*, *parB*, T4SS (pili tipo IV), *traC* y *traD*. Presentó inserción de siete proteínas hipotéticas y delección de una comparado con pNDM-BJ02 (BioProject: PRJNA538156 y SAMN087A7400). No se obtuvieron transconjugantes ni transformantes, no fue tipificable por PBRT. **Conclusión:** Es el primer informe en México de una variante nueva de un plásmido acarreando *bla*NDM-1 en una cepa clínica de *A. haemolyticus*, las diferencias entre este tipo de plásmidos confirman su constante evolución, es un plásmido cuyo mecanismo de replicación y mantenimiento son desconocidos y representa un alto riesgo de diseminación de genes de resistencia entre diversos géneros y especies bacterianas.

BUAP-VIEP: LOZP-NAT17-I y VIEP-2497-16. Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT: IN200318). Bello-López recibe una beca Doctoral de CONACyT México número 273320.



MI068

Caracterización fenotípica y molecular de bacterias del Desierto de Atacama que presentan actividad antimicrobiana sobre bacterias patógenas humanas

Camila Manzano^{1,3}, Matias Poblete³, Guillermo Wiese^{1,3}, Samantha Gonzalez¹, Piedad Cortés-Cortés¹, Armando Azua², Gino Corsini³. ⁽¹⁾ Unidad de Desarrollo, Corbio-Q, Santiago, CL. ⁽²⁾ Centro de Astrobiología, Centro de Astrobiología, Madrid, ES. ⁽³⁾ Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma, Santiago, CL.

Con el avance de las investigaciones sobre los antibióticos y la aparición excesiva de cepas resistentes a estos compuestos, es necesario seguir en la búsqueda de compuestos que permitan controlar el crecimiento y la proliferación de bacterias patógenas. En este sentido, la búsqueda de nuevos compuestos que inhiban el crecimiento de cepas bacterianas patógenas puede revertir la situación generada por el uso indiscriminado de antibióticos. Nuestro grupo de investigación, se ha centrado en el aislamiento de bacterias provenientes de ambientes extremos, como el desierto de Atacama, debido a que se ha descrito que este lugar es un reservorio de vida bacteriana, las cuales presentan una alta competencia para su sobrevivencia en este ambiente con otros microorganismos, por lo que el objetivo de este estudio es caracterizar fenotípicamente y molecularmente bacterias aisladas del suelo del desierto de Atacama (BDA) que presenten actividad antagónica sobre bacterias patógenas humanas. Se analizaron 30 aislados BDA, las cuales se aislaron desde muestras de suelo ubicadas a 6 cm y 21 cm de profundidad. Por medio de antagonismo en placa, contra bacterias Gram positivo y Gram negativo, se determinaron que 5 aislados presentan actividad contra bacterias patógenas humanas. Estos aislados se caracterizaron en base a la morfología de su colonia, tinción Gram, capacidad de crecimiento a diferentes temperaturas, y propiedades metabólicas mediante el uso de pruebas bioquímicas. Para la caracterización molecular de estos aislados, se utilizó la técnica de PCR con primarios arbitrarios (AP-PCR) y secuenciación de rDNA 16S. Los resultados mostraron que los 5 aislados presentan perfiles de actividad antibacteriana diferentes y que pertenecen a los géneros *Streptomyces* y *Bacillus*. Estos resultados sugieren el potencial uso de estas bacterias para la identificación de nuevas moléculas con propiedades para el control de bacterias patógenas.



MI069

Actividad antimicrobiana y antibiofilm de cuatro péptidos antimicrobianos sintéticos frente a un aislamiento clínico de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a meropenem

Martinez Melina M.B¹, Faccione Diego F², Liliana Semorile², Maffia Paulo C². ⁽¹⁾ Instituto de Microbiología Básica y Aplicada, Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, AR. ⁽²⁾ Servicio Antimicrobianos, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS "Dr. C. Malbrán", Buenos Aires, AR.

Los péptidos antimicrobianos (PAMs) son moléculas promisorias para el desarrollo de nuevos fármacos debido a su rápido mecanismo de acción y la baja tasa de aparición de resistencia. En los últimos años han sido ampliamente estudiados con el objetivo de desarrollar drogas para el tratamiento de infecciones bacterianas causadas por microorganismos multirresistentes, frente a las cuales los antibióticos han quedado obsoletos. Previamente en nuestro laboratorio hemos diseñado una serie de nuevos péptidos antimicrobianos (P1, P5, P8.1 y P6.2) los cuales han demostrado amplio espectro de actividad antimicrobiana y un mecanismo de acción membranolítico. En este trabajo se evaluó su actividad antimicrobiana frente a un aislamiento clínico de *Pseudomonas aeruginosa* (*Pae* M13513) con alta resistencia a meropenem. Los PAMs evaluados exhibieron actividad antimicrobiana concentración dependiente, excepto P1. Además se evaluó el efecto sinérgico de los péptidos en combinación con meropenem. Las secuencias P5, P8.1 y P6.2 presentaron actividad sinérgica evaluada mediante cinética de muerte. Por otra parte, se evaluó tanto la capacidad de inhibir la formación de biofilm así como de romper un biofilm pre-formado y ejercer actividad antimicrobiana sobre las bacterias dentro del mismo. P1 y P5 redujeron entre un 30-40% la formación de biofilm en concentraciones por debajo de la concentración inhibitoria mínima (CIM). Sorprendentemente, frente al biofilm preformado, los 4 péptidos evaluados lograron tanto romper el biofilm como reducir la viabilidad de las bacterias dentro de este en un 60-90%, en concentraciones igual a la CIM y superiores. En contraste, los antibióticos gentamicina y tobramicina, no lograron una ruptura estadísticamente significativa del biofilm preformado y sólo fueron capaces de reducir la viabilidad de bacterias dentro del biofilm en concentraciones de 2xCIM y superiores, alcanzando como máximo el 40% de reducción de viabilidad. Estos resultados demostraron que los 4 péptidos antimicrobianos evaluados podrían ser buenos candidatos para el diseño de drogas para el tratamiento de infecciones crónicas que normalmente se encuentran asociadas a la presencia de biofilm.

MI070

Antagonist potential of microorganisms obtained from oral cavity of dogs against human cariogenic bacteria

Martins Kathia S.¹, Magalhães Lorena T.A.¹, Martins Caio A.F.¹, Pieri Fábio A.². ⁽¹⁾ Departamento de Odontologia, Dentistry, Universidade Federal de Juiz de Fora - Campus Governador Valadares, Governador Valadares, BR.

⁽²⁾ Departamento de Ciências Básicas da Vida, Medicine/Pharmacy/Dentistry, Universidade Federal de Juiz de Fora - Campus Governador Valadares, Governador Valadares, BR.

Dental carie is a process of demineralization and destruction of the teeth, by a multifactorial origin. It is associated with the formation of biofilm that consists of bacteria that adhere to the surface of the teeth, forming a structurally and functionally organized mass that is called dental plaque. The presence of *Streptococcus mutans* and the frequent consumption of sucrose are correlated with a higher prevalence of caries. In dogs the incidence of this disease is low, due to factors as the difference of dental microbiota and/or their poor feeding in sucrose. The aim of the work was to evaluate the antagonism of bacteria isolated from dogs dental plaque against *S. mutans*, for the identification of producing strains of biotechnological products for use in the prevention of caries. Were used 95 bacterial isolates from the dental plaque of dogs, from the Veterinary Department of the UFV. A spot-on-the-lawn methodology was performed using the agar BHI medium with catalase (100 IU/mL) for an initial identification of the antimicrobial activity. The isolates that were classified as antagonists were used to additional tests for confirmation of the activity, using the modified agar MRS medium containing low dextrose concentration (5g/L) incubated at 37°C/24h in anaerobiosis. After, the proteic nature of inhibition was evaluated using the following proteinases: proteinase K from *Tritirachium album*, bovine pancreatic trypsin and type XII-A alfa-amylase from *Bacillus licheniformis*. In the initial identification of the antimicrobial activity, 14 strains were classified as antagonists, and in the agar MRS test, one of the antagonist strains did not obtain satisfactory growth, being disregarded. One of the isolates (*Bacillus* sp.) showed indication of bacteriocinogenic action, having its inhibition halo on *S. mutans* deformed by the addition of trypsin enzyme. It is concluded that this bacterial isolate was indicated for biotechnological use to combat the main etiological agent of caries in humans. They also suggest that further studies are needed to evaluate a possible bacteriocinogenic nature of the antimicrobial activity of the other twelve antagonists bacterial isolates.

Acknowledgements: PROPP-UFJF, FAPEMIG, CAPES and CNPq



MI071

***mgrB* insertions mediate polymyxin B resistance in carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates from Brasília, Brazil**

Daniely Martins Da Silva¹, Danielly Rocha Nery³, Celio Faria Junior², Alex Leite Pereira^{3,1}. ⁽¹⁾ Pós Graduação em Biologia Microbiana, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, BR. ⁽²⁾ Núcleo de Bacteriologia, Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal, Brasília, BR. ⁽³⁾ Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília.

Reports on carbapenemase-producing (CP) *Klebsiella pneumoniae* have emerged worldwide, and this scenario has limited the available therapeutic options. Polymyxins are the last-resource drugs for the treatment of infections caused by CP strains. Reports on resistance to polymyxin have become each time more frequent and have worried physicians worldwide. Disruptions on *mgrB* gene have been associated with polymyxin resistance once they cause modifications on the antibiotic target (lipopolysaccharide). This study aims to analyze *mgrB* gene integrity in polymyxin-resistant and susceptible isolates of CP *K. pneumoniae*. We addressed a contemporaneous (2014 to 2016) collection (n = 142) of clinical strains of *K. pneumoniae* collected as part of a carbapenem-resistance surveillance program carried out in hospitals in Brasília-DF, Brazil. Bacterial identification and antimicrobial susceptibility profiles were performed with Vitek-MS and MicroScan systems. *mgrB* detections were performed by PCR. Additionally, *mgrB*-disrupting insertion sequences were identified with forward sequencing of *mgrB* amplicons and the sequences analysed with ISfinder. All 56 polymyxin-sensitive strains presented usual *mgrB* amplicons displaying around 250 bp. Among 86 polymyxin-resistant strains, 49 had insertional disruptions of *mgrB* with unusual amplicons of length around 1250 bp. Thirteen unusual *mgrB* amplicons were sequenced. The IS5-like element was identified in 90% of the strains, with IS903 being the most frequent insertion sequence identified. We also found four strains one of each harboring ISKpn13-, ISEcp1-, IS10L- and IS-6-disrupted *mgrB* genes. In conclusion, our data showed that insertional mutations on *mgrB* is the predominant mechanism involved with polymyxin resistance in clinical strains of *K. pneumoniae* recovered in hospitals in Brasília-DF, Brazil.

Fundação de Apoio a Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF Grant 193.000713/2016)



MI072

A substitution of negative amino acid residues for positive residues in the γ -core motif from defensin *PvD*₁ causes an increase in antimicrobial activity in yeasts

Érica Mello¹, Gabriel Taveira¹, André Carvalho¹, Valdirene Gomes¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, BR.

Introduction: Plant defensins are small cysteine-rich antimicrobial peptides. Their three-dimensional structures are similar and consist of an α -helix and three anti-parallel β -strands stabilized by four disulfide bonds. Each defensin has a hallmark γ -core motif (GXCX₃₋₉C), which contains major determinants of its antifungal activity. The plant defensin *PvD*₁ presents antimicrobial activity against different yeasts, mainly *Candida* sp. **Objective:** To evaluate the antimicrobial activity and to study the mechanism of action of synthetic peptides derived from γ -core motifs of the defensin of plant *PvD*₁, on yeast cells. **Materials and methods:** Four peptides derived from γ -core motifs of *PvD*₁ with different modifications, were drawn. The mechanism of action of these peptides on *C. albicans* and *C. buinensis* cells was evaluated by growth inhibition, evaluation of the minimal inhibitory concentration (MIC), viability, plasma membrane permeabilization, ROS induction, caspase activation and mitochondrial functionality, as assessed with Sytox green, 2',7' dichlorofluorescein diacetate, FITC-VAD-FMK, and rhodamine 123. **Results and discussion:** Our results showed that positively charged peptides were able to cause the most toxic effects in the yeasts tested, leading to membrane permeabilization, viability loss, increase of endogenous ROS, activation of caspase and loss of mitochondrial functionality. On the other hand, other two peptides that showed no increase in the overall charge failed to cause damage to the cells tested. **Conclusion:** In the case of the γ -core of *PvD*₁, the substitution of negative amino acid residues for positive residues is related to the increase of antimicrobial activity.

Supported by: CAPES, FAPERJ and CNPq

MI073

LyeTx I_b a synthetic peptide active on bacteria, in planktonic and biofilm conditions

Reis Pablo VM¹, Lima Vinícius M², Melo-Braga Marcella N³, Resende Jarbas M⁴, Santos Daniel M⁵, Pimenta Adriano MC³, Santos Vera L⁶, Maria Elena De Lima^{7,3}. ⁽¹⁾ Bioquímica e Imunologia, Doutorado em Bioquímica, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽²⁾ Bioquímica e Imunologia, Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽³⁾ Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽⁴⁾ Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽⁵⁾ Serviço de Proteômica e Aracnídeos, Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte, BR. ⁽⁶⁾ Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽⁷⁾ Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Biomedicina e Medicina., Instituto de Ensino e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte, Belo Horizonte, BR.

Super-resistance bacteria are an emerging public health problem, increasing the need to develop new drugs and strategies to combat the superbugs. Our group had previously identified a potent antimicrobial peptide (LyeTx I) isolated from the venom of the spider *Lycosa erythrognatha*. By using this molecule as a template, we synthesized and characterized a derived peptide named LyeTx I_b, which showed a activity *in vitro* (planktonic and biofilm of bacteria) as well as *in vivo* (mouse model of septic arthritis). Due to the biotechnological/pharmaceutical potential of this peptide, the aim of this work was to elucidate its secondary structure by using NRM technique, and to test its antimicrobial activity in clinically isolated strains in planktonic and biofilm conditions. The structure of LyeTx I_b helix did not show a clear partition between hydrophobic and hydrophilic faces, similarly to LyeTx I. However, LyeTx I_b showed higher structural stability near the N-terminus, when compared to the native peptide, certainly due to the terminal amine acetylation. Moreover, the minimum inhibitory concentration (MIC) was determined in 12 different clinically isolated strains. In the strains *A. baumannii*, *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. aureus* the peptide LyeTx I_b had a twofold higher activity than LyeTx I. The activities on the other strains were similar for both peptides, although two strains of *Serratia sp* were not susceptible to them. In a death curve assay in *S. aureus* we found that the bacterial killing time is linked to the concentration of the peptides indicating more than one mechanism of action in these bacteria. In the *S. aureus* strain biofilm assay, LyeTx I_b activity was more potent than the native peptide. However, both peptides were not able to reduce biofilm from Gram negative *A. baumannii*. In summary, these results showed that LyeTx I_b could be a good drug to be used against clinically strains and also as template for the development of new antibiotics.

CAPES, CNPq and FAPEMIG

MI074

Resistencia fenotípica y genotípica a quinolonas en cepas de *Bartonella bacilliformis* circulantes en localidades endémicas del Perú

Giovanna Mendoza¹, Yanina Zárate². ⁽¹⁾ Laboratorio de Metaxenicis Bacterianas, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Lima, PE. ⁽²⁾ Laboratorio Metaxenicis Bacterianas, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Lima, PE.

Bartonella bacilliformis es el agente etiológico de la enfermedad de Carrión, endémica en Ecuador, Colombia y Perú; los reportes recientes corresponden únicamente al Perú, produciéndose brotes esporádicos en localidades de extrema pobreza, resultando afectados mayormente la población infantil. Los esquemas de tratamiento establecidos para el tratamiento antimicrobiano de la enfermedad, consideran quinolonas, siendo importante evaluar la susceptibilidad de los microorganismos a estas drogas con la finalidad de asegurar la eficacia del tratamiento. **Objetivos:** Secuenciar regiones de genes asociados a resistencia en cepas de *Bartonella bacilliformis* circulantes en Perú, fenotípicamente resistentes a quinolonas. **Materiales y métodos:** Se realizó la evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de 106 cepas de *Bartonella bacilliformis*, aisladas de pacientes procedentes de localidades endémicas de Ancash, Cusco, Cajamarca, Lima, La Libertad y Piura; se seleccionaron las cepas con resistencia fenotípica a quinolonas, se extrajo el DNA bacteriano y se amplificaron por PCR las regiones determinantes de resistencia al antimicrobiano; los fragmentos amplificados fueron purificados y secuenciados usando el analizador genético Applied Biosystem 3500XL, caracterizando molecularmente los genes de resistencia: Topoisomerasa II (codificada por los genes *gyrA* y *gyrB*) y Topoisomera IV (*parC* y *parE*). El análisis bioinformático de las secuencias se realizó mediante BioEdit 7.0 y MEGA 5.2 hasta obtener la secuencia consenso, los alineamientos se analizaron en CLUSTALW 2.1. **Resultados:** Se encontraron mutaciones dentro de las regiones de QRDR (Región Determinante de Resistencia a Quinolonas) para los genes *gyrA*, *gyrB*, *parC*, no se encontraron mutaciones para el gen *parE*. Se reporta los hallazgos de mutaciones fuera de la QRDR en las siguientes posiciones: A1374G, T1416C, G1674T; confirmando un acúmulo de mutaciones que podrían influenciar en el mecanismo de resistencia a las quinolonas. **Conclusiones:** Los resultados obtenidos en la investigación demuestran la circulación en localidades del Perú, de cepas de *Bartonella bacilliformis* resistentes fenotípica y genotípicamente a quinolonas y que presentan mutaciones en genes involucrados en la resistencia antimicrobiana a estos fármacos utilizados en el tratamiento de la enfermedad de Carrión, recomendándose ampliar las investigaciones respecto a la conveniencia de su utilización en el tratamiento de esta etiología infecciosa.

Instituto Nacional de Salud Lima Peru

MI075

Análisis *in silico* de genes de resistencia a antibióticos: definiendo el resistoma de *Piscirickettsia salmonis*

Bruno Milesi¹, Jorge Olivares¹, Marshall Sergio H.¹, Gómez Fernando A.¹. ⁽¹⁾ Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL.

La bacteria gram negativa *Piscirickettsia salmonis*, es causante de la Septicemia Rickettsial del Salmón (SRS) o Piscirickettsiosis, enfermedad sistémica que afecta gravemente a peces de cultivo. Debido a su naturaleza intracelular, su prevención y control no ha sido lograda con estrategias convencionales, siendo el uso de antibióticos, tales como oxitetraciclina y florfenicol, los que mejores efectos han logrado. Aun así la enfermedad no ha podido ser erradicada desde los centros de cultivo, generando pérdidas anuales de US\$700-800 millones. El excesivo uso de antibióticos ha seleccionado cepas resistentes, las que podrían comenzar a ser refractarias a los tratamientos y generar un problema sanitario aún peor. A pesar de que hoy en día existen análisis de resistomas en *P. salmonis*, éstos se limitan a cepas específicas, por lo que en este trabajo se analizaron *in silico* 31 genomas disponibles de distintos aislados del patógeno, obtenidos de los servidores NCBI y RAST, para la identificación y caracterización de su resistoma, a través, de la herramienta online CARD. Entre los resultados más relevante se puede mencionar que se han, encontrando 9 genes comunes entre cepas asociados a la resistencia a los antibióticos de la familia de las quinolonas. Es así como se logró, identificar sus regiones QRDR (quinolone resistance determining region) y DRDR (Drug resistance determining regions) y sus mutaciones asociadas mediante sucesivos alineamientos utilizando el software CLC Main workbench. Utilizando los 9 genes de resistencia fue posible realizar un MLSA, el que logró discriminar correctamente entre cepas de los genogrupos LF89-like y EM90-like, siendo este último genogrupo el contenedor de mayor número de mutaciones en los diversos genes encontrados. También se encontró una mayor probabilidad de resistencias a quinolonas, antibiótico actualmente en desuso, mientras que genes dirigidos a la resistencia de antibióticos como oxitetraciclina y florfenicol no aparecieron en el análisis, dando la posibilidad que la resistencia hacia estos últimos sea una resistencia intrínseca de la bacteria o sea algún gen contenido en alguno de los plásmido de esta bacteria.

Proyecto FIEV014 (Cepario nacional *Piscirickettsia salmonis*)

MI076

La inactivación del gen *glnA* que codifica para la glutamina sintetasa, aumenta la producción de OmpF y con ello la sensibilidad a quinolonas en *Salmonella enterica* serovar Typhi

Ana Millanao^{1,2}, Nicolás Villagra², Guido Mora², Alejandro Hidalgo². ⁽¹⁾ Instituto de Farmacia, Ciencias, Universidad Austral de Chile. ⁽²⁾ Laboratorio de Patogénesis Molecular y Antimicrobianos, Medicina, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

La emergencia de *Salmonella enterica* serovar Typhi resistente a antimicrobianos requiere la búsqueda de nuevos blancos de susceptibilidad. Con el objeto de encontrar potenciales nuevos blancos se realizó un screening con concentraciones subletales de ciprofloxacino a 3.216 mutantes *S. Typhi* STH2370 *zxx::EZ-Tn5*, y caracterizamos la mutante *glnA*, gen que codifica para glutamina sintetasa, esencial para la síntesis de glutamina en enterobacterias. Pruebas de difusión en agar y determinación de la CIM indicaron que todas las mutantes nulas en *glnA* (*glnA::EZ-Tn5*, *glnA::kan* y *glnA::FRT*) la susceptibilidad a ciprofloxacino incrementó al doble, respecto la cepa silvestre. El perfil de proteínas de membrana externa reveló un aumento de OmpF de 3,5 veces en la mutante *glnA::FRT*, porina involucrada en la entrada de ciprofloxacino y ácido nalidíxico. Análisis de RT-qPCR revelaron que *ompF* está aumentada en 4,4 veces en la mutante *glnA::FRT*, respecto la cepa silvestre. Para conocer si existe relación entre la expresión de *glnA* y *ompF*, se construyeron cepas con *glnA*, *ompF* y STY4173 (gen control) bajo el control del promotor *tetA*, inducible por tetraciclinas. La inducción de *glnA* con clortetraciclina disminuyó la expresión de *ompF*, al mismo tiempo que disminuyó la susceptibilidad a ciprofloxacino. A su vez, la inducción de *ompF* con clortetraciclina incrementó el halo de inhibición a ciprofloxacino, mientras la expresión de STY4173 no produjo cambios. En la mutante *glnA* inducible, en ausencia de clortetraciclina, *ompF* se sobreexpresó 5 veces más respecto la cepa silvestre, valor similar a la mutante *glnA::FRT*. Para determinar si mecanismos distintos a OmpF estarían involucrados en el fenotipo de susceptibilidad encontrado, se midió la expresión de los genes *ompC*, *acrB*, *tolC*, *marR*, *marA* y *ramA*, sin encontrarse diferencias. Estos resultados sugieren que la entrada por *ompC*, la expulsión del antimicrobiano por la bomba de expulsión AcrB-TolC y reguladores de estas vías no estarían afectados. De acuerdo con estas observaciones la inactivación de *glnA* produce un incremento de la expresión de *ompF* a nivel transcripcional, lo que sugiere un incremento de la proteína OmpF facilitando la entrada de ciprofloxacino e incrementando la susceptibilidad en las mutantes *glnA* de *S. Typhi*.

Beca CONICYT 21120035, Beca de apoyo para realización de tesis doctoral CONICYT 2015 (AM), Proyecto FONDECYT 1151393 (GM), Proyecto FONDECYT Iniciación 11150588 (AH), Proyecto ECOS-CONICYT C16B04 (AH)

MI077

***Staphylococcus aureus* biofilm inhibition by extracts of coriander (*Coriandrum sativum*), laurel (*Laurus nobilis*) and paprika (*Capsicum annuum*) grown in Argentina**

Molina Rocío D. I.¹, Macedo Alexandre J.^{1,2}, Arena Mario E.¹.⁽¹⁾ Instituto de Biotecnología Farmacéutica y Alimentaria (INBIOFAL-CONICET-UNT), Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán, AR. ⁽²⁾ Centro de Biotecnología, Universidad Federal de Río Grande del Sur, Porto Alegre, BR.

Staphylococcus aureus is one of the main causes of foodborne diseases and of nosocomial infections in the clinical environment. The increasing importance of this particularly virulent microorganism is based in its production of protective biofilm and at the rise in antibiotic resistance. Thus, *S. aureus* is an important concern in the food industry and clinical environment. Extracts of coriander (*Coriandrum sativum*), laurel (*Laurus nobilis*) and paprika (*Capsicum annuum*) spices are generally recognized as safe products possessing a wide variety of biological activities reported. The aim of this work was to determine the antibiofilm properties of extracts of coriander, laurel and paprika against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Extracts were prepared by maceration with increasing polarity solvents at room temperature. Five extracts (E) of each spice were obtained: hexane (HE), chloroform (CE), ethyl acetate (EAE), methanol (ME) and total methanol (TME). The antibiotic activity was evaluated by determination of absorbance and inhibition of biofilm was assayed by the crystal violet staining method. Biofilm formation of *S. aureus* ATCC 6538 was significantly inhibited ($p < 0.05$) in a range of 40 to 63% by the presence of 100 $\mu\text{g/ml}$ of the most of the extracts. Six were selected for further analysis in microscopy. Scanning electron microscopy images of biofilms and confocal laser scanning microscopy with live/dead stain were analyzed. Microscopic data successfully corroborated with our *in vitro* crystal violet assay. The extracts CE of coriander and HE of laurel possess the best performance, since these inhibits biofilm formation without affecting the growth of *S. aureus*. Therefore this activity does not exert selective pressure, avoiding the appearance of resistance, being an important technological approach in the post-antibiotic era.

CNPq and FAPERGS

MI078

Primera descripción de aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* con fenotipo hiper mucoviscoso

Camila Caro¹, Felipe Morales-León², Andres Opazo-Capurro², Celia Lima², Mariana Domínguez², Gerardo González-Rocha², Helia Bello-Toledo². ⁽¹⁾ Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Concepción, CL. ⁽²⁾ Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL.

Klebsiella pneumoniae es considerado un patógeno oportunista siendo un importante agente etiológico en infecciones intrahospitalarias. En 1986 se realiza en Taiwan, la primera descripción de una nueva variante conocida como *K. pneumoniae* hipervirulenta (hvKP), la cual se relaciona con graves infecciones en individuos sanos y pacientes ambulatorios. Recientemente, se ha informado la presencia de este fenotipo en Argentina y Brasil. Los aislados hvKP producen un exopolisacárido abundante lo que produce un fenotipo conocido como hiper mucoviscoso (hmKP), el que puede contribuir significativamente a la patogenicidad de hvKP. Adicionalmente, se han encontrado varios factores de virulencia de los cuales destacan los genes *magA*, *rmpA* y *rmpA2* los que se asocian con hvKP. En Chile, no existe información sobre la presencia de aislados hmKP, por lo cual, el objetivo de este trabajo fue pesquisar en aislados de *K. pneumoniae* de origen clínico el fenotipo hmKP. Se realizó el test de filancia en placas de agar TS-sangre las que fueron incubadas a 37°C por 18 – 24 h. Se consideró prueba positiva, la formación de colonias que generaron un filamento mucoso con una extensión ≥ 5 mm. A los aislados con fenotipo hmKP se les realizó curvas de crecimiento y ensayos de virulencia para determinar la capacidad bactericida de sangre total. Los serotipos capsulares K1 y K2 y la presencia de genes de virulencia *magA*, *rmpA* y *rmpA2* fueron determinados mediante PCR convencional. Se incluyeron 126 cepas de *K. pneumoniae* aisladas durante los años 2012 – 2013, disponibles en la colección de cepas del Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos (LIAA). Del total de los aislados estudiados, dos de ellos fueron clasificados como hmKP. Ambos aislados son productores de β -lactamasa de espectro extendido (BLEE) tipo CTX-M grupo 1, 2 y 9 y su fenotipo de resistencia incluye antibióticos como aminoglicósidos, quinolonas y carbapenémicos, incluido imipenem. No se observaron diferencias en las fases de crecimiento de las cepas estudiadas y en ninguno de los aislados se detectaron los genes de virulencia estudiados. En Chile, por primera vez se reporta la presencia de aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* multirresistente con fenotipo hiper mucoviscoso.

Beca Doctorado Nacional Comisión Nacional de Investigación, Ciencia y Tecnología, CONICYT N°21160336, Chile; Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos (LIAA), Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción

MI079

Propiedades biológicas del complejo [Co(abimid)2(acetato)2]+, un compuesto con actividad dual

Laura Navarro³, Atria Ana María⁴, Jose Parada², Gino Corsini¹. ⁽¹⁾ Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Química Inorgánica y Analítica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile ⁽⁴⁾ Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL.

En la actualidad se sabe que los iones metálicos tienen un rol de gran relevancia en procesos biológicos y en el desarrollo de compuestos para terapia o diagnóstico de enfermedades. Nuestro grupo tiene particular interés en el desarrollo de compuestos con metales de transición que presenten actividad antibacteriana. En este contexto, se sintetizó el complejo [Co(abimid)2(acetato)2]+, donde (abimid= 1H-benzimidazol-2-amina). La actividad antibacteriana del complejo se determinó mediante experimentos *in vitro* de difusión en agar sobre bacterias Gram negativo y positivo y se determinó su concentración inhibitoria mínima sobre las bacterias sensibles. Utilizando el ensayo colorimétrico, se determinó el tipo de efecto antibacteriano de este complejo y se analizó el mecanismo de ingreso a la célula bacteriana, empleando cepas con mutaciones en genes que codifican para la vía de internalización de sideróforos. Se utilizaron ensayos de difusión en agar para determinar diferencias en la actividad antibacteriana entre las cepas con mutaciones y una cepa control y se calculó el valor p para determinar las diferencias estadísticamente significativas. Se estudió la interacción del complejo con bombas de expulsión de antibióticos mediante ensayos en placa usando una bacteria resistente a tetraciclina. También se analizó la citotoxicidad del complejo sobre células humanas no tumorales, mediante ensayos *in vitro* con MTT. Los resultados muestran que el complejo presenta actividad antibacteriana sobre bacterias Gram positivo y negativo mediante un efecto bacterioestático y es capaz de inhibir bombas de expulsión de la familia RND. Este complejo ingresa a la célula bacteriana mediante los receptores de sideróforos, pero se desconoce el sistema de translocación utilizado. El complejo [Co(abimid)2(acetato)2]+ presenta una menor toxicidad sobre fibroblastos humanos, en comparación al acetato de cobalto utilizado como precursor. La síntesis de [Co(abimid)2(acetato)2]+ utilizando el ligante abimid, generó un compuesto con actividad dual, que posee por un lado la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano, mediante un efecto bacteriostático y por otro lado, posee la capacidad de inhibir bombas de expulsión, para potenciar la actividad de antibióticos en bacterias resistentes.



MI080

Antibiotic susceptibility of *Salmonella enterica* isolated from a poultry production chain in Brazil

Grossi Juliana Libero², Lima Izabella R. P.², Martins Bruna T. F.², Yamatogi Ricardo Seiti², Call Douglas Ruben¹, **Nero Luís Augusto**². ⁽¹⁾ Paul G. Allen School for Global Animal Health, Washington State University, Pullman, US. ⁽²⁾ Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, BR.

Salmonella enterica is an important pathogen that affects people and animals, and the extensive use of antibiotics in food-animal agriculture has likely contributed to the emergence, enrichment and spread of antibiotic-resistant strains. The objective of this study was to characterize the prevalence of antibiotic resistant *Salmonella* obtained from a poultry production chain located in Brazil. A panel of 96 *Salmonella* isolates (out of 172 isolates from different points of poultry slaughtering, including bird cages, equipment, utensils and chicken carcasses) was selected based on distinct PFGE profiles (*Xba*I). Isolates were tested for antibiotic susceptibility to 12 different antibiotics using a broth dilution method (minimal inhibitory concentration; MIC). CLSI recommendations were followed and negative and positive controls were included. Optical densities of the cultures (610 nm) were recorded after 18 h of incubation at 37°C. Resistance and susceptibility results were based on CLSI criteria except for streptomycin for which MIC >16 µg/mL was considered resistant. Resistance to two or more antibiotics from different classes was characterized as multidrug resistant. Only a few of the *Salmonella* strains were resistant to the tested antibiotics (0 to 34.4%): gentamicin (n = 3), kanamycin (n = 2), streptomycin (n = 33), trimethoprim & sulfamethoxazole (n = 2), tetracycline (n = 5), chloramphenicol (n = 3), ampicillin (n = 11), ceftiofur (n = 6), ceftazidime (n = 1), ciprofloxacin (n = 2), ertapenem (n = 1), and meropenem (n = 3). Seven strains were multidrug resistant, and one strain (*Salmonella* Heidelberg) was resistant to all tested antibiotics. All multidrug resistant strains were obtained from chicken carcasses. The relatively low frequencies of resistance in *Salmonella* strains observed in this study are in agreement with the official data from the Brazilian Ministry of Health obtained through PREBAF, a national poultry surveillance program. Despite the low frequency of resistance amongst the selected *Salmonella* strains, the presence of multidrug resistant and carbapenem-resistant strains in chicken carcasses indicates a concern for human health.

CAPES, CNPq, FAPEMIG, FUNARBE



MI081

Resistencia a antibióticos en bacterias aisladas de aguas residuales rurales procedentes de un feedlot de Buenos Aires, Argentina

Carina Tornello¹, Celio Chagas², Oscar Santanatoglia², Filiipe Kraemer², Lidia Nuñez¹, Juan Moretton¹.
⁽¹⁾ Salud Pública e Higiene Ambiental, Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, AR. ⁽²⁾ Manejo y Conservación de Suelos, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, AR.

Los antimicrobianos se han utilizado en animales para el tratamiento de enfermedades, para la prevención y el control de enfermedades, y también como promotores de crecimiento. El gran uso de antibióticos proporciona condiciones favorables para la selección, propagación y persistencia de bacterias resistentes a los antimicrobianos. El medio ambiente acuático se considera como un escenario fundamental para la liberación, transformación, mezcla y persistencia de residuos de antibióticos, y diseminación de bacterias resistentes a antibióticos. El objetivo de este trabajo es evaluar la presencia de bacterias resistentes a antibióticos, en el sistema de vaguadas naturales que conecta un feedlot de la Pampa Ondulada con el Arroyo Burgos. Se tomaron muestras estacionales de agua en condiciones de resuspensión de sedimentos en la salida del feedlot (punto 1), en los puntos 2, 3 y 4 que se localizan en sitios alejados en forma creciente del punto 1, durante 2012 a 2017. Se determinó la prevalencia de bacilos Gram negativos resistentes a antibióticos a través del método de dilución en agar. Para calcular el porcentaje de bacilos gram negativos resistentes se inocularon diluciones de las muestras en el medio violeta rojo bilis lactosa agar (VRBLA) con y sin antibióticos. Se utilizaron: ceftriaxona, y ceftazidima, ceftiofur, oxitetraciclina y clortetraciclina. En el punto 1 se detectaron bacterias resistentes a todos los antibióticos ensayados. En todas las muestras se observaron bacterias resistentes a oxitetraciclina y ceftazidima. En el punto 1, se detectó una mayor prevalencia de bacterias resistentes a todos los antibióticos ensayados con un 15% y un 25% de bacterias resistentes a oxitetraciclina y clortetraciclina respectivamente. En todos los sitios de muestreo, los estudios de regresión indicaron que el 95% de las bacterias resistentes a ceftazidima también lo son a ceftriaxona. Con relación a las cefalosporinas, se detectó una alta prevalencia de bacterias resistentes a ceftiofur (15%) en el sitio 1 que disminuye en el sitio 4 al 0,15%. Podemos considerar que la cría intensiva de ganado contribuye a la diseminación de bacterias resistentes y esto representa un riesgo para la salud pública.

MI082

Genomics and metabolomics characterization of *Streptomyces fildesensis* isolated from Antarctic soil as a source for discovery of antibiotics

Kattia Núñez^{3,1,2}, Claudio Lamilla², Michel Abanto³, Fumito Maruyama⁴, Milko Jorquera^{3,5}, Khalil Zeinab G⁶, Capon Robert J⁶, Leticia Barrientos^{3,2}. ⁽¹⁾ Centro de Investigación en Biotecnología, Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, CR. ⁽²⁾ Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Laboratorio de Biología Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, Temuco, CL. ⁽³⁾ Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Universidad de La Frontera, Temuco, CL. ⁽⁴⁾ Department of Microbiology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, JP. ⁽⁵⁾ Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada, Universidad de La Frontera, Temuco, CL. ⁽⁶⁾ Institute for Molecular Bioscience, The University of Queensland, Brisbane, AU.

Resistance to all major antibiotic classes has given rise to multidrug-resistant pathogens and identification of novel antibiotics has fallen dramatically. As a result, we are in urgent need to discover new antimicrobials to counteract the threat from antibiotic resistance. Unexplored pristine and extreme environments, have been suggested as a source for the discovery of antimicrobials. In our study, we aimed to explore the Antarctic untapped environment as source for the discovery of new antibiotics. We were able to isolate >30 actinobacteria from samples collected in Antarctic peninsula. These strains have been subjected to preliminary chemical and biological profiling. In general, the growth of pathogenic bacteria was inhibited by all crude organic extracts from Antarctic *Streptomyces* strains. Of particular interest, we evaluated the antibacterial properties of *Streptomyces fildesensis* (So13.3) isolated from Antarctic soil. The crude extracts exhibited potent antibacterial activity against G+ve and G-ve bacteria, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with MIC 15.6 µg/mL. Furthermore, the biosynthetic clusters (BGCs) encoding for the antimicrobial secondary metabolites of *S. fildesensis* So13.3 was evaluated by genome sequencing and bioinformatics analysis, suggesting a 9.18 Mb genome size with 70.26% GC-content, 8730 CDSs and 43 putative BGCs including: type I and II polyketide-synthase, non-ribosomal peptide-synthetase, lantipeptides, terpenes, bacteriocins, melanin, siderophores and butyrolactone. No similarities with known BGCs were found for 20 of the 43 clusters. Moreover, this strain was cultivated in different media compositions (x12) to generate a set of crude extracts which were analyzed using HPLC-QTOF-MS/MS and Natural Products Social Networking (GNPS) dereplication function. The combination of chemistry and genomics revealed the presence of untapped BGCs that can produce more than 700 metabolites (with molecular weights range from 100 to 900 *m/z*) which vary based on the culture condition and/or media. Most of these metabolites did not match with any known metabolites in the GNPS database. Spectral matches were found with small precursors, such as 3-hydroxy-4-methoxycinnamic acid; lipids, as the phosphatidylethanolamine PE(16:0/16:1(9Z)); and antimicrobial compounds, as piericidin-A and surfactin. Our results confirm the potential to explore new microbial sources (i.e Antarctica) and showed that *S. fildesensis* So13.3 has the potential to produce new antibiotics.

Grants INACH RT_14-12; Universidad de La Frontera DI17-0116 and Convenio Marco Plurianual FRO1656; grant by JST/JICA SATREPS; and Doctoral Grant CONICYT- PFCHA/Doctorado Nacional/2017-21170263.

MI083

***Klebsiella pneumoniae* portadora de bla_{KPC-2} , $aph(3')$ -VIF, plasmídeos e genes de virulência, isolada de infecção urinária com desfecho de óbito em Recife-PE, Brasil**

Oliveira, Érica M.¹, Medeiros, Renata Daniele A¹, Beltrão, Elizabeth M. B.¹, Vasconcelos, Crhisllane R. S.², Firmo, Elza F.¹, Rezende, Antônio M.³, Lopes, Ana Catarina S.¹. ⁽¹⁾ Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽²⁾ Departamento de Genética - PPGG, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽³⁾ Departamento de Microbiologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhaes- CPQAM-FIOCRUZ, Recife, BR.

Klebsiella pneumoniae é uma das principais enterobactérias envolvidas em infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) e a sua presença pode aumentar o risco de disseminação de mecanismos de resistência e virulência por meio de plasmídeos conjugativos ou mobilizáveis. Portanto, esse estudo teve como objetivo realizar uma análise do DNA plasmidial, bem como detectar a presença de genes de virulência (*mrkD*, *irp2* e *cps*), genes de resistência e de incs plasmidiais em um isolado clínico de *K. pneumoniae* (K6-U), proveniente de uma amostra de urina de uma paciente com 60 anos de idade, internada em unidade de terapia intensiva em janeiro de 2016, em um hospital terciário da cidade do Recife-PE, Brasil. Durante o período de seis meses de internamento, a paciente foi tratada com oito antimicrobianos diferentes, de oito classes distintas (eritromicina, meropenem, linezolida, piperacilina/tazobactam, teicoplanina, fluconazol, ciprofloxacina e micafungina) e após 167 dias de hospitalização a paciente foi a óbito relacionado à infecção por *K. pneumoniae*. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética, Plataforma Brasil. A detecção dos genes foi realizada através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e pela análise da sequência de DNA plasmidial. O DNA plasmidial foi extraído por kit comercializável e quantificado pela plataforma fluorimétrica Qubit. A análise geral do sequenciamento plasmidial demonstrou que 42,6% dos genes estavam relacionados com a virulência e defesa e 10,2% com a aquisição e metabolismo de ferro. Foi detectado o gene bla_{KPC-2} inserido no transposon Tn4401 e o gene $aph(3')$ -VIF, além de genes de resistência a metais pesados (*Ars*, *Cop* e *Ter*). Os genes *mrkD*, *irp2* e *cps* pesquisados por PCR foram encontrados. Foram detectados os plasmídeos IncQ e IncHI1B, sendo o primeiro relato do plasmídeo conjugativo IncHI1B no Brasil. O incQ é pouco relatado e representa um plasmídeo que apesar de não ser conjugativo, é mobilizável e bastante promíscuo. Todos esses achados revelam a ameaça do potencial de disseminação plasmidial de resistência, como também do arsenal genético de resistência e virulência encontrado nesse isolado bacteriano, que se mostrou altamente patogênico, levando a óbito a paciente hospitalizada.

Propesq, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil (Edital Multiusuários)

MI084

Avaliação da atividade antibacteriana da água da prata coloidal

Oliveira Anne Caroline Dias¹, Dos Santos Leonardo Teles¹, Da Silva Alexandra Barbosa¹, De Souza Vitória Mylena Gonçalves¹, Folha Jessica Dos Santos², Lins Juliana Paiva¹. ⁽¹⁾ Microbiologia, Ciências Biomédicas, Faculdade Anhanguera de Brasília, Brasília, BR. ⁽²⁾ Biologia Molecular, Ciências Biomédicas, Universidade de Brasília, Brasília, BR.

A prata coloidal apresenta efeitos bactericidas e já é utilizada a bastante tempo devido seu efeito antimicrobiano. As finíssimas partículas da prata, na forma de colóide, ocupam espaços moleculares causando a morte de células e microrganismos por falta de oxigênio. *Escherichia coli* é classificada como uma bactéria bacilar gram-negativa e está relacionada à gastroenterites e infecções urinárias. Vários pesquisadores relataram a ocorrência de cepas e *E. coli* patogências isoladas de carne suína e outros alimentos que apresentaram resistência a diversos antimicrobianos. Nesse contexto o objetivo do nosso trabalho foi avaliar a ação antibacteriana da água da prata coloidal frente a bactéria *Escherichia coli*. As análises foram realizadas através da técnica de difusão por poço, 5 poços com 6 mm de diâmetro foram feitos, com o auxílio de um molde no meio de cultura ágar Mueller Hinton em placas de Petri, e a atividade antibacteriana da água de prata coloidal foi aferida observando-se a formação ou não de halos. As placas foram inoculadas com a *E. coli* (ATCC 25922) e para a homogeinização da bactéria utilizamos uma alça de drigalski e, então, os poços foram preenchidos com 25 µL de concentração da água da prata coloidal. Água estéril e estreptomicina 10 mg/mL foram utilizados como controles. Após a realização dos testes verificou-se formação de halo inibitórios de 12 a 13 mm de diâmetro pela água de prata coloidal. Estreptomicina utilizada como controle positivo apresentou halos inibitórios de 24 mm de diâmetro. Assim, o presente trabalho, demonstrou a sensibilidade da *E. coli* a água prata coloidal através da formação dos halos de inibição. No entanto, observou-se a formação de menores halos em relação a estreptomicina. Diante do observado, pode-se concluir que a água de prata apresenta indícios de propriedades antibacterianas frente a *E. coli* oferecendo subsídios para pesquisas posteriores como potencial antimicrobiano para infecções causadas por esta bactéria.

Fundação de Apoio a Pesquisa do Distrito Federal



MI085

Atividade do plasma frio em pressão atmosférica frente a biofilmes de espécies relacionadas a feridas crônicas infectadas

Oliveira Maria Alcioneia Carvalho¹, Gouvêa Lima Gabriela Morais¹, Sabrina Rovetta De Moura¹, Nishime Thalita Mayumi Castaldell², Kostov Konstantin Georgiev², Cristiane Koga-Ito Yumi¹. ⁽¹⁾ Genoma, Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Júlio de Mesquita Filho (UNESP), São José dos Campos, BR. ⁽²⁾ Física e Química, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, Universidade Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Guaratinguetá, CL.

O manejo clínico e tratamento das feridas crônicas têm sido considerados um dos maiores desafios nas áreas médicas. *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSA) e *Enterococcus faecalis* são frequentemente associados a quadros de infecção de feridas crônicas, os quais resultam em altas taxas de morbidade e mortalidade. O plasma frio sob pressão atmosférica (LTAPP) apresenta atividades antimicrobiana, anti-inflamatória e reparadora tecidual e pode representar uma terapia alternativa promissora no tratamento de feridas crônicas infectadas. Desta forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a ação do LTAPP frente a biofilmes de MRSA e *Enterococcus faecalis*. Biofilmes monoespécies foram formados em placa de 96 poços e incubados por 48 horas a 37^o C. Em seguida, foram expostos ao LTAPP por 1, 3, 5 e 7 minutos. O gás utilizado foi o Hélio em fluxo de 2,0 SLM. Os parâmetros físicos adotados foram frequência 32 kHz e potência 1,0 W. A distância entre a saída do jato de plasma e a superfície do biofilme foi fixada em 1,5 cm. Grupo controle não exposto foi incluído. Os experimentos foram realizados em triplicata em três ocasiões diferentes. Redução significativa no número de células viáveis em biofilme de *E. faecalis* foi observado a partir de 1 minuto de exposição ao LTAPP ($p < 0,01$). Para biofilmes de MRSA, redução significativa da viabilidade do biofilme foi observada a partir de 5 minutos de exposição ao LTAPP ($p < 0,01$). Conclui-se que o LTAPP reduziu significativamente a viabilidade de biofilmes de MRSA e *E. faecalis*.

Funding by CNPq 405653/2016-6

MI086

Evaluación de la capacidad de compuestos provenientes del orujo de uva para inhibir bombas de expulsión presentes en *Salmonella enterica* serovar Typhimurium

Camila Retamal¹, Leonora Mendoza², Marcela Wilkens¹, Loreto Sanhueza³. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Básica y Aplicada, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Micología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Núcleo de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, CL.

Las bombas de expulsión participan en procesos de transporte de metabolitos y detoxificación intracelular, sin embargo, también presentan un rol importante en la multiresistencia bacteriana. En *Salmonella enterica* serovar Typhimurium se han descrito distintas bombas de expulsión, como, por ejemplo, AcrAB-TolC y SmvA, capaces de expulsar compuestos nocivos para la bacteria. Debido a esto, se ha desarrollado como estrategia para contrarrestar la multiresistencia la búsqueda de inhibidores de bombas de expulsión (EPis), más aún, aquellos de origen natural. Se ha descrito que flavonoides tales como: 5-metoxihidnocarpina, epigallocatequina presentan actividad inhibitoria contra estos sistemas de expulsión. El orujo de uva, residuo de la industria vitivinícola, es una buena fuente de este tipo de compuestos, por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de extractos y compuestos provenientes del orujo de uva de inhibir las bombas de expulsión AcrAB-TolC y SmvA presentes en *S. Typhimurium*. Para esto, se trabajó con una cepa nativa y dos cepas mutantes ($\Delta acrB$ y $\Delta smvA$), y se determinó la concentración mínima inhibitoria (MIC) de extractos de orujo de uva fraccionados con solventes de distinta polaridad; hexano, diclorometano y acetato de etilo, además de flavonoides previamente identificados en estos extractos (quercetina, (+)-catequina y (-)-epicatequina); presentando valores de MIC entre 690 a 3000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Para evaluar la capacidad inhibitoria sobre bombas de expulsión de extractos y compuestos se realizaron ensayos de fluorescencia, utilizando bromuro de etidio como sustrato. El efecto se comparó con el CCCP (inhibidor control). Dentro de los resultados obtenidos, se determinó que los extractos fraccionados con hexano y diclorometano son capaces de inhibir las bombas de expulsión tanto en la cepa nativa y en la cepa que posee *smvA* ($\Delta acrB$) de forma similar al CCCP (inhibidor control). Mientras que dentro de los compuestos puros identificados, la quercetina fue la que presentó el mayor efecto inhibitorio superando significativamente al CCCP.

Proyecto FDP-101182, Universidad Mayor. DICYT USACH.

MI088

Investigação da ação antimicrobiana da luz azul contra diversos agentes de infecção hospitalar

Peçanha Marcela P¹, Ferreira Jivago J C², Diniz Aurélio L², Angela Carrocci¹, Amantina Costa¹. ⁽¹⁾ Departamento de Morfologia e Patologia, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, Sorocaba, BR. ⁽²⁾ Graduando em Medicina, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, Sorocaba, BR.

Introdução: Após 60 anos de uso, antibióticos têm perdido progressivamente sua eficácia no tratamento de infecções e a disseminação de bactérias multirresistentes tem se tornado uma grande ameaça. Muitos estudiosos afirmam que o período atual, conhecido como “Era dos antibióticos” chegará ao fim, podendo tornar infecções bacterianas intratáveis. Uma abordagem inovadora não farmacológica, a terapia com luz azul (TLA), tem ganhado cada vez mais atenção devido ao seu efeito antimicrobiano intrínseco. Estudos recentes demonstram que luz azul com comprimento de onda de 400–470nm tem efeitos antimicrobianos em diversos grupos de bactérias, sem possuir efeitos deletérios sobre células de mamíferos. Acredita-se que a luz azul excita moléculas fotossensibilizadoras endógenas, (porfirinas, citocromos, flavinas e NADH), levando à formação de espécies reativas de oxigênio e à morte bacteriana. **Objetivos:** Investigar o efeito bioinibitório da luz azul emitida por LED sobre diversos agentes microbiológicos causadores de infecções nosocomiais. **Justificativas:** Já que o uso extensivo e indiscriminado de antibióticos é o principal fator responsável pela resistência microbiológica às drogas antimicrobianas, o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas torna-se crucial. **Metodologia:** Após a diluição das espécies na concentração de 10⁶ UFC/ml em solução salina 0,9%, era espalhado 0,2 ml por placa de Petri. Foram preparadas placas contendo *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* que foram irradiadas por luz visível azul (420 nm) com fluências de 0, 20, 50 ou 100 J/cm², e, ao fim eram colocadas em estufa a 36°C por 24 horas. Após isso, era feita a quantificação das colônias por meio de software. **Resultado da análise:** Os microrganismos apresentaram sensibilidade à exposição à luz azul de 420 nm. As placas foram expostas a diferentes doses de energia (por até 30 minutos). O grau de bioinibição mostrou-se depender da dose de irradiação, apesar dessa relação ser não-linear. Foram obtidas reduções de 2 log a 4 log. Além disso, foi possível perceber que as diferentes espécies apresentam comportamentos distintos sob a irradiação de luz azul.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

MI089

New therapeutic approach of *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland derivative applied to vulvovaginal candidiasis

Ramos Matheus Aparecido¹, De Toledo Luciani Gaspar¹, Oda Fernando Bombarda², Santos André Gonzaga², Santos Lourdes Campaner³, Bauab Taís Maria¹. ⁽¹⁾ Department of Biological Sciences, School of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University- UNESP, Araraquara, BR. ⁽²⁾ Department of Natural Products and Toxicology, School of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University- UNESP, Araraquara, BR. ⁽³⁾ Department of Organic Chemistry, Chemistry Institute, São Paulo State University, Araraquara, BR.

Infections in the vaginal environment caused by yeast of *Candida* genus are common in women all over the world, such as vulvovaginal candidiasis (VVC). This disease is characterized as a common inflammation in the vulva and vagina, however, the progress of this infectious state can contribute for advanced stages such as recurrent vulvovaginal candidiasis and even the development of cervical cancer. The available therapy of VVC involves a high concentration of drugs with several harmful effects and high level of the fungal resistance as well. Thus, new antifungal approach in the science as the use of herbal derivatives can be an important strategy to improve the antifungal therapy, an example is the use of *S. nitens* derivatives as a source of antimicrobial molecules. The objective of this work was evaluate a *S. nitens* derivative as a therapeutic compound to control of VVC in an *in vivo* rodent model. The antifungal activity of the fraction (Fr3) from *S. nitens* methanolic extract obtained by solid phase extraction (SPE) was evaluated in an experimental model (*in vivo*) of VVC (experimental groups: 1- negative of infection; 2-positive of infection; 3- treated with Fr3 solution; 4- treated with DMSO 5%). The Fraction Fr3 in which was rich of luteolin (according to HPLC-PDA-UV analyzes) was solubilized (2.0 mg/mL) in DMSO solution (5%) and applied to treat female *Wistar* rats that were immunosuppressed with cyclophosphamide (50 mg/b.w.) and in pseudo-estrus hormonal state by the induction with estradiol (20 mg/mL). The treatments were started after an infection with a microbial suspension composed by *C. albicans* ATCC 10231 (5×10^8 cells/mL) and *L. acidophilus* ATCC 4256 (1×10^7 cells/mL). The treatments were performed twice a day during 10 days by vaginal route. The fungal burden was evaluated during the treatment period (days: 2, 4, 6, 8 and 10) by determining of colony forming units (CFU) from vaginal washes. The animals treated with the free Fr3 showed reduction of the fungal burden at day 8 post-infection compared to untreated controls (CFU/mL= 0) and this profile was maintained until the end of the experiment (10 days). As conclusion, The Fr3 from *S. nitens* methanolic extract displays a promising therapeutic profile in animals with VVC.

This work was supported by São Paulo Research Foundation – FAPESP (grant#2014/24626-9 and grant#2016/08559-5).

MI090

Inhibitory effects of *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle monoterpenes on *Candida albicans* planktonic cells and mature biofilms

Bauab Tais Maria¹, De Toledo Luciani Gaspar¹, Gomes Veridiana Sá¹.⁽¹⁾ Department of Biological Sciences, School of Pharmaceutical Sciences - FCFAR, São Paulo State University-UNESP, ARARAQUARA, BR.

The infections caused by *Candida albicans* has increased in the last years, in which can promote superficial and systemic disease episodes. The treatments of these infections involve the use of synthetic compounds as zoles and polyenes, however, these drugs have some limitations as the high toxicity, narrow spectrum of activity and the predominance of resistant strains. Based on these factors, the search for new therapeutic strategies is important, in which the use of natural products is highlighted as a tool. *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle (citronella) belongs to grasses (Poaceae) and its essential oil (EO) is frequently used in perfumery, insect repellent, and as a natural antimicrobial, in addition, the chemical composition of this oil is based in monoterpenes, in which can be attractive to apply in the antimicrobial screening of new antifungal compounds. Thus, this study aimed to evaluate the activity of some monoterpenes of OE: geraniol, citral, citronellol and citronellal on planktonic cells and mature biofilms of *C. albicans* standard (ATCC 10231) and clinical strain (CAV3). The minimum inhibitory concentration (MIC) was obtained by microdilution technique (1000 µg/mL to 7.8 µg/mL), an inoculum concentration of 10³ CFU/mL and incubation at 37° C/48 h. The anti-biofilm activity was performed on mature biofilms (48 hours) formed under 96 wells plate (from 10 to 0.3 mg/mL). Amphotericin B and fluconazole were used as controls. The TTC dye was used to MIC determination and XTT for biofilms. The results showed that the compounds (except citronellol) were active against planktonic cells (MIC values from 1000 to 125 µg/mL), however, citral had the lowest MIC values (ATCC=125 µg / mL and CAV3= 500 µg/mL), being the most active compound in this study. Inhibitory effects of all compounds were also observed on mature biofilms, however, geraniol substance was the most promising compound, showing promising inhibition values (>50%) in the concentrations from 10 to 1.25 mg/mL for ATCC biofilms and from 10 to 0.6 mg/mL on CAV3 biofilms. These data report that the use of *C. nardus* monoterpenes can be an important strategy to *C. albicans* control, specially, citral and geraniol applied to planktonic cells and biofilms.

This work is support by São Paulo Research Foundation – FAPESP (grant#2016/08559-5 and gant#2017/17934-7)

MI091

Efecto de nanopartículas de zinc en la formación de biofilm de *Proteus mirabilis* uropatógeno

Victoria Iribarnegaray¹, Nicolás Navarro², Javier O. Morales², Paola Scavone¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Universidad de la República, Montevideo, UY.

⁽²⁾ Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago de Chile, CL.

Los biofilms microbianos se definen como comunidades de microorganismos que se encuentran adheridos a un sustrato o interfase y con producción propia de matriz extracelular. Estas comunidades tienen gran relevancia en el contexto clínico, ya que están asociadas a infecciones producidas por implantes médicos, como los catéteres urinarios. Las infecciones del tracto urinario se encuentran entre las infecciones más comunes que afectan al ser humano. Entre los principales agentes etiológicos se encuentra *Proteus mirabilis*. La capacidad que posee *P. mirabilis* de formar densos biofilms hace que obtenga una protección frente a la acción del sistema inmune del hospedero y además frente a agentes antimicrobianos. Dado las complicaciones y costos que revierten las infecciones asociadas a la producción de biofilms en implantes médicos es que actualmente se están buscando nuevas estrategias para la erradicación de biofilms como el uso de nanopartículas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de nanopartículas de zinc sobre el desarrollo del biofilm de *P. mirabilis*. Distintas concentraciones de nanopartículas de zinc se adhirieron a diferentes cubreobjetos de vidrios. La evaluación del biofilm se realizó en los días 1, 3, 5 y 7 días, correspondientes a las etapas de la formación de biofilm en *P. mirabilis*. En cada día se retiró el cubreobjetos recubierto con nanopartículas de zinc y se realizó inmunofluorescencia *in situ*, adquisición de imágenes empleando microscopía láser confocal y análisis para la obtención de parámetros descriptores para cada día y condición. Los resultados mostraron que las nanopartículas de zinc evaluadas tienen un efecto impidiendo la formación de microcolonias y maduración del biofilm. En el día 3, la formación de microcolonias, la producción de matriz extracelular, el volumen bacteriano y el número bacteriano se vieron disminuidos significativamente. En el día 5, etapa donde se genera la maduración del biofilm se observó que tanto la biomasa bacteriana así como la matriz extracelular estaban disminuidas. Estos resultados nos llevan a la conclusión de que las nanopartículas de zinc afectan el desarrollo del biofilm en *P. mirabilis* lo cual nos indica que podrían ser empleadas como nuevas estrategias de prevención de biofilms en el ambiente clínico.

Beca del Programa de Biotecnología para Latinoamérica y el Caribe de la Universidad de las Naciones Unidas (UNU-Biolac), becas de investigación en Latinoamérica.

MI092

La función antimicrobiana del mucus de piel en peces teleósteos

Yulema Valero¹, Felipe Ramírez-Cepeda¹, Nicolás Salinas-Parra¹, Jorge Rojas¹, Jimena Cortés², Felipe Carlos Hurtado³, Luis Mercado¹. ⁽¹⁾ Grupo de Marcadores Inmunológicos, Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽³⁾ Escuela de Ciencias del Mar, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL.

La respuesta innata de los peces teleósteos es un componente esencial de su inmunidad debido a su condición de poiquiloterms, ya que tienen un repertorio limitado de anticuerpos y la maduración linfocitaria es más lenta. Los péptidos antimicrobianos (AMPs) juegan un papel determinante en esta respuesta poseyendo una actividad microbicida potente frente a diversos patógenos, habiéndose identificado gran cantidad de AMPs en distintos tejidos y especies. Por otra parte, el mucus producido por las barreras físicas es rico en componentes humorales que proveen al pez de una de sus más potentes primeras líneas de defensa. Concretamente, la piel secreta mucus continuamente y su implicación en la respuesta antimicrobiana parece ser de especial importancia. No obstante, el conocimiento sobre la presencia y mecanismos de acción de los AMPs del mucus de piel es escaso. Por ello, el objetivo de este trabajo es estudiar la función antimicrobiana del mucus de piel de dos especies de interés en la acuicultura en Chile, el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y la seriola (*Seriola lalandi*), recientemente catalogada como especie de potencial interés en el sector. Para ello se analizaron las actividades bacteriostática, hemolítica del complemento, peroxidasa, proteasa y antiproteasa en mucus y suero de ambas especies. Adicionalmente en salmón se estudió mediante ELISA el contenido proteico de NK-lisina y hepcidina, ambas con potente actividad antibacteriana; mientras que en seriola se analizó por PCR semi-cuantitativa la expresión de genes que codifican para AMPs en diversos tejidos. En salmón, nuestros resultados muestran que la actividad bacteriostática es mayor en mucus así como el contenido de NK-lisina, al comparar con el suero, sugiriendo una posible correlación. En seriola, las actividades bacteriostática y del complemento son mayores en el suero. Sin embargo, la mayor expresión de genes codificantes de AMPs se encontró en músculo y piel, apuntando a diferentes formas de intervención de los AMPs en el mucus dependiendo de la especie. Este trabajo supone una primera aproximación de la función antimicrobiana del mucus de piel en peces aunque son necesarios estudios más profundos que clarifiquen la forma de acción de AMPs presentes en el mucus.

El trabajo ha sido financiado por los proyectos postdoctorales VRIEA-PUCV-2017 y VRIEA-PUCV-2018. Los ejemplares de salmón del Atlántico fueron donados generosamente por el Dr. Fernando A. Gómez (Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, PUCV).

MI093

Antimicrobial activity of extract rich in phenolic compounds obtained from spend coffee ground

Alejandra Arancibia-Diaz¹, Carolina Astudillo-Castro³, Claudia Altamirano-Gomez^{1,2}, Claudia Altamirano-Gomez², María Elvira Zuñiga-Hansen^{1,2}, María Elvira Zuñiga-Hansen², Carmen Soto-Maldonado², Catherine Urra-Sanhueza¹.

⁽¹⁾ Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ CREAS GORE-CONICYT R17A10001, Centro Regional de Estudios de Alimentos Saludables, Valparaíso, CL.

⁽³⁾ Escuela de Alimentos, Facultad de Ciencias Agronómicas y de los alimentos, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL.

Spent coffee ground (SCG) is an interesting waste generated by the coffee industry. SCG contains phenolic compounds (PC), such as chlorogenic acid (CGA), caffeic acid and quinic acid. The PC have displayed antimicrobial activity against bacteria negative gram and positive gram having high efficiencies similar to conventional antibiotics, such as gentamicin and streptomycin. Also, pure CGA is able to inhibit bacteria at concentrations in the range of 20-80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ by increasing the permeability of the cellular membrane, depletion of the electrostatic potential, homeostatic imbalance, protoplasm release and cell lysis. The aim of this work was to produce an extract from SCG (E-SCG) by solvent extraction (water-ethanol) and to evaluate the inhibitory effect on bacteria positive gram and negative gram using antibiogram. Additionally, the minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by microdilution plate assay, whenever inhibition was detected. The bacteria tested were: *Staphylococcus aureus* VQSA68, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115; *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus sp.* and *Bacillus subtilis* all wild types, *Salmonella typhimurium* ATCC140285, *Salmonella enteritidis* SARB16; and *Salmonella typhimurium*, *Proteus sp.* and *Escherichia coli*, all wild types. For the antibiogram, concentrations in the range from 10 to 100 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ were tested. All strains showed inhibition halo >1 cm diameter at 50 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. gram + strains showed a MIC of <1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, while gram - strains had a MIC of <10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Therefore, gram - strains are less sensitive than gram + strains to E-SCG, showing the same behavior against antibiotics.

Vicerrectoría de Investigación y Estudios Avanzados. DI-Regular 039.497/2018 PUCV.

MI094

Biosíntesis de ácido hialurónico en *Saccharomyces cerevisiae*

Alonso Fariña¹, José Duguet¹, Barbara Andrews¹, Juan Asenjo¹. ⁽¹⁾ Centre for Biotechnology and Bioengineering (CeBiB), Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile, Santiago, CL.

El ácido hialurónico (HA) es un polímero compuesto por unidades repetidas de N-acetilglucosamina y ácido glucurónico y está involucrado en variadas funciones fisiológicas en el humano, por esto, es ampliamente utilizado en la industria cosmética, médica y alimenticia. El alto interés por este biopolímero ha llevado a buscar diferentes vías de síntesis para obtener una producción a gran escala, utilizando microorganismos de origen procarionte, como *B. subtilis* o *E. coli*. En este trabajo se utilizó *Saccharomyces cerevisiae* como hospedero a la ruta de síntesis de HA, entre sus características cabe mencionar que es un modelo eucarionte ampliamente utilizado, es unicelular y de fácil manipulación genética. La síntesis de HA depende de la polimerización de ambos precursores gracias a una proteína de membrana llamada Hialuronato sintasa (HasA), sin embargo, para el establecimiento de una ruta de biosíntesis de ácido hialurónico en *S. cerevisiae* es necesario tanto Has A como una enzima UDP 6-glucosa deshidrogenasa (HasB), la cual permite obtener el monómeros ácido glucurónico, ausente en *S. cerevisiae*. Con este objetivo se ensamblaron dos módulos de expresión mediante Gibson Assembly, correspondientes al gen de la HA sintasa (*hasA*) y a la UDP 6-glucosa deshidrogenasa (*hasB*) respectivamente, ambos genes provienen del microorganismo *S. pyogenes*. Para la construcción de los módulos se utilizaron promotores y terminadores propios de *S. cerevisiae* y se ensamblaron de manera independiente en el vector pBluescript SK para luego ser transformados y perpetuados en *E. coli*. Luego, ambos módulos fueron ensamblados nuevamente mediante Gibson Assembly y transformados junto al gen URA3 (marcador de selección) en una cepa de *S. cerevisiae* s288c con URA3 previamente deletado. Con esto, se obtiene a través de recombinación homóloga *in vivo* en el cromosoma V, una cepa de *S. cerevisiae* recuperada para el gen de URA3 junto a los módulos de expresión. Se logró construir los módulos de expresión *has A* y *has B* mediante Gibson Assembly en *S. cerevisiae* s288c, integrándolos mediante recombinación homóloga. Por lo que a continuación corresponde determinar tanto la expresión y actividad de las proteínas Has A y Has B la síntesis de ácido hialurónico en este microorganismo.

Proyecto Basal CeBiB FB-0001, Proyecto PAI CONICYT N° 781413012



MI095

Genomics insights into decipher molecular mechanisms of plant biomass degradation in *Trichoderma harzianum* IOC3844

Jaire Alves Ferreira¹, Crivelente Maria Augusta Horta¹, Santos Clelton Aparecido¹, Almeida Déborah Aires¹, Mendes Juiano Sales¹, De Souza Anete Pereira¹. ⁽¹⁾ Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, BR.

Understanding the organization of fungal genomes has fundamental importance because of their potential biotechnology use. *Trichoderma harzianum* is a filamentous fungus capable of hydrolyzing the plant-derived biomass. Herein, we performed an in-depth study of the major genes in *T. harzianum* IOC3844 classified by CAZy database (Carbohydrate-Active Enzymes Database). Crossing transcriptome data, 60 BACs (Bacterial Artificial Chromosome) clones containing genes of interest were selected and sequenced through of the PacBio SMRT sequencing platform. A total of 1289 genes were annotated in these genomic regions. Among these, 235 were identify and annotated as CAZymes in *T. harzianum* IOC3844, including 49% of glycoside hydrolases (GHs), 21% of glycosyl transferases (GTs), 10% of carbohydrate esterases (CEs), 8% of auxiliary activities (AAs) and 13% of carbohydrate-binding modules (CBMs). The GH families were the CAZyme class with the highest gene number, including GH18 (9 genes), GH3 (9 genes), GH5 (6 genes) GH16 (4 genes) and GH2 (3 genes). Genomic comparison analysis between the *T. harzianum* IOC3844 with two other strains (B97 and T6776) resulted in greater similarity to the B97 strain (95.78%) than to T6776 (88.97%). Cazyme clusters and other genes involved in sugar transport and regulation of cellulases were found in syntenic blocks in all strains of *T. harzianum* analysed (IOC3844, B97 and T6766). Bio-prospecting the main proteins used by *T. harzianum* IOC3844 for biomass degradation can ensure new advances in the biofuel production field.

This work was supported by grants from FAPESP 2015/09202-0, CAPES, Computational Biology Programme and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).



MI096

Controlling the expression of horizontally acquired genes in yeasts using an optogenetic tool

David Figueroa^{1,2}, Camila Bastías^{1,2}, Eduardo Kessi-Pérez^{1,3}, Claudio Martínez^{1,3}, Francisco Salinas^{2,1}. ⁽¹⁾ Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CECTA), Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL.

⁽²⁾ Millennium Institute for Integrative Systems and Synthetic Biology (MISSB), Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL.

Horizontal Gene Transfer (HGT) is a key evolutionary process that favour adaptation to different environmental conditions. In general, HGT process occurs between two species with a distant phylogenetic relationship but sharing the same ecological niche. In wild yeast strains, horizontally acquired genes have shown to play important roles in nitrogen and carbon sources utilization, improving its fermentative performance. In this work, we analysed 10 different genes horizontally acquired in yeasts, all of them with putative functions in nitrogen and carbon metabolism, controlling its expression with a synthetic biology tool. We used a recently described optogenetic switch named FUN-LOV, which permit accurate control of gene expression upon light stimulation in yeast. We used FUN-LOV for overexpression (by light) and repression (by darkness) of the selected genes. The results showed that depending on the growth condition utilized, the light-induced overexpression of horizontally acquired genes can increase or reduce yeast adaptation (fitness), as measured through growth parameters (lag time, growth rate and efficiency). Similarly, the darkness-activated repression of horizontally acquired genes showed a decrease in yeast fitness, which was also depending on the growth condition assayed. Altogether, the results revealed the potential of the FUN-LOV optogenetic switch to be used as tool for functional analysis of horizontally acquired genes in yeasts.

FONDECYT 11170158 and MISSB

MI097

Caracterización bioquímica y genómica de una cepa electrogénica aislada de una celda de combustible microbiana

Laura Fuentes¹, Andrés Iriarte², Jorge Wenzel¹, Angela Cabezas¹, Claudia Etchebehere¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Ecología Microbiana, Laboratorio de Ecología Microbiana, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. ⁽²⁾ Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Medicina, Instituto de Higiene, Montevideo, UY.

Las celdas de combustibles microbianas (MFC) son dispositivos bio-electroquímicos que convierten un sustrato químico en electricidad. Esto se logra debido a que el bioánodo es colonizado por microorganismos con capacidad de transferir electrones (microorganismos electrogénicos). La mayoría de los trabajos que estudian las comunidades microbianas presentes en bioánodos de MFC se basan en técnicas de secuenciación del gen del ARNr 16S, la cual no siempre permite inferir el rol de los microorganismos. Se conoce muy poco aún sobre los mecanismos involucrados en la transferencia de electrones entre un microorganismo electrogénico y el ánodo. En nuestro laboratorio se aisló una cepa electrogénica del bioánodo de una MFC (Wenzel et al 2017). La cepa se identificó como perteneciente al género *Raoultella* de acuerdo a la secuencia del gen del ARNr 16S. El objetivo de este trabajo fue caracterizar el aislamiento, determinar su especie y profundizar en los mecanismos implicados en la capacidad electrogénica. Para ello se realizaron pruebas bioquímicas, microscopía óptica y electrónica, determinación de la temperatura óptima de crecimiento y análisis de ácidos grasos de membrana y de quinonas. Además se secuenció su genoma para determinar su filogenia y conocer las vías metabólicas asociadas a la capacidad electrogénica. La cepa aislada presentó morfología de bastones Gram negativos, crecimiento óptimo a 30°C y utilizó D-glucosa, sorbitol, arabinosa, ribosa, xilosa, adonitol, lactosa, arabitol, rhamnosa como fuentes de carbono. Las principales quinonas detectadas fueron Q-8 y MK-8. El contenido de G+C determinado a partir del genoma fue 54,5%. El estudio comparativo del genoma con genomas de otras cepas de *Raoultella* indicó que el aislamiento pertenece a la especie *Raoultella ornithinolytica*. El análisis genómico comparativo con genomas de microorganismos con conocida capacidad electrogénica (géneros *Geobacter* y *Shewanella*) reveló la existencia de 8 genes candidatos a estar involucrados con la capacidad electrogénica de la cepa aislada. En conclusión el aislamiento con capacidad electrogénica pertenece a la especie *Raoultella ornithinolytica*. Esta capacidad no había sido descrito en esta especie. El estudio de los genes candidatos podría evidenciar el mecanismo de electrogénesis.

Proyecto ANII-FSE 102488, Beca de Doctorado ANII

MI098

Tempos de mistura de inseticidas e fungicida: efeitos na bactéria *Bradyrhizobium japonicum*

Wallace Nascimento Gabriel¹, Ricardo Chiapinotto², Daniela Tiago Da Silva Campos². ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia do Solo, Faculdade de Agronomia e Zootecnia, Universidade Federal de Mato grosso, Cuiabá, BR. ⁽²⁾ Dep. Fitotecnia e Fitossanidade, Faculdade de Agronomia e Zootecnia, Universidade Federal de Mato grosso, Cuiabá, BR.

O uso de inoculantes com bactérias fixadoras de nitrogênio tem possibilitado a competitividade da soja brasileira no mercado, uma vez que a adubação nitrogenada eleva significativamente o custo da produção. Assim a técnica da inoculação de sementes é realizada muitas vezes sem o conhecimento técnico nas fazendas brasileiras, visto que pode existir incompatibilidade entre os inoculantes com os demais produtos utilizados no tratamento químico de sementes, de modo que o tempo entre a mistura dos produtos inoculantes, fungicidas e inseticidas e a aplicação é um fator que pode afetar negativamente a eficiência do processo de inoculação, através da redução de unidades formadoras de colônias bacterianas, e conseqüentemente prejudicar a fixação biológica do nitrogênio. Portanto objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do tempo de mistura de defensivos químicos utilizados para o tratamento de sementes de soja fungicidas e inseticida nas unidades formadoras de colônia (UFC) de *Bradyrhizobium japonicum*. O trabalho foi realizado em laboratório, e os tratamentos foram as diferentes misturas de inseticidas, fungicidas com inoculante contendo *B. japonicum*, nas quantidades recomendadas pelos fabricantes, com posterior quantificação da UFC após 0h, 6h, 12h, 18h e 24h da mistura. As misturas foram realizadas em erlenmeyer. Posteriormente foram realizadas diluições seriadas em cada período de tempo para determinação das unidades formadoras de colônias de *B. japonicum* em meio de cultura YMA ("Yeast manitol agar"), com vermelho congo. Os resultados indicam maior sobrevivência a 0 h de mistura com 4×10^8 UFC mL⁻¹, e a menor sobrevivência após 24h de mistura com 3×10^3 UFC mL⁻¹. Logo observou-se que conforme aumenta o tempo de mistura, ou seja, o contato entre as bactérias com os agroquímicos ocorre redução na UFC, de modo que um menor número de bactérias capazes de realizar o processo de fixação biológica do nitrogênio (FBN), bem como de disponibilizar o nitrogênio para as plantas reduz a eficiência da inoculação. Portanto o agricultor ao fazer o tratamento de semente dentro da própria fazenda, deverá realizar a semeadura o mais breve possível, com um período de no máximo 12 horas, para que a inoculação seja eficiente.

MI099

Volátiles azufrados emitidos por bacterias antárticas y su rol en la biosíntesis extracelular de nanopartículas fluorescentes de Cd

Carla Gallardo-Benavente¹, José Pérez-Donoso², Andrés Quiroz¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Química Ecológica, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, CL. ⁽²⁾ Bionanotechnology and Microbiology Lab, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andres Bello, Santiago, CL.

La generación de un tipo específico de nanopartículas denominadas puntos cuánticos o quantum dots (QDs) ha surgido como una herramienta relevante de utilizar en una amplia gama de aplicaciones de alto valor tecnológico, económico y biológico. La fabricación de estas nanopartículas es principalmente producida por métodos químicos de alto costo, dando como resultado nanocristales con alta toxicidad, limitando sus aplicaciones. Por lo tanto, la biosíntesis de nanopartículas la cual es producida principalmente por microorganismos, como bacterias, surge como una metodología ecológica y económica. Algunas bacterias tienen la capacidad de liberar sulfuro de hidrógeno (H_2S) para atrapar el cadmio (Cd) exógeno, generando QDs de cadmio-azufre (CdS) por biosíntesis intra o extracelular a través de la cisteína-desulfhidrasa. Sin embargo, no todas las bacterias responden a este mecanismo, por lo que podría haber otros compuestos volátiles azufrados (VSCs) implicados en la biosíntesis de QDs los cuales no han sido estudiados hasta la fecha. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es "Evaluar el rol de los VSCs liberados por bacterias antárticas en la biosíntesis de QDs de CdS". Las bacterias fueron seleccionadas por biosíntesis de nanopartículas bajo diferentes concentraciones y fuentes de azufre. La caracterización de los QDs se realizó mediante espectros de absorbancia y fluorescencia. Mientras que los VSCs liberados por la bacteria en ausencia/presencia de Cd fueron determinados por detección de sulfuro con acetato de plomo, análisis SPME GC-MS y GC-FPD. Los principales resultados muestran que la bacteria seleccionada es capaz de crecer y producir biosíntesis intracelular utilizando diferentes fuentes de azufre sin embargo solo cuando se utiliza cisteína (Cys) y metionina (Met) se observa biosíntesis extracelular. Al evaluar los VSCs emitidos por la bacteria en Cys y Met, los resultados mostraron una mayor producción de H_2S cuando se utilizó Cys como única fuente de azufre para la biosíntesis. Mientras que cuando se utilizó Met se identificó H_2S , metanotiol (MeSH), dimetilsulfuro, dimetildisulfuro y dimetiltrisulfuro, siendo el principal volátil liberado por la bacteria MeSH. Por lo tanto, H_2S y MeSH se presentan como los principales candidatos utilizados por la bacteria como sustrato de azufre en la biosíntesis extracelular de QDs de CdS.

Proyecto INACH DT_05_16



MI100

Avaliação da Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de *Anacardium occidentale* contra *Staphylococcus aureus*

Galvão Stanley De S L¹, Farah Emanuelli Iracema², Aquino Alana Fernanda S², Monteiro Joveliane De Melo³, Neto Wallace Ribeiro N², Muniz Geovane Santos², Rabelo Herika P Silva M², Monteiro Andrea De Souza³. ⁽¹⁾ Pro-reitoria de Pós graduação, Biologia parasitária, CEUMA, UFMA, Faculdade Pitágoras, São Luís, BR. ⁽²⁾ Mestrado em Biologia Parasitária, Universidade CEUMA, São Luís, BR. ⁽³⁾ Pro-reitoria de Pós graduação, Biologia parasitária, CEUMA, São Luís, BR.

Staphylococcus aureus é uma espécie bacteriana classificada como patógeno oportunista que representa um grande desafio para a saúde pública. O uso excessivo ou errado dos antimicrobianos, aumentando a capacidade desse microrganismo para desenvolver resistência aos antibióticos como, por exemplo, a oxacilina. Devido à alta capacidade do *S. aureus* desenvolver resistência aos antimicrobianos convencionais, aumenta a procura de terapias alternativas como o uso plantas medicinais. *Anacardium occidentale* Linn, é bastante utilizado como antimicrobiano pela medicina popular razão pela qual torna-se imprescindível estudos científicos que comprovem sua atividade. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antimicrobiano do extratos hidroalcoólicos da casca de *A. occidentale* contra *S. aureus*. O estudo foi desenvolvido utilizando linhagens *S. aureus* obtidas de hemoculturas, provenientes do setor de Microbiologia do Laboratório Cedro. Foram realizados ensaios de curva de tempo de morte com os isolados de *S. aureus* com o extrato de *A. occidentale*, em seguida foi realizado a verificação da atividade bactericida ou bacteriostática por micro-gotas. Também foram realizados ensaios de sobrevivência das larvas *Tenebrio molitor*, infectadas com *S. aureus* e em comparação ao grupo infundida pelo extrato. Os ensaios de curva de morte demonstraram os efeitos de erradicação do biofilme após 24 horas em todas as concentrações testadas (512, 256, 128 µg/mL). Os ensaio de infecção da larva *Tenebrio molitor* são sugestivos de uma alta virulência das linhagens de *S. aureus in vivo*, e a sobrevivência de larvas infundidas apenas pelo extrato. Demonstrando o potencial da planta como fitoterápico de interesse clínico em possíveis tratamentos de infecções superficiais de pele causadas principalmente por linhagens de *S. aureus* produtoras de biofilmes.

Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão - FAPEMA

UNICEUMA



MI101

Biomonitoramento da qualidade da água e potencial biotecnológico dos isolados bacterianos de plantas aquáticas

Mothé Geórgia P Bechara¹, Granato Thais Motta¹, Esteves Bruno Dos Santos², Suzuki Marina Satika², Intorne Aline Chaves³. ⁽¹⁾ LFBM, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, BR. ⁽²⁾ LCA, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, BR. ⁽³⁾ Direção de ensino, Instituto Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR.

A poluição aquática é considerada um grave problema ambiental em todos os países. O aumento populacional e a geração de resíduos e efluentes oriundos da industrialização de forma desordenada gerou um processo de deterioração ambiental. A bacia do rio Paraíba do Sul (RPS), abrangendo SP, MG e RJ, drena parte da região sudeste, a mais desenvolvida do país. Os municípios de Resende e São João da Barra (SJB), apresentam desenvolvimento industrial e agrário respectivamente, e devido a estas atividades, constituem áreas de estudo para avaliar diferentes características desse sistema lótico. As plantas aquáticas encontradas nestes sistemas podem ser utilizadas como indicadoras da qualidade ambiental e mitigadoras de estresses provocadas por contaminantes. O objetivo do trabalho foi avaliar as características físico-químicas da coluna d'água e de plantas aquáticas flutuantes (*Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Salvinia auriculata*) no RPS em um ano. As características físicas da água foram avaliadas *in loco* enquanto as químicas, tanto da água quanto das plantas, em laboratório. As bactérias isoladas destas plantas, foram avaliadas quanto à resistência ao Cu. De acordo com o CONAMA 357/05, as águas coletadas em Resende apresentam valores de Al 300% acima dos de referência para águas doces de Classe 2. Na região da foz do rio, em SJB, tanto os valores de Al (0,50 mg/L) quanto os de Fe (0,86 mg/L) encontram-se acima dos valores de referência para águas doces de Classe 3. Nas espécies avaliadas, os valores encontrados para Al e Mn foram maiores do que os demais parâmetros, sendo tóxicos para as plantas. A *S. auriculata* foi a que apresentou concentrações superiores de Cu, tanto em parte aérea (14,5 mg/L) quanto em raiz (41,87 mg/L), identificando ação antrópica. Dos 158 isolados bacterianos obtidos de partes aéreas e raiz, 71 de Resende e 87 de SJB. No teste de resistência ao Cu, foram avaliadas 9 bactérias oriundas de *S. auriculata* de SJB onde a concentração de 5 mmol L⁻¹ foi inibitória para a maioria e 2 cepas foram resistentes, mostrando potencial biotecnológico. Testes serão feitos com outros metais para análise da melhor resposta das bactérias e planta no processo de biorremediação.

FAPERJ, UENF

MI102

Identificação molecular de *Aspergillus aculeatus* naturalmente ocorente em raízes de *Manihot esculenta* Crantz

Gobira Patrícia S. S. C.^{1,2}, Gobira Rubens Menezes², Monteiro Ruan Campos³, Souza Alex Brito⁴, Silva Sílvia Helena M.⁴, Santos Alberdan Silva^{2,5}. ⁽¹⁾ Tecnologia de Alimentos, Campus Macapá, Instituto Federal do Amapá - IFAP, Macapá, BR. ⁽²⁾ Rede BIONORTE, Instituto de Ciências Biológicas - ICB, Universidade Federal do Pará - UFPA, Belém, BR. ⁽³⁾ Programa de Pós Graduação BAIP, Instituto de Ciências Biológicas - ICB, Universidade Federal do Pará - UFPA, Belém, BR. ⁽⁴⁾ Seção de Bacteriologia e Micologia, Instituto Evandro Chagas -IEC, Ananindeua, BR. ⁽⁵⁾ Laboratórios de Investigação Sistemática em Biotecnologia e Biodiversidade Molecular - LABISISBIO, Instituto de Ciências Exatas e Naturais - ICEN, Universidade Federal do Pará - UFPA, Belém, BR.

Os métodos tradicionais de identificação de espécies de *Aspergillus* da seção Nigri são baseados na morfologia, incluindo a cor e tipo de crescimento da colônia, diâmetro da colônia, tamanho e ornamentação de conídios e conidióforos. Esta seção é considerada por muitos taxonomistas como uma das mais difíceis de identificar devido á alta diversidade genética, o que dificulta a identificação baseada unicamente em caracteres fenotípicos. Sendo assim, diversas pesquisas têm relatado a importância da combinação de diferentes ferramentas de identificação, como por exemplo características morfológicas, bioquímicas e moleculares, com o objetivo de delimitar espécies. As grandes aliadas dos taxonomistas nos últimos anos são as técnicas moleculares, como PCR, RFLP e sequenciamento de DNA; pois quando a linhagem já é conhecida estas técnicas certificam a identificação, e quando a linhagem ainda não é conhecida estas técnicas possibilitam a discriminação das sequencias novas em relação as sequencias já conhecidas. Neste estudo o objetivo foi identificar, por biologia molecular, o fungo filamentoso obtido de raízes de mandioca, que apresentou alto potencial de produção de enzimas amilolíticas. A cepa do microrganismo utilizado, foi isolada do resíduo da mandioca (X:1°14'15,08"S, Y:48°15'22,47"O) e foi cultivada e mantida durante os trabalhos nos Laboratórios de Investigação Sistemática em Biotecnologia e Biodiversidade Molecular (LABISISBIO). A extração e purificação de DNA foi realizada com kit HIMEDIA. A amplificação por PCR utilizou os primers ITS-1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') e ITS-4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') e foi visualizada em gel de agarose a 1,5%. As reações de sequenciamento realizadas, utilizando o kit DYEnamic ET dye Terminator cycle sequencing (Amersaham). As seqüências foram comparadas ao banco de dados GenBank usando a ferramenta Blast e para a reconstrução filogenética, usando MEGA 7 foi considerada a sequênciã com alta taxa de identidade, e a história evolutiva foi inferida usando o método de Máxima Verossimilhança. A identificação baseada na região do ITS mostrou-se eficiente e revelou fungo pertencente a classe da Sordariomycete, apresentando 100% de similaridade para o *Aspergillus aculeatus* do banco de dados de GenBank. Confirmando o gênero observado por taxonomia clássica e identificando de maneira conclusiva sua espécie.

MI103

***Hanseniaspora opuntiae* isolada da polpa de *Mangifera indicavar* bacuri, durante fermentação e identificada por técnica molecular**

Gobira Rubens Menezes¹, Gobira Patrícia S. S. C.^{2,1}, Ferreira Nelson Rosa³, Monteiro Ruan Campos⁴, Souza Alex Brito⁵, Silva Sílvia Helena M.⁵, Santos Alberdan Silva^{1,6}. ⁽¹⁾ Rede BIONORTE, Instituto de Ciências Biológicas - ICB, Universidade Federal do Pará - UFPA, Belém, BR. ⁽²⁾ Tecnologia de Alimentos, Campus Macapá, Instituto Federal do Amapá - IFAP, Macapá, BR. ⁽³⁾ Instituto de Tecnologia, Faculdade de Engenharia, Universidade Federal do Pará - UFPA, Belém, BR. ⁽⁴⁾ Programa de Pós Graduação BAIP, Instituto de Ciências Biológicas - ICB, Universidade Federal do Pará - UFPA, Belém, BR. ⁽⁵⁾ Seção de Bacteriologia e Micologia, Instituto Evandro Chagas - IEC, Ananindeua, BR. ⁽⁶⁾ Laboratórios de Investigação Sistemática em Biotecnologia e Biodiversidade Molecular - LABISISBIO, Instituto de Ciências Exatas e Naturais - ICEN, Universidade Federal do Pará - UFPA, Belém, BR.

Frutos com polpa rica em carboidratos e lipídios são considerados como um excelente habitat de vários microrganismos, principalmente leveduras, graças a sua constituição química muitas vezes rica em fontes energéticas, e baixo pH. Com o desenvolvimento de tecnologias de identificação microbiana e da facilidade de acesso, principalmente das técnicas moleculares, cresceu exponencialmente o interesse em estudar microrganismos, principalmente as leveduras. As técnicas moleculares, de amplificação (PCR) e sequenciamento, trabalhadas em conjunto com as técnicas tradicionais de cultivo, podem identificar leveduras em frutos com bastante sucesso. Neste trabalho o objetivo foi identificar levedura isolada no processo de fermentação espontânea da manga para produção de aguardente, através de técnicas moleculares. A fermentação espontânea da manga (X: 01°14,42S - Y:48°26'35"O) ocorreu por 7 dias e, a cada 24h alíquotas foram retiradas e diluídas em solução salina 0,9% m/v, realizando diluições sucessivas até 10⁻⁷, e em seguida, realizando-se cultivos em meio GPY-ágar e incubando-se a 30 ° C durante 3 dias. As colônias foram contadas e diferenciadas de acordo com suas morfologias e tipos representativos. As extrações de DNA de colônias purificadas foram realizadas com fenol-clorofórmio e os fragmentos de DNA purificados com kit HIMEDIA. A amplificação por PCR utilizou os primers ITS-1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') e ITS-4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') e foi visualizada em gel de agarose a 1,5%. A reação de sequenciamento foi realizada utilizando o kit DYEnamic ET dye Terminator cycle sequencing (Amersaham). A seqüência foi comparada ao banco de dados genbank usando a ferramenta Blast. A seqüência com alta taxa de identidade (> 98%) foi considerada para a reconstrução filogenética, usando MEGA 7 e a história evolutiva foi inferida usando o método de Máxima Verossimilhança. A análise da seqüência revelou alta identidade com seqüências correspondentes a *Hanseniaspora opuntiae*. Espécie de levedura ascomicética já era esperado, visto que o microrganismo analisado é originário da polpa da manga sendo essa região rica em fontes de carboidratos de mais simples assimilação, característica de colonização dos ascomicetos. Este estudo é preliminar na busca por leveduras naturalmente ocorrente de frutos amazônicos com potencial fermentativo.

Palavras-Chave: Levedura. Biologia Molecular. Fermentação.

MI104

Bamboo endophytic bacteria that promoting rice growth

Ribeiro Igor Daniel Alves², Rodrigues Ariana Alves², Paulo Roberto Faria¹, Sibov Sérgio Tadeu¹, Almeida Rogério Araújo¹, **Vieira José Daniel Gonçalves**². ⁽¹⁾ Agronomia, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, BR.

⁽²⁾ Biotecnologia, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, BR.

Endophytic bacteria are frequent contaminants in plant tissue culture. Despite of the negative aspects to which these microorganisms can be associated in the *in vitro* cultivation of plants, they are quite characterized by their beneficial aspects in the promotion of vegetal growth. The objective of this work was to prospect contaminating endophytic bacteria in the micropropagation process of different species of bamboo and to evaluate them the ability to promote the growth of rice (*Oryza sativa* L.). The isolated microorganisms were screened and quantitatively evaluated for Indole Acetic Acid (IAA) production, phosphate solubilization, exopolysaccharide production, nitrogen fixation, zinc solubilization and biofilm formation, as well as the ammonia, cyanidric acid (HCN) and hydrolytic enzymes production and the ability to antagonize *in vitro* the growth of phytopathogenic fungi. The selected isolates were inoculated in rice seeds, and the effects on plant growth were evaluated *in vitro* and in greenhouse. The isolates tested were identified by the 16S rRNA gene sequencing. Thirty-six microorganisms were obtained, being selected 8 isolates based on the *in vitro* results for the different mechanisms of plant growth promotion. Among the selected isolates were *Serratia marcencens*, *Sphingomonas* sp., *Pantoea* sp., two bacteria as *Pantoea ananatis* and three as *Enterobacter* sp. *In vitro* plant growth tests showed the increase in total root size and root surface area for all isolates. The best results were obtained for the isolates 5C (*Serratia marcencens*) and 13C (*Pantoea ananatis*), which were also able to increase root depth, diameter and volume. In greenhouse, the 5C and 13C isolates promoted an increase in the mass of the inoculated plant roots. We conclude that the isolates 5C and 13C promoted a positive effect on the rice root system *in vivo* and in greenhouse, suggesting a possible use as an inoculant.

CNPq- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processo nº 458300/2013-6) FAPEG – Fundação de Amparo a Pesquisa de Goiás

MI105

La cepa *Pseudomonas* sp. LC43 de Cuba produce polihidroxicanoatos de cadena media a partir de residuos agroindustriales

Angela Gonzalez¹. ⁽¹⁾ Química, Química, Universidad Técnica Federico Santa María

Los Polihidroxicanoatos (PHAs) son poliésteres sintetizados por diversas especies bacterianas en condiciones de limitación de nutrientes. Los PHAs son polímeros biodegradables que pueden ser empleados sustituyendo a los plásticos convencionales. Estas propiedades dependen principalmente del largo de su cadena de carbono. Se clasifican en PHA de cadena corta (PHAscl) y PHA de cadena media (PHAmcl). Su costo de producción es mayor al de los plásticos convencionales, por lo que se requiere diseñar un proceso eficiente y económico de producción. La utilización de subproductos como fuente de carbono permitiría disminuir el costo final de producción. El género *Pseudomonas* ha sido ampliamente estudiado para la síntesis de PHAmcl. *Pseudomonas* sp. LC43 fue aislada desde suelos agrícolas vecinos a la ciudad de La Habana, Cuba. El objetivo de este estudio es caracterizar la producción de PHAs por *Pseudomonas* sp. LC43 a partir de subproductos agroindustriales (*e.g.*, tomate, cáscaras de naranja y aceite de cocina recuperado). Esta cepa se seleccionó debido a sus altos niveles de producción de PHAmcl a partir de glucosa. La cepa LC43 se cultivó en medio mínimo M9 con NH₄Cl como fuente de nitrógeno y una solución derivada de cáscara de naranja, tomate y aceite de cocina recuperado como fuentes de carbono. Se evaluó la capacidad de crecimiento de la cepa y producción de PHAs. Se recolectaron muestras desde el cultivo a diferentes tiempos de cultivo. Posteriormente, las células se liofilizaron, y la biomasa seca se sometió a propanólisis para obtener los propilésteres que se analizaron mediante GC-MS. Se realizó una extracción por solvente para la obtención de un film de PHAs, que luego fue caracterizada. Se observaron altos niveles de crecimiento y producción de PHAmcl por la cepa *Pseudomonas* sp. LC43 en fuentes de carbono de bajo costo, representando una atractiva alternativa para la producción de PHAs a nivel industrial.

FONDECYT 1151174 (MS), Proyecto Anillo GAMBIO ACT172128 (MS), PMI InES FSM1402GOP2 (MS) y USM 131562 (MS)



MI106

Screening y caracterización de actinobacterias marinas aisladas de diversas costas de Chile con potencial biotecnológico en la hidrólisis de queratina de plumas

Valentina González¹, Pedro Valencia², Beatriz Cámara¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, & Centro de Biotecnología DAL, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL.

Las plumas son producidas en grandes cantidades como subproducto de las plantas procesadoras de aves, alcanzando millones de toneladas por año a nivel mundial. Contienen más del 90% en forma de queratina, proteína altamente recalcitrante, y constituyen un recurso potencial para la obtención de nutrientes para alimento animal. Actualmente, se utilizan para producir harina de plumas mediante tratamientos físico-químicos, que conllevan un elevado costo termoenergético, además de obtener un producto de calidad nutricional limitada. Como alternativa, se ha planteado el uso de queratinasas, subconjunto de proteasas con gran especificidad hacia sustratos ricos en queratina. Las actinobacterias constituyen un grupo potencial para la producción de queratinasas. Es uno de los grupos más diversos en la naturaleza y están presentes en varios nichos ecológicos, incluyendo los ambientes marinos. Adicionalmente, las enzimas de microorganismos marinos pueden presentar características deseables de interés industrial, como tolerancia a altas concentraciones de sal, actividad en frío, entre otras características. Anteriormente se realizó un screening para la búsqueda de actividad queratinolítica en 73 actinobacterias marinas aisladas de diversas costas de Chile, desde la III a la XI región, incluyendo Chañaral de Aceituno, Valparaíso, Isla de Pascua, Fiordo de Comau y Golfo de Penas. Para la selección se realizaron cultivos en placas y medio líquido con plumas como única fuente de carbono. En base a la medición, por métodos espectrofotométricos, de actividad proteolítica (con azocaseína como sustrato), actividad queratinolítica (con keratin azure) y grupos sulfhídricos se seleccionaron dos actinobacterias marinas, que presentaron el mejor potencial queratinolítico, *Streptomyces* sp. CHA1.1 aislada de Chañaral de Aceituno (III región), y *Streptomyces* sp. G11C aislada del Golfo de Penas (XI región). Ambas cepas presentaron un porcentaje de degradación mayor al 80% a los 5 días de cultivo. Se realizó una caracterización parcial de sus extractos enzimáticos crudos, mediante la medición de actividad enzimática con diferentes sustratos, determinación de temperatura y pH óptimos, y caracterización por SDS-PAGE acoplado a zimograma. En este trabajo se presenta el potencial biotecnológico de actinobacterias marinas aisladas de las costas de Chile para degradar residuos ricos en queratina, que constituyen una fuente prometedora para el descubrimiento de queratinasas.

Beca Doctorado Nacional CONICYT N° 21161188, FONDECYT Regular N° 1171555, Proyecto Anillo ACT172128

MI107

Aislamiento y caracterización de bacterias promotoras de crecimiento de plantas desde la isla Robinson Crusoe y su efecto en la germinación de *Solanum fernandezianum*

Matias Guerra¹, Jorge Carrasco¹, France Rene Andres¹. ⁽¹⁾ Banco de Recursos Geneticos Microbianos, Banco de Recursos Geneticos Microbianos, Instituto de Investigaciones Agropecuarias-Quilamapu.

La isla Robinson Crusoe es un *hotspots* de biodiversidad, sin embargo, la extinción de especies genera desafíos en conservación. En este sentido, la utilización de bacterias promotoras de crecimiento de plantas (PGPB) puede mejorar la conservación de especies amenazadas. El objetivo fue aislar y caracterizar microorganismos PGPB y evaluar su efecto en la germinación de *Solanum fernandezianum*. Se aislaron 92 cepas bacterianas desde la rizosfera de plantas de la isla Robinson Crusoe, las que se caracterizaron por su capacidad de solubilizar fosfato en Agar NBRIP, producir sideróforos en agar Cas, producción de amonio en caldo peptonado utilizando el reactivo Nessler y síntesis de ácido indol acético (AIA) en caldo YMD con el método de Salkowski. Se seleccionaron las tres mejores cepas de las evaluaciones anteriores y se cuantificó la producción de sideroforos con el reactivo CAS. Las semillas de *Solanum fernandezianum* se incubaron por 5h en suspensiones bacterianas ($1 \times 10^8 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$) conformadas por las cepas seleccionadas, *Pseudomonas* sp. RGM_2376, *Serratia* sp. RGM_2525 y *Raoultella* sp. RGM_2526, además de una mezcla de las tres cepas (MIX) y un control sin bacterias. Se sembraron 72 semillas por tratamiento en sustrato estéril (realizado en triplicado), se cultivaron a 20°C por 40d y se contabilizaron las semillas germinadas (aparición de cotiledones). Se analizaron las diferencias entre cada tratamiento con respecto al control con test de Anova, $p \leq 0,05$. *Pseudomonas* sp. produjo $33,3 \pm 6,5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ de AIA y solubilizó fosfato (halo de $3,5 \pm 0,56 \text{ cm}$). *Serratia* sp. produjo $8,66 \pm 2,8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ de AIA y sintetizó sideroforos (captó desde el reactivo CAS un 56% del hierro). *Raoultella* sp. produjo $25,7 \pm 7,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ de AIA. Las tres cepas produjeron amonio. Las semillas de *Solanum fernandezianum* inoculadas con *Pseudomonas* sp., *Serratia* sp., *Raoultella* sp., el MIX de éstas y el control, presentaron un 24,5%, 23,6%, 17,6%, 26,9% y 17,1% de germinación respectivamente. Se observó un mayor porcentaje en las dos primeras cepas y el MIX, con diferencias significativas respecto al testigo solo en las semillas inoculadas con el MIX. Se concluye que las bacterias aisladas de la isla Robinson Crusoe presentan actividad PGPB, incrementando la germinación de *Solanum fernandezianum*.

Agradecimientos al proyecto “Restauración de la flora nativa en la Isla Robinson Crusoe” código 502202-24

MI108

Selección de levaduras para la producción de etanol y xilitol a partir de hidrolizado lignocelulósicos

Pedro Demichelis¹, Mairan Guigou¹, Claudia Lareo¹. ⁽¹⁾ Departamento de Bioingeniería, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República, Montevideo, UY.

Los materiales lignocelulósicos forestales son considerados una materia prima promisoría para la producción de etanol por su rápido crecimiento en suelos relativamente pobres y alto contenido en celulosa y hemicelulosa. El hidrolizado de hemicelulosa, contiene como azúcar mayoritario a la xilosa, que puede ser fermentada por levaduras para producir bioetanol y/o xilitol. Se evaluaron 15 cepas de levaduras aisladas de agua de la Antártida y suelos regados con vinaza de una planta de producción de etanol local, para la producción de xilitol y de bioetanol en medio semisintético. Se utilizó *Scheffersomyces stipitis* NBRC 10063 como levadura de referencia. La composición del medio fue (en g/L): xilosa 50; extracto de levadura y de malta 3; MgSO₄·7H₂O 0,2 y (NH₄)₂SO₄ 0,4. Se fermentó un hidrolizado de eucalipto obtenido por autohidrólisis (160°C, 2,5 h) y concentrado en rotavapor hasta 30 g/L de xilosa. Se utilizaron matraces de 250 mL conteniendo 100 mL de medio, pH 6.0, 30°C y 100 rpm. Etanol, xilitol, ácidos y azúcares se determinaron por HPLC. Todas las cepas estudiadas consumieron xilosa. Se seleccionaron 5 levaduras de las cuales dos fueron capaces de fermentar la xilosa en el medio semisintético y obtener una producción de etanol similar a *S. stipitis* (concentración final de 20 g/L etanol) y tres produjeron xilitol. La cepa *Candida fermentati* produjo 27 g/L de xilitol en 144 h. La levadura más eficiente para producir etanol y xilitol en el hidrolizado hemicelulósico fue *Trichosporom pullulans*, que obtuvo una concentración final de etanol y xilosa de 6 g/L, con rendimientos de 0,25 g etanol/g xilosa y 0,26 g xilitol/g xilosa. La cepa *Trichosporom pullulans* resulta prometedora para fermentar los hidrolizados hemicelulósicos de eucalipto y poder obtener etanol y/o xilitol. Sin embargo, se debe profundizar en la detoxificación del medio, principalmente de ácido acético y en la optimización de las condiciones experimentales de la fermentación para maximizar los rendimientos de uno de estos productos.

Esta investigación recibió apoyo financiero de la Agencia Nacional de Investigación e Innovación, proyecto FSE_1_2011_1_6456.

MI109

Comparative analysis of the nanoparticle biosynthesis mediated by acidophilic bacteria of the genus *Acidithiobacillus*: possible relationship between the production of CdS quantum dots and the c-di-GMP pathway

Javier Flores-Plaza¹, Matias Castro², José Pérez-Donoso³, Nicolas Guiliani¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Fundación, Ciencia & Vida, Santiago, CL, Santiago, CL. ⁽³⁾ Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Las nanopartículas semiconductoras fluorescentes o “quantum dots” (QDs) son estructuras bimetalicas que forman nanocristales de entre 2-20 nm, los cuales tienen la capacidad de absorber luz y emitir el exceso de energía en forma de fluorescencia. Se han utilizado microorganismos para la producción de QDs. Sin embargo, los mecanismos moleculares de síntesis aún son desconocidos. El género *Acidithiobacillus* está compuesto por bacterias Gram-negativas, acidófilas, quimiolitioautótrofas que obtienen energía mediante la oxidación de compuestos reducidos de azufre. Como otras bacterias, utilizan el segundo mensajero diguanilato cíclico (c-di-GMP) para regular comportamientos relacionados con la motilidad y la formación de biopelículas. El c-di-GMP es sintetizado por enzimas diguanilato ciclasas. Por unión activa diferentes efectores, dentro de los cuales algunos regulan el motor flagelar y otros la actividad de complejos de membrana encargados de sintetizar exopolisacáridos. Recientemente, se ha descrito la biosíntesis de QDs CdS en cepas silvestres de *Acidithiobacillus*. Estas QDs CdS son estables a pH ácido sin perder sus propiedades espectroscópicas y su producción ocurre a nivel intracelular y extracelular, por lo que, tanto elementos citoplasmáticos como componentes de membrana externa podrían modular su síntesis. En este trabajo, nos propusimos estudiar si existe una conexión entre la vía del c-di-GMP y la síntesis de QDs. Para eso utilizamos dos cepas mutantes de *Acidithiobacillus* que presentan alteraciones en la producción intracelular de c-di-GMP y la síntesis del exopolisacáridos Pel. Se evaluó la producción de NPs fluorescentes por cada cepa mutante durante las distintas etapas de crecimiento de *Acidithiobacillus* tanto al interior de las células como en el sobrenadante de los cultivos. Estas nanopartículas también fueron caracterizadas mediante microscopía electrónica y/o “Dynamic Light Scattering”. Los resultados obtenidos reafirman que las cepas de *Acidithiobacillus* son capaces de producir QDs CdS. La diferencia en la temporalidad de la síntesis de QDs por las cepas mutantes en comparación con las silvestres sugiere que la vía del c-di-GMP estaría implicada en la síntesis de este tipo de nanopartículas abriendo nuevas posibilidades del control en la síntesis biológica de QDs. Además, contribuye al entendimiento de los mecanismos moleculares involucrados en la producción de estos nanomateriales de gran interés industrial.

FONDECYT 1151255 (J.M.P); FONDECYT 1160702 (NG).

MI110

Production of Poly(3-hydroxybutyrate) by *Halomonas elongata* and null ectoin mutant Δ ectA under non-sterile culture conditions

Izabook Gutierrez¹, Ignacio Poblete-Castro¹. ⁽¹⁾ Centro de Bioinformática y Biología Integrativa, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.

Background: Polyhydroxyalkanoates (PHAs) are polyesters of microbial origin that are currently one of the most important biopolymer families to replace conventional plastics. Among PHAs, Poly (3-hydroxybutyrate) (PHB) is the first one discovered and produced at industrial scale by microbial fermentation. It is classified as a non-toxic material and it is totally biodegradable once deposited in the soil, sea, and water. *Halomonas elongata* is a gram-negative, facultative halophilic bacterium that also has a high PHB production capacity. *H. elongata* is able to grow and produce PHB in the presence of 130 (g/L) of NaCl, which makes it a great candidate for the production of PHB under unsterile systems. To achieve this *H. elongata* synthesizes an osmoprotectant compound, ectoin, which accumulates at high titer in the cytoplasm of the cell and then it is secreted to the medium. It has been shown that the higher the NaCl concentration in the growth medium the greater is the production and accumulation of ectoin, which could be detrimental to the production of PHB since the flow of carbon is directed to the synthesis of ectoin. In this study we propose the use of *H. elongata* for the production of PHB under non-sterile culture conditions and also the construction of a null ectoin mutant with the aim to maximize PHB productivities in bioreactors. **Methods** In this work, we used *Halomonas elongata* DSM2581 in order to increase the synthesis of PHB. We constructed a mutant strain of *H. elongata* (Δ ectA), which cannot produce ectoin. The strains were cultured in different concentrations of NaCl in minimal medium using glucose as the only carbon source in order to evaluate various physiological parameters along with the production of PHB. **Results** We found that the specific growth rate for the WT strain was 0.34 (1/h) in 70 (g/L) of NaCl, and for the mutant strain Δ ectA it was 0.26 (1/h) at 40 (g/L) of NaCl. The synthesis of PHB, at different salt concentrations, was also evaluated. **Conclusion** The purpose of this study is the production of PHB in unsterile culture, where the mutant strain shows promising PHB production performance in comparison to the wild-type *H. elongata* strain.

FONDECYT Inicio 11150174



MI111

Determinación de la capacidad promotora del crecimiento vegetal de aislamientos endófitos-diazótrofos asociados a sorgo dulce

Gabriela Heijo¹, Cintia Mareque¹, Federico Battistoni¹. ⁽¹⁾ Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, UY.

El sorgo dulce (*Sorghum bicolor*) es un cultivo multipropósito utilizado en Uruguay como materia prima para la producción de bioetanol. Este cultivo requiere para su óptimo crecimiento elevadas concentraciones de fertilizantes químicos, lo cual repercute negativamente sobre los ecosistemas y sobre los gastos de producción. Dicha problemática nos plantea la búsqueda y estudio de tecnologías de producción más sustentables. En ese sentido, las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PCV) son una alternativa de biofertilización que permitiría reducir el uso de fertilizantes químicos. Los aislamientos UYSB89 (*Kosakonia radicincitans*), UYSB119 (*Bacillus toyonensis*) y UYSB139 (*Kosakonia cowanii*), fueron obtenidos de tejidos internos (endófitos) de tallo, semilla y raíz de plantas adultas de sorgo dulce, variedad M81E. Dichos aislamientos poseen características PCV *in vitro*, fijan nitrógeno atmosférico y establecen una asociación endofítica con el huésped. Asimismo, se demostró que son PCV de plantas de sorgo dulce, en condiciones *gnotobióticas*. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar, en condiciones de invernáculo, la capacidad de dichos aislamientos de PCV en plantas de sorgo dulce (variedades M81E y ADV2010), usando como sustrato tierra y arena estéril (relación 1:1). A los 4 meses se evaluaron los parámetros biométricos: altura de la planta, diámetro del tallo y peso seco de parte aérea y radicular. Como testigo se utilizaron semillas sin inocular y como control positivo solución de urea. Los resultados mostraron que todos los aislamientos mostraron diferencias estadísticamente significativas en alguno de los parámetros evaluados con respecto al control negativo. Particularmente se destaca el aislamiento UYSB139, el cual mostró diferencias significativas con respecto al control en todos los parámetros analizados, para la variedad ADV2010. Los resultados obtenidos aportan conocimiento fundamental para el desarrollo de un bioinoculante en base a estos aislamientos, los cuales están especialmente adaptadas a las condiciones climáticas, tipo de suelo y al genotipo de las variedades de sorgo utilizadas en Uruguay.

ANII, PEDECIBA

MI112

Aislamiento y caracterización de la bacteria hidrocarbonoclástica *Achromobacter* sp. B7 y su aplicación en biorremediación de hidrocarburos

Lisette Hernández¹, Bárbara Barra Sanhueza¹, Roberto Durán¹, Valentina Méndez¹, Michael Seeger¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL.

En Chile ocurren frecuentemente derrames de hidrocarburos, siendo este tipo de eventos una de las principales causas de contaminación. Se requieren estrategias para descontaminar los sitios con hidrocarburos. La biorremediación es una estrategia que utiliza las capacidades catabólicas de los microorganismos para lograr la mineralización de contaminantes orgánicos. El objetivo de este estudio es el aislamiento desde suelo contaminado con diésel y la caracterización de la cepa hidrocarbonoclástica *Achromobacter* sp. B7. Se evaluó su capacidad catabólica de hidrocarburos. Se obtuvo un aislado bacteriano, a partir de muestras de suelo contaminadas, mediante PCR con partidores específicos diseñados previamente. Se amplificó el gen ARNr 16S para su posterior secuenciación e identificación. El aislado presentó un 99,86% de identidad con *Achromobacter spanius*. Se secuenció el genoma mediante Illumina HiSeq, que indicó una alta identidad con *Achromobacter piechaudii*. El aislado se caracterizó morfológicamente utilizando tinción Gram y microscopía óptica. La caracterización bioquímica fue realizada mediante la galería API 20Ne, específica para bacterias Gram negativas y se determinó su actividad catalasa. Se estudió su resistencia a antibióticos y el crecimiento en diferentes fuentes de carbono convencionales. La bacteria aislada presentó resistencia a bacitracina, penicilina y trimetoprima. Se observó crecimiento en succinato y fructosa como única fuente de carbono. Se evaluó la tolerancia a salinidad en medio líquido LB con distintas concentraciones de NaCl. El aislado presentó crecimiento en 0, 2, 4 y 6% p/v NaCl. Se evaluó el crecimiento del aislado bacteriano en diésel y diversos hidrocarburos alifáticos y aromáticos, presentando mayor crecimiento en diésel y n-hexadecano. Se evaluó su tolerancia a 0, 1, 3, y 5% v/v de diésel y n-hexadecano en medio mínimo M9. Finalmente se analizó mediante cromatografía gaseosa GC-FID la degradación de diésel 1% v/v. Se determinó que la bacteria degradó ~ 47% de C10-C25 en tres semanas. En conclusión *Achromobacter* sp. B7 es un atractivo biocatalizador para aplicación en estrategias de biorremediación.

Beca doctorado Nacional CONICYT 2013-21130742 (BBS), Beca de Gastos Operacionales CONICYT 2013-21130742 (BBS), Beca magíster Nacional CONICYT 2016-22162307 (RD), Proyecto FONDECYT 1151174 (MS), Proyecto Anillo GAMBIO ACT172128 (MS, VM).

MI113

Avaliação do potencial biotecnológico de fungos filamentosos isolados de ambiente costeiro na degradação de corantes têxteis

Estevão Buzatto¹, Nascimento Rodrigo P¹, Araújo João Gabriel S¹, Johnson Norman H¹. ⁽¹⁾ Departamento de Engenharia Bioquímica, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Os corantes são compostos de grande importância industrial, podendo ser aplicados em diversas áreas como a farmacêutica, cosmética e têxtil, sendo sua complexidade estrutural derivada das inúmeras reações químicas. A grande problemática da utilização de corantes é a forma como são descartados, muitas vezes sem tratamento adequado, impactando de forma negativa o meio ambiente devido à sua toxicidade e recalcitrância. Assim, o desenvolvimento de estudos que utilizem processos biotecnológicos, como a biorremediação, para reduzir ou mesmo eliminar a presença de rejeitos industriais se mostram como uma opção alternativa e viável em relação aos processos físico-químicos. Diante desse contexto, o presente trabalho objetivou avaliar o potencial biotecnológico de fungos filamentosos isolados de ambiente costeiro na degradação de corantes têxteis. 31 linhagens de fungos filamentosos isolados de sedimento arenoso e de manguezal, da Restinga de Marambaia, Rio de Janeiro, Brasil, foram crescidas inicialmente em meio agar batata (PDA) por 10 dias a 28°C. Após esse período, *slots* (0,5 cm) contendo crescimento fúngico foram cortados e transferidos para placas de Petri contendo meio PDA (pH 5.5) suplementado individualmente com 100 ppm de diferentes corantes têxteis, como *Remazol Brilliant Blue R* (RBBR), *Reactive Black 5* (RB-5) e *Reactive Red 120* (RR-120). As placas foram então, incubadas por 15 dias a 28°C sendo as zonas de hidrólise ou adsorção na biomassa fúngica, avaliadas após 7 e 15 dias. Dezoito linhagens fúngicas apresentaram algum tipo de descoloração do meio, sendo *Chrysosporium* sp. M1-9 capaz de remover completamente o corante RBBR. e parcialmente RR-120, enquanto *Aspergillus* sp. M3-8 foi capaz de remover parcialmente os corantes RBBR, RB-5 e RR-120. Os resultados obtidos sugerem o potencial biotecnológico de fungos filamentosos isolados de ambiente costeiro na degradação / descoloração de corantes têxteis em condições controladas.

Apoio Financeiro: FAPERJ, CNPq



MI114

Biooxidación de un concentrado de oro refractario utilizando el microorganismo *Acidithiobacillus ferrivorans* ACH aislado del Altiplano Chileno

Andrea Jara¹, Eric Herrera², Sergio Barahona¹, Francisco Remonsellez³. ⁽¹⁾ Ingeniería Química, Ingeniería, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Metalurgia y Mina, Ingeniería y Ciencias Geológicas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL. ⁽³⁾ Ingeniería Química, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL.

En la actualidad el procesamiento de minerales se centra en la búsqueda de nuevos procesos que permitan tratar minerales refractarios, los cuales resultan difíciles de procesar con métodos convencionales, como el caso del oro que se encuentra encapsulado en una matriz de minerales sulfurados (por ejemplo arsenopirita). Estos minerales deben ser sometidos a un pretratamiento para disolver la matriz de sulfuros para aumentar la extracción de oro por cianuración. Además, el pretratamiento del mineral puede evitar los problemas de ambientales que genera el arsénico en estos procesos. La metodología utilizada consistió en una biooxidación de hierro y azufre mediada por la cepa psicotolerante *Acidithiobacillus ferrivorans* ACH aislada desde el Altiplano Chileno. Para esto, en un matraz Erlenmeyer de 100 ml se creció la cepa con 30 ml de medio de sales basales, 1% de pulpa de concentrado de arsenopirita con una ley de oro de 50,11g/t y un tamaño de partícula 80% menor a 131 μm . Después de la adaptación se realizaron pruebas con diferentes porcentajes de pulpa (0,5; 1; 1,5 y 2%). Cada experiencia tuvo una duración de 20 días. El mejor resultado se obtuvo con 1% de sólidos y sin la adición de una fuente de energía externa, obteniéndose un potencial redox de 535,9 mV y 3×10^7 células/ml. Además, se confirmó por medio de las técnicas espectrales de QEMSCAN y DRX, que el microorganismo fue capaz de generar bio-eskorodita (5,4%) como precipitado de arsénico en su forma más estable. Finalmente, se determinó que la matriz de sulfuros refractarios disminuyó de 37,67% a 16,82% en el caso de la arsenopirita, y de 12,84% a 1,13% para la arsenopirita con contenido de Níquel y Cobalto, lo que podría permitir un aumento de la recuperación de oro por una posterior cianuración directa. Por lo tanto, se destaca el potencial que presenta la cepa *A. ferrivorans* ACH para oxidar minerales sulfurados con un alto contenido de arsénico a temperatura mesófila.

Beca de Doctorado Nacional, año académico 2017. CONICYT



MI115

Producción de exopolisacáridos por *Weissella* sp. lbm510

Jimenez Zorys Joana¹, Peña Carmen Gladys¹, Zavaleta Amparo Iris¹. ⁽¹⁾ Lima, Farmacia Y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, PE.

Los exopolisacáridos (EPS) obtenidos de bacterias ácido lácticas son una alternativa a los polímeros químicos y a los procedentes de algas y plantas por su bajo costo, fácil producción y escalamiento. Estos biopolímeros presentan una amplia diversidad de estructuras químicas y diferentes aplicaciones industriales como emulsionantes, espesantes y gelificantes; además reducen la sinéresis y mejoran las propiedades reológicas de los productos. En este contexto, el objetivo de este estudio fue la producción de exopolisacáridos por *Weissella* sp LBM510. En primer lugar, la producción de EPS se evaluó utilizando el medio Man Rogosa Sharp suplementado con diferentes azúcares tales como: celobiosa, sacarosa, lactosa, maltosa y glucosa; el cultivo se realizó a 30 °C por 48 h. Los EPS se precipitaron con etanol y la concentración se determinó por diferencia entre carbohidratos totales y azúcares reductores utilizando los métodos de antrona y ácido 3,5 dinitrosalicílico respectivamente. Las condiciones óptimas de producción del EPS se obtuvieron por la metodología de superficie de respuesta considerando la concentración de sustrato, pH, temperatura y tiempo. Finalmente, se determinó que *Weissella* sp LBM510 produjo EPS cuando se suplementó el medio Man Rogosa Sharp con sacarosa 2% y los parámetros óptimos para la producción de EPS fueron pH 6, a 28 °C y 27 h, con estas condiciones se obtuvieron 8 gL⁻¹ de EPS.

VRIP-UNMSM

MI116

Insights of *Leptospirillum ferriphilum* biofilm lifestyle EPS glycoconjugates visualization and initial steps to the identification of new cell-cell signalling compounds

C Jorquera-Román¹, María-Jose Abarca-Lagunas¹, María Luisa Valenzuela², Thomas Neu³, Mario Vera^{1,4}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Ingeniería de Proteínas y Microorganismos, Instituto de Ingeniería Biológica y Médica, Escuelas de Ingeniería, Medicina y Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Instituto de Ciencias Químicas Aplicadas, Inorganic Chemistry and Molecular Materials Center, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Department of River Ecology, Helmholtz Centre for Environmental Research, Leipzig, DE. ⁽⁴⁾ Departamento de Ingeniería Hidráulica y Ambiental, Escuela de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

Bioleaching is the conversion of insoluble metals sulfides such as pyrite (FeS₂) or chalcopyrite (CuFeS₂) into soluble ions, assisted by iron-sulfur oxidizing microorganisms. A key role for this process is biofilm formation, which is mediated by the production of microbial extracellular polymeric substances (EPS), and partially regulated by Quorum Sensing (QS) mechanisms, which in Gram (-) bacteria are mainly driven by type-I QS systems and the use of acyl-homoserine lactones (AHL) as autoinducers. *Leptospirillum ferriphilum* is a moderate thermophilic iron oxidizer, which has a dominant role on several microbial bioleaching communities. Previous work has shown that this species do not possess the canonical QS systems, but instead it could produce diffusible signal factors (DSF) type molecules. The objective of this work is to characterize *L. ferriphilum* when forming biofilms as well as to gain insights into its potential for QS. We have characterized *L. ferriphilum* attachment and biofilm formation on pyrite grains and visualized their EPS glycoconjugates by fluorescent lectin binding analysis (FLBA) and epifluorescence microscopy (EFM). Our results show that 10 lectins were useful to identify capsular and colloidal EPS glycoconjugates in this species. This will potentially allow us to use FLBA as a method to identify this species in mixed biofilms. In order to gain insights of potential new cell-cell signaling compounds, we performed organic extraction from supernatants of planktonic and biofilm cultures of *L. ferriphilum*. The extracts showed inhibitory properties of iron oxidation and growth inhibition of *L. ferriphilum* and or *Acidithiobacillus ferriphilus* R1. These results support the known dominance role of *L. ferriphilum* in leaching environments. The identification of the active fractions of the extracts is in progress.

Funding by Proyecto FONDECYT 1161007

MI117

Avaliação da influência da composição do meio de cultura na atividade específica de “filter paper activity” produzida por *Aspergillus niger* CCT 7687

Kapp Barbara Regina¹, Greatti Vanessa Raquel¹, Seraphim Carolina Manzato¹, Rodrigo Sorrechia¹, Cerri Marcel Otávio², Pietro Rosemeire C.L.R.¹. ⁽¹⁾ Drugs and Medicine, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo State, Araraquara, BR. ⁽²⁾ Biotechnology Engineering and Bioprocess, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo State, Araraquara, BR.

A produção de enzimas celulolíticas tem grande importância para diferentes indústrias e estas enzimas catalisam a hidrólise de celulose em D-glicose, nas ligações β -1,4 glicosídicas. O complexo celulolítico é composto por três diferentes enzimas: endoglucanases, exoglucanases e β -glicosidases, e a ação em conjunto destas enzimas é chamada “Filter Paper Activity” (FPAse). O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da composição do meio de cultura através de delineamento fatorial Plackett-Burman na atividade específica de FPAse produzida por *Aspergillus niger* CCT 7687. Utilizou-se delineamento fatorial Plackett-Burman de 16 ensaios, cuja matriz possui valores do meio de cultura como +1: celulose (10,0g/L), extrato de levedura (10g/L), glicose (10g/L), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1,4g/L), KH_2PO_4 (2,0g/L), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,4g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,3g/L), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (5,0mg/L), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (3,7 mg/L), $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1,6mg/L) e $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1,4mg/L) e os valores -1 sendo com celulose, extrato de levedura e glicose 5,0 g/L e para os sais 0,0 g/L. A *niger* foi cultivado por 11 dias, 30°C e 150rpm. A atividade enzimática foi avaliada incubando 1 mL de sobrenadante de cada ensaio com 1 mL de tampão citrato de sódio (pH 5,0, 50 mmol/L) e uma tira de papel de filtro Whatman nº1 (1cmx7cm), por 60 minutos, sendo a glicose liberada quantificada pelo ácido dinitrosalicílico. As proteínas totais foram quantificadas pelo método de Bradford. A influência da composição do meio foi avaliada por meio de software Protimiza Experimental Design. Os resultados do delineamento fatorial de Plackett-Burman demonstraram que o extrato de levedura e o KH_2PO_4 possuem efeitos estatisticamente significativos na atividade específica de FPAse. O extrato de levedura mostrou efeito positivo de 1,180 na atividade específica e possui um p-valor de 0,028, enquanto que o KH_2PO_4 mostrou um efeito negativo de -1,073 e p-valor de 0,037. Podemos concluir que o extrato de Levedura e KH_2PO_4 influenciam a atividade específica, possuindo efeito positivo e negativo, respectivamente com significância estatística de $p < 0,05$. Portanto, a composição do meio de cultura é um parâmetro importante na produção de enzimas como demonstrado neste estudo, pois os componentes podem afetar significativamente a atividade específica.

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

MI118

Formación de nanopartículas fluorescentes de cobre en *Escherichia coli*

Sebastian Lagos-Moraga¹, N Bruna¹, C Navarro¹, JM Pérez-Donoso¹. ⁽¹⁾Laboratorio de BioNanotecnología y Microbiología, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa (CBIB), Facultad Ciencias de la vida, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

En la última década, la nanotecnología se ha establecido como una de las ramas científicas de mayor ascenso debido a las múltiples aplicaciones de las nanopartículas (NPs). En particular, el desarrollo de nuevos métodos de síntesis y la producción de NPs con mejores propiedades físicas, químicas y de biocompatibilidad, ha permitido grandes avances. La biosíntesis de nanopartículas ha sido reportado en distintos organismos como levaduras, hongos y bacterias. Los cuales se basan en exponer al metal al microorganismo o utilizar el sobrenadante del cultivo del microorganismo y realizar la síntesis. La biosíntesis de NPs tipo Quantum Dots es algo no descrito para Cu y tampoco el uso de *E. coli* para esto. El objetivo del presente estudio es evaluar el rol de la formación de NPs de Cu fluorescentes en la tolerancia al metal en *E. coli*. Dentro de este contexto nuestro grupo demostró la capacidad de *E. coli* de producir NPs fluorescentes intracelulares de cobre sulfuro al ser crecida en distintos medios de cultivo, algo no descrito hasta la fecha. Específicamente se desarrolló un protocolo donde *E. coli* BW25113 es capaz de producir fluorescencia luego de ser expuesto a distintas concentraciones de cobre y ser observado mediante luz UV (360nm) en transiluminador. Estas NPs fluorescentes de Cu, fueron purificadas mediante ruptura celular y analizadas mediante Dispersión Dinámica de la Luz (DLS), Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) y Espectroscopia de Rayos X, determinando que su centro está constituido por CuS con una cubierta de materia orgánica, y que además presentan un tamaño inferior a 20 nm. Sorprendentemente, al analizar la toxicidad en bacterias de las NPs de CuS determinamos que en este estado el cobre presenta menos toxicidad que el Cu²⁺, NPs de CuO u óxidos de Cu. Además, estudios en mutantes de *E. coli* del metabolismo de los polifosfatos revelaron que la formación de NPs dependería de la concentración de polifosfatos intracelulares de la bacteria. En conjunto los resultados obtenidos sugieren que la síntesis de NPs fluorescentes de Cu constituiría un nuevo mecanismo de tolerancia a Cu en *E. coli*.

Financiado por FONDECYT 1151255 (JMP-D), INACH RT-25_16 (JMP-D) y Beca DGI-UNAB

MI119

Aislamiento y caracterización de bacterias obtenidas desde un sistema de biopurificación con potencial uso industrial

Lamilla Claudio A¹, Henríquez Andrés A², Donoso-Piñol Pamela P¹, Leiva Bárbara N¹, M. Cristina Diez¹. ⁽¹⁾ Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias - CIBAMA-BIOREN, Universidad De La Frontera, Temuco, CL.

⁽²⁾ CIBAMA - BIOREN, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera, Temuco, CL.

Los sistemas de biopurificación (SBP) son utilizados para prevenir, retener y degradar derrames de plaguicidas durante la manipulación de los productos para ser aplicados en faenas agrícolas y forestales. Además, se pueden utilizar para el tratamiento de aguas contaminadas con plaguicidas. El SBP está conformado por una matriz orgánica o biomezcla, compuesta de suelo, turba comercial y paja de trigo, en ella, conviven un gran número de microorganismos como bacterias y hongos adaptados a condiciones con alta concentración de contaminantes como los plaguicidas. El objetivo de este estudio fue aislar y caracterizar bacterias obtenidas desde un SBP ubicado en el Campo Experimental Maquehue, perteneciente a la Universidad de La Frontera, con potencial uso industrial, mediante la búsqueda de enzimas con actividad; proteolítica, amiolítica, lipolítica y celulítica. El aislamiento bacteriano se realizó tomando 0,1 gr de la matriz orgánica (perfil a 30 cm de profundidad), resuspendiéndose en 0,9 ml de solución salina estéril, realizando dilución seriada de 1×10^{-1} hasta 1×10^{-4} . Tomando 65 μ l de cada dilución y sembrada en placas con los medios de cultivos LB, ISP2 y R2A, se incubaron a 28°C por una semana. Cada aislado bacteriano fue caracterizado mediante su morfología y su actividad enzimática. Las actividades enzimáticas proteolítica, amiolítica, lipolítica y celulítica, se evaluaron por la presencia de una aureola transparente alrededor de cada colonia bacteriana, en el medio de cultivo (R2A) siendo suplementado con: leche descremada sin grasa (0,4 % p/v); gelatina (1 % p/v); almidón soluble (0,4 % p/v); Tween-80 (1 % v/v) y carboximetilcelulosa (0,4 % p/v) a 28°C por 72 h. Los resultados obtenidos fueron el aislamiento de 32 cepas bacterianas diferentes, donde morfológicamente predominaron los bacilos gram positivos. La determinación enzimática en las bacterias mostró de manera positiva actividad en un 80% proteolítica, 78 % amiolítica, 81 % lipolítica y el 69 % gelatina, además de un 28 % actividad celulítica. Estos datos nos entregan promisorios resultados para una futura aplicación de estas enzimas en las industrias con potencial uso biotecnológico.

Agradecimientos: FONDECYT 1161481, CONICYT/FONDAP/15130015 y Convenios de Desempeño - UFRO

MI120

Antibiotic resistance genes and substances with biotechnological potential in bacteria isolated from sponges and seawater

Marinella Laport¹, Nunes Suzanne O.¹, Costa Wellington F.¹, Oliveira Thiago S.¹, Canellas Anna Luiza B.¹, Rosa Heloísa S.¹, Jhonatan Felix R.¹, Lopes Isabelle R.¹, Jéssyca Freitas-Silva¹, Oliveira Bruno Francesco R.¹, Puccinelli Gabriela C.R.¹, Guilherme Muricy². ⁽¹⁾ Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Depart. Invertebrados, Museu Nacional, Universidade Federal Do Rio De Janeiro, Rio de Janeiro, BR.

Marine sponges (Porifera) are important members of aquatic systems and host diverse and abundant bacterial populations, resembling those of soils and animal digestive tracts. Such a species rich environment may harbor genetic repertoires which aid in competitiveness and survival – including antibiotic production and resistance genes. It is known that sponge-associated bacteria are an attractive source of new bioactive substances with biotechnological potential. Furthermore, these may be a reservoir of functional antibiotic resistance genes (ARG), mainly in anthropogenic areas. However, the potential of these microorganisms remains little investigated. The aims of this study were to analyze the antimicrobial resistance profile, and to screen the production of bioactive substances and enzymes from bacteria isolated from marine sponges and surrounding seawater. Antimicrobial susceptibility profile was analyzed by the Kirby-Bauer disk-diffusion method and the presence of ARG was investigated using PCR and sequencing. Preliminary results showed that about 70% of the strains were resistant to one or more antimicrobials tested and *bla*TEM-1 gene, encoding β -lactamase, was identified in a *Shewanella* strain. The production of antimicrobial substances was performed by previously established overlay assay. Among the almost 500 marine strains tested, about 5% exhibited activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, including multidrug-resistant strains. Antibiofilm activities were detected by semi-quantitative method. The culture supernatant of marine bacteria showed the ability to disrupt or inhibit staphylococcal biofilms, some strains dissociated and inhibited more than 60% of the microbial biofilms. About 10% of the marine bacteria produced biosurfactants with good emulsifying index (E24 > 30%), highlighting their potential for biotechnological application. Two-hundred strains were also evaluated for their capacity to produce exoenzymes by agar-diffusion. Amylolytic activity was verified in 35%, lipolytic in 51%, esterase in 64% and proteolytic in 21% of tested isolates. For agarase production, 73% were defined as potential producers. These results suggest that marine bacteria may be important environmental reservoirs of ARG and constitute an interesting source of novel bioactive compounds with biotechnological potential such as antimicrobial and antibiofilm substances, biosurfactants and exoenzymes.

FAPERJ (grants no. E-26/102.970/2012 and E-26/203.320/2017), CAPES and CNPq (grants no. 448625/2014-8) for grants and fellowships.

MI121

Microbial diversity of Grey Glacier system (Patagonia, Chile): high biotechnological potential regarding antimicrobial and nanoparticles synthesis

Paris Lavin^{1,2}, Arán Sekul Pablo^{1,2}, Icaza Gonzalo Paris^{1,2}, Patricio Munoz², Esteban Severino^{1,2}, Johnatan Garcia^{1,2}, Veronica Molina³, Corina Ictus⁴, Paun Ioan⁴, Carmen Chifiriuc⁵, Crisitna Purcarea⁴, Cristina Dorador^{1,2}. ⁽¹⁾ Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB), Universidad de Antofagasta. ⁽²⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽³⁾ Facultad de Ciencias Naturales y Exacta, Universidad de Playa Ancha de Ciencias de La Educación, Valparaíso, CL. ⁽⁴⁾ Department of Microbiology, Institute of Biology, Institute of Biology, Bucharest, RO. ⁽⁵⁾ Microbiology Dept., Faculty of Biology, University of Bucharest, Bucharest, RO.

Widely cold-adapted microorganisms such as bacteria, archaea, yeasts, filamentous fungi and algae represent a significant portion of the living world, being the key mediators of the biogeochemical cycling in natural environments. The Sub-polar zones of Chile like Patagonia are influenced directly by climate change and anthropogenic pollution affecting the microbial community structure at spatial and temporal scale. Grey Glacier is located in the Torres del Paine National Park, at Southern Patagonian Ice Field. Due to the increase of regional temperature and precipitation variability, the Glacier detaches ice fragments, which are floating on the lake. Considering the scarce knowledge of microbial assemblages in this system, our main goal was to describe the microbial community structure and the biotechnological potential of Bacteria present on Grey Glacier. In order to accomplish this, environmental DNA was isolated from glacier ice and lake samples to determine the taxonomic composition of the prokaryotic community by the evaluation of Illumina sequencing data of 16S rRNA genes by Qiime v1.9.1. In order to unveil the functional and metabolic diversity and biotechnological potential the PICRUST pipeline was used. Additionally, culture dependent approach was used to assess the capability to inhibit hospital multi-resistant bacteria and gold nanoparticle production at low temperature. A total of 4,603,992 sequences and 33,805 observed OTUs were described. Sequences were affiliated to 25 different bacteria phyla. Dominant groups were: Actinobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes and Firmicutes. 11 strains from 78 isolates were able to produce compounds that inhibit the growth of 80 multi-drug resistant bacteria isolated from Romanian hospital, being *Pseudomonas*, *Plantibacter* and *Flavobacterium* the most frequent genera to inhibit those multi-drug resistant bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Morganella morganii*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus epidermis* and Meticillin Resistant *Staphylococcus aureus*). Additionally, 26 from 78 isolates were able to synthesize gold nanoparticles at low temperature (15°C) for further biotechnological applications. Glacier Grey microbial communities are diverse and exhibited a wide biotechnological potential regarding antimicrobial properties and nanoparticles production.

ERANET-LAC/CONICYT N°ELAC2014/DCC-0178, FONDECYT 1181773, CeBiB FB0001

MI122

Cinética de produção de metabólitos secundários antimicrobianos produzidos por *Streptomyces* sp. MPO11 isolado de solo rizosférico da Amazônia

Liberal Talita F¹, Sousa Sara F², Kasper Aline M², Santana Raphael F³, Boger Alexandre E⁴, Mourão Anele C⁵, Fabian Monnik Z⁶, Santos Brenna Victoria L⁶, Sousa Junior José Jeosafá V⁶, Castro Kelly F⁷, Escher Silvia Katrine S⁸.

⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia, Programa de Pós Graduação e Mestrado em Biotecnologia, Universidade Federal do Oeste do Pará-UFOPA, Santarém-PA, BR. ⁽²⁾ Doutorado Sociedade, Natureza e Desenvolvimento, Universidade Federal do Oeste do Pará-UFOPA, Santarém-PA, BR. ⁽³⁾ Departamento de Antibióticos da UFPE, Universidade Federal do Pernambuco-UFPE, Recife-PE, BR. ⁽⁴⁾ Instituto de Saúde Coletiva-ISCO, Universidade Federal do Oeste do Pará-UFOPA, Santarém-PA, BR. ⁽⁵⁾ Laboratório de Microbiologia, Laboratório de Microbiologia, Universidade Federal do Oeste do Pará-UFOPA, Santarém-PA, BR. ⁽⁶⁾ Laboratório de Microbiologia, Universidade Federal do Oeste do Pará-UFOPA, Santarém-PA, BR. ⁽⁷⁾ Instituto de Biodiversidade e Florestas-IBEF, Universidade Federal do Oeste do Pará-UFOPA, Santarém-PA, BR. ⁽⁸⁾ Laboratório de Microbiologia da UFOPA, Instituto de Saúde Coletiva-ISCO, Universidade Federal do Oeste do Pará-UFOPA, Santarém-PA, CL.

A Amazônia é reconhecida por sua biodiversidade e apresenta no solo uma intensa atividade microbiana resultante da produção de diversos metabólitos atuantes no processo de ciclagem de nutrientes e competição. O gênero *Streptomyces* pertence ao grupo das actinobactérias e se destaca na produção de uma gama de metabólitos com aplicação na indústria farmacêutica, principalmente os antibióticos. A produção destes metabólitos via cultivo submerso é regulada por diferentes fatores físico-químicos como a composição nutricional, aeração, temperatura e pH. O objetivo do presente estudo foi padronizar o método de produção de metabólitos antimicrobianos produzidos por uma actinobactéria do gênero *Streptomyces* sp isolada de solo rizosférico de *Aniba parviflora* Syn Fragans (macacaporanga). A identificação bacteriana foi realizada através de métodos clássicos de microbiologia e análise molecular a partir do sequenciamento parcial do RNAr 16S. A produção dos metabólitos antimicrobianos foi realizada através do método de cultivo submerso sob agitação contínua de 180 rpm por 168h em 500 ml dos meios líquidos Meio para produção de Euromicina (MPE) e o meio M1 adaptado com modificações nas concentrações das fontes de C e N, sendo avaliados os durante cultivo, a biomassa, pH, temperatura e atividade antimicrobiana do líquido metabólico livre de células. A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método de difusão em disco contra bactérias e fungos de interesse clínico. A biomassa e a produção de metabólitos antimicrobianos variou nos meios de cultivo, sendo que o pico de produção dos metabólitos antimicrobianos ocorreu em meio MPE em 72h de cultivo, com ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* UFPEDA02, *Staphylococcus epidermidis* UFPEDA800, *Enterococcus faecalis* UFPEDA 138, *Bacillus subtilis* UFPEDA 86 e *Enterobacter aerogenes* UFPEDA 348. Estes dados indicam que as condições nutricionais do meio de cultivo influenciam na produção dos metabólitos bioativos da actinobactéria nativa da Amazônia, com maior produção dos metabólitos antimicrobianos em meio MPE.

CNPQ; FAPESPA;

MI123

Produção de hidrolases e ligninases por fungos filamentosos isolados de compostagem

Lima. Lidiane Maria Dos¹, Passarini Michel Zambrano², Okamoto Débora Noma¹, Oliveira Lilian Caroline³, Ramos Patrícia Locosque⁴, Da Cruz João Batista⁴, De Vasconcellos Suzan Pantaroto¹. ⁽¹⁾ Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas, Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, BR. ⁽²⁾ Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, Universidade Federal da Integração da América Latina, Foz do Iguaçu, BR. ⁽³⁾ Departamento de Biofísica, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, CL. ⁽⁴⁾ Fundação do Parque Zoológico de São Paulo, Fundação do Parque Zoológico de São Paulo, Fundação do Parque Zoológico de São Paulo, São Paulo, BR.

Fungos são organismos que degradam a matéria orgânica no solo e são capazes de produzir metabólitos de interesse, como antibióticos, pigmentos, ácidos orgânicos e enzimas com aplicações industriais e biotecnológicas. Entre os 190 fungos filamentosos isolados de duas células de compostagem construídas na Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP), treze (13) isolados fúngicos foram selecionados e avaliados quanto às atividades celulolíticas e xilanolíticas, utilizando-se os kits comerciais AZO-CM-Celulose e AZO-Xylan (Megazyme®), respectivamente. A atividade proteolítica também foi objeto de estudo, tendo sido avaliada por metodologias automatizadas utilizando-se bibliotecas de sondas peptídicas (Abz-G-XXXXXQ-EDDnp) do tipo FRET (transferência de energia por ressonância de fluorescência). As atividades de enzimas ligninolíticas também foi objeto de estudo, sendo avaliados por métodos espectrofotométricos, baseados em leituras de absorvância, em diferentes comprimentos de onda e substratos. Álcool veratrílico (λ 310 nm) foi utilizado como substrato para a detecção de Lignina Peroxidases (LiP). Vermelho de Fenol (λ 610 nm) para a detecção de Manganês Peroxidases (MnP), enquanto siringaldazina (λ 525 nm) foi o substrato para a detecção de Lacases (Lac). Além disso, parâmetros cinético-enzimáticos para a detecção da atividade ótima de lignina peroxidases (LiP) também foram alvo do estudo. Analisou-se o caldo enzimático (sobrenadante microbiano) dos fungos filamentosos selecionados, permitindo a determinação das constantes cinéticas enzimáticas K_m , V_{max} e $K_{cat\text{ aparente}}$. Entre os treze (13) isolados avaliados, foi possível selecionar dez (10) produtores de endocelulases (FPZSP1_129, 135, 141, 148, 151, SP2_121, SP3_1, 5, 47, e 74), três (3) produtores de xilanases (FPZSP1_135, FPZSP3_47 e 91), dois (2) produtores de proteases (FPZSP3_1 e FPZSP1_135) e três (3) produtores de oxidases (FPZSP1_129, 141 e FPZSP3_47). O isolado FPZSP1_129 dentre os avaliados, foi o melhor fungo quanto a atividade ótima de LiP mediante a determinação das constantes cinéticas enzimáticas K_m (mM) $8,6 \pm 1,45$, V_{max} (mmol min⁻¹) $51,45 \pm 0,78$ e $K_{cat\text{ aparente}}$ (mmol min⁻¹) 5,98. Almeja-se para o próximo período a determinação dos parâmetros cinéticos para o incremento das atividades enzimáticas dos fungos selecionados, vislumbrando-se a expressão heteróloga e caracterização das proteínas de interesse à aplicação futura em biorrefinarias para a deslignificação de biomassa vegetal.

FAPESP, CAPES, UNIFESP e FPZSP.

MI124

Caracterización de *Halomonas* sp. y *Salinivibrio* sp. de la reserva nacional salinas y aguada blanca (Perú) con potencial aplicación para remediar efluentes industriales

Wendy Lizárraga¹, Carlo Mormontoy¹, María Castañeda¹, Mac Aguirre¹, Mario Taira¹, María Alvan¹, Christian Dávila¹, Carlos Llanos¹, Julio Villegas¹, Pablo Ramírez¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, PE.

Los microorganismos halófilos presentan múltiples aplicaciones de interés biotecnológico debido a su fisiología y capacidad para degradar compuestos xenobióticos en condiciones de elevada salinidad. En las diversas industrias como la textil y pesquera, los efluentes contienen gran cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos ocasionando dificultades en la bioremediación. El presente trabajo tuvo por objetivo evaluar la actividad hidrolítica de colorantes de la industria textil, proteínas y lípidos en nueve aislados de los géneros *Halomonas* y *Salinivibrio* provenientes de Laguna Salinas Huito en la Reserva Nacional de Salinas y Aguada Blanca (Arequipa), con coordenadas 16° 20' 10" LS y 71° 08' 30" LO. Las cepas se aislaron en los medios Sea Water y MGM, propuesto por Dyll y Smith (2008). Se evaluó la actividad proteolítica y lipolítica en los medios salinos suplementados con Leche y Tween 80 (1%). La actividad decolorante se evaluó sobre Rojo Remazol, Marino Remazol y Negro Bezaktiv a 100 ppm en medio Sea Water. Se determinó el efecto de la temperatura (21, 30 y 37°C), pH (6,7,7.5,8 y 9), NaCl (2,4,6,8,10,15 y 20%), concentración de extracto de levadura (0.025,0.05,0.1,0.2 y 0.3%) y peptona (0.125, 0.25, 0.5,1 y 1.5%), y concentración de colorante (50,100,200,300,400 y 500ppm) sobre la decoloración de Negro Bezaktiv con la cepa más eficiente. Mediante análisis filogenético con la secuencia del gen 16S rDNA, se determinó que los aislados SH1, SH2, SH3, SH4 pertenecen al género *Halomonas* y las cepas SH5, SH6, SH7, SH8 y SH9 a *Salinivibrio*. Se determinó cualitativamente que las cepas SH5, SH7, SH8 y SH9 presentan actividad proteolítica y la cepa SH2 presenta actividad proteolítica y lipolítica. En tanto que, las cepas de *Halomonas* SH1, SH2 y SH4 tuvieron la capacidad de degradar los colorantes Rojo Remazol, Marino Remazol y Negro Bezaktiv. De éstas la *Halomonas* SH4 fue la más eficiente en decolorar el Negro Bezaktiv, con la que se obtuvo la máxima eficiencia de degradación de 87% a 37°C, pH 7.5, NaCl (8%), extracto de levadura (0.3%) y peptona universal (1.5%).

Financiado por Vicerrectorado de investigación y posgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (VRIP B17100191)

MI125

Expresión heteróloga en *Escherichia coli* de L-asparaginasa II proveniente de *Salinispora tropica* CNB 440, un posible agente quimioterapéutico

Nyna Llanovarced¹, Juan Asenjo¹, Bárbara Andrews¹. ⁽¹⁾ Santiago, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile, Santiago, CL.

La enzima L-asparaginasa II, que hidroliza L-asparagina en ácido aspártico y amonio, es utilizada actualmente como agente quimioterapéutico, en el tratamiento de leucemia linfoblástica aguda infantil, leucemia mieloblastica aguda, linfoma no Hodgkin y carcinoma hepatocelular entre otros, debido a su efecto antineoplásico sobre ciertos tipos de células tumorales que son incapaces de producir L-asparagina y dependen de la circulante para su proliferación. A pesar de su rol exitoso en el tratamiento de estas enfermedades, su uso es constantemente reevaluado ya que genera efectos secundarios, asociados con la especificidad de la enzima a un segundo sustrato, glutamina, generando pancreatitis, disfunción renal, hemorragia y reacciones de hipersensibilidad. Se ha descrito la presencia de esta enzima en diversos organismos, siendo utilizadas actualmente las producidas por microorganismos. Entre ellos, las bacterias marinas del orden actinobacteria son de gran interés, ya que se han descrito L-asparaginasa II sin actividad glutaminasa. Dado el interés por encontrar nuevas asparaginasa con baja o nula actividad glutaminasa es que en este trabajo se estudió una nueva L-asparaginasa II descrita en el genoma de la actinobacteria *Salinispora tropica* CNB 440 que hasta el momento no ha sido caracterizada. Para ello el gen codificante para la enzima L-asparaginasa II fue amplificado a partir del genoma de *S. tropica* CNB 440 y clonado en el vector de expresión pET22b(+), con el cual se quimiotransformó cepas de *E. coli* BL21(DE3) quimiocompetentes. Posteriormente se indujo la expresión del constructo en células transformantes con IPTG, logrando producir la proteína. Se comparó la actividad de la enzima L-asparaginasa II mediante Nesslerización, a partir de extractos crudos, para los sustratos L-asparagina y L-glutamina, obteniéndose una actividad glutaminasa de un 1% con respecto a la actividad asparaginasa. Dado los prometedores resultados obtenidos, se purificó la proteína recombinante mediante cromatografía de afinidad Ni-NTA. Finalmente para trabajo futuro se sugiere la evaluación de la actividad de la enzima purificada como su caracterización cinética con el fin de compararla con enzimas comerciales.

Agradecimientos al Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB), cuyo proyecto CONICYT PIA FB-0001 han respaldado la investigación.

MI126

Aplicação de extrato de ramnolípídeo na remediação de metais pesados do solo

Lopes Claudio Sabbatini¹, Freire Denise Guimarães², Santelli Ricardo Erthal³, Braz Bernardo Ferreira³, Lucy Seldin¹.

⁽¹⁾ Microbiologia Geral, Instituto de Microbiologia Paulo de Goés, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Bioquímica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽³⁾ Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR.

A indústria mineradora brasileira gera anualmente uma quantidade considerável de metais pesados sob a forma de rejeitos. Eventuais vazamentos destes resíduos podem ocasionar graves impactos socioeconômicos e ambientais. Agentes quelantes, ácidos e surfactantes sintéticos empregados em metodologias convencionais de remediação podem apresentar lenta biodegradabilidade, além de alterarem a composição físico-química do solo. Uma alternativa ecologicamente sustentável é a utilização de biossurfactantes em processos de remediação. Ramnolípídeos são glicolípídeos capazes de remover uma série de metais pesados do solo além de possuírem importantes propriedades interfaciais. Uma estratégia para a viabilização econômica deste processo em larga escala é a aplicação de ramnolípídeos sob a forma de extrato. No presente estudo foi avaliado o potencial de um extrato de ramnolípídeo como agente de remediação de dois solos arenosos: um contaminado artificialmente e outro coletado próximo a uma área de mineração desativada na região metropolitana Fluminense. Ambos os solos possuíam altas concentrações de cádmio, zinco e arsênio. A produção de ramnolípídeo foi realizada em biorreator utilizando a cepa bacteriana *Pseudomonas aeruginosa* 1201. A quantificação final de biossurfactante foi realizada através de ensaios de cromatografia líquida de alta eficiência. Ensaios em microescala foram realizados com o objetivo de inferir os melhores parâmetros de remediação do solo contaminado: concentração de surfactante, pH e tempo. A concentração de metais nas amostras de solo foi analisada por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado. O extrato de ramnolípídeo apresentou um grau de pureza de 45%. A concentração ideal de ramnolípídeo para remediação do solo contaminado artificialmente foi de 0,5% e 2% para o solo de mineração. Para ambos os solos o pH ótimo do extrato de ramnolípídeo foi de 8,0 e o tempo de remediação 48 horas. O percentual de remoção para a contaminação artificial de arsênio, zinco e cádmio foi de: 65, 59, 52% respectivamente, ao passo que o solo proveniente de área de mineração teve um percentual de remoção de: 46, 40, 52% respectivamente. Estes resultados são promissores, por demonstrarem a eficiência do processo de remediação utilizando extrato de ramnolípídeo e a possibilidade de empregar este biocomposto em metodologias de remediação em macroescala.

Apoio financeiro: CNPQ, CAPES

MI127

Genomic analysis of the hydrocarbons degradation and the biosurfactant alasan biosynthesis pathways in the halotolerant hydrocarbonoclastic *Acinetobacter* sp. strain DD78

Constanza Macaya¹, Valentina Méndez¹, Roberto Durán¹, Michael Seeger¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL.

Soil salinity may be a limiting factor in bioremediation processes. Salinity affects microbial activity, causing an unbalanced osmotic stress across the bacterial cell wall. *Acinetobacter* sp. DD78 is a Gram-negative aerobic bacterium, which was isolated from a historically polluted soil from Aconcagua estuary. 16S rRNA gene sequence analysis revealed that strain DD78 is closely related to *A. radioresistens* (99%). Strain DD78 possess a high emulsification capability and is able to synthesize the biosurfactant alasan. The aim of this study is to identify and characterize genes involved in hydrocarbon catabolic pathways, the alasan anabolic pathway and metal resistance in the genome of *Acinetobacter* sp. DD78. Genomic was sequenced by Illumina and PacBio technologies and assembled. The DD78 genome has a size of 3.25 Mbp, harboring ~3,100 coding sequences distributed in four circular replicons, The replicons are one chromosome (replicon A, 3 Mb), and three plasmids of 90 kb (replicon B), 81 kb (replicon C) and 70 kb (replicon D). The overall G+C content of the genome is 41%. Genes involved in arsenic and heavy metals (copper, cobalt, zinc and cadmium) resistance were found in plasmid B. Genes associated with lineal and branched alkanes catabolic pathways were identified. Strain DD78 harbors the genes of a high number of aromatic compounds pathways such a benzoate, anthranilate and 3-phenylpropionate pathways. The *alnA*, *alnB*, and *alnC* genes for alasan synthesis and their neighborhoods were characterized. The *aln* genes are not clustered and distributed in the chromosome. The *alnA* encodes an outer membrane protein that has 26% identity with OmpA from *E. coli*. The *alnB* gene encodes a protein that possesses 73% identity to peroxiredoxin. The *alnC* gene encodes for a protein with unknown function. A potential HTH-type transcriptional regulator and proteins with transmembrane domain may be associated with alasan biosynthesis and cellular release. The halotolerance of *Acinetobacter* sp. DD78 was studied. Strain DD78 was able to grow up to 4% w/v NaCl on R2A medium. Therefore, *Acinetobacter* sp. DD78 is an attractive halotolerant strain for bioremediation of hydrocarbon-polluted saline soils.

Beca CONICYT Doctorado Nacional 21181489/2018 (CM) Proyecto FONDECYT 1151174 (MS) Proyecto Anillo GAMBIO ACT172128 (MS, VM)

MI128

Enhanced L-asparaginase production by *Fusarium sp.* from the Brazilian Cerrado soil

Freitas Marcela Medeiros¹, Souza Paula Monteiro¹, Cardoso Samuel Leite¹, Edivaldo Ximenes², Adalberto Pessoa Jr³, Magalhães Pérola Oliveira¹. ⁽¹⁾ Department of Pharmacy, Health Sciences School, University of Brasília, Brasília, BR. ⁽²⁾ Department of Cellular Biology, University of Brasília, Brasília, BR. ⁽³⁾ Department of Pharmacy, University of São Paulo, São Paulo, BR.

L-asparaginase (EC.3.5.1.1; L-asparagine aminohydrolase) is an enzyme used for treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) in children. It catalyzes the deamination of L-asparagine to L-aspartate and ammonia. Neoplastic cells cannot synthesize L-asparagine unlike normal cells due to the absence of L-asparagine synthetase; therefore they obtain the required asparagine from circulating pools. It is important to find new sources of L-asparaginase producing microorganisms that can avoid adverse effects obtained from bacterial L-asparaginase such as anaphylactoid reactions. Screening and selection of the optimum concentration of the medium component are very important to determine the overall economic feasibility of the production process. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the variables that influence L-asparaginase activity by a fungus isolated from the Cerrado soil using Plackett-Burman Design (PBD). Twelve variables such as L-proline, L-asparagine, urea, sodium nitrate, ammonium sulfate, peptone, yeast extract, glucose, sucrose, malt extract, temperature and inoculum size were considered to evaluate their effect on L-asparaginase activity by *Fusarium sp.* The different variables were assayed in two concentration levels, (-1) low level and (+1) high level. PBD was determined by Protimiza software with sixteen experiments and three central points, a total of nineteen runs. Submerged fermentation was carried out in 250 mL Erlenmeyer flasks with 50mL modified Czapek-Dox medium prepared based on PBD and kept in a temperature controlled shaker for four days at 120 rpm and 30°C. L-asparaginase was extracted from the mycelia and the enzyme activity assayed by measuring the amount of aspartate hydroxamate produced from asparagine and hydroxylamine according to Drainas et al. (1977) [1]. PBD results on L-asparaginase activity ranged from 0.10 U/mL to 4.66 U/mL. Highest enzyme activity was obtained in a medium without urea, sodium nitrate, yeast extract and sucrose. L-asparagine, peptone, glucose, malt extract, temperature and inoculum size had positive effect, which represent an increase in L-asparaginase activity due to the increase of the variables. This study showed that the screening of culture medium variables using PBD increased L-asparaginase activity by *Fusarium* species from the Cerrado. Future studies are being conducted to optimize the culture medium for enhanced L-asparaginase production using Response Surface Methodology.

CAPES, CNPq, FAPDF

MI129

Anti-candida action of the methanolic extract of the branches of *Euphorbia tirucalli* Linneau

Maia Sandra Cristina¹, Coelho Eduardo Silva², Camapum Neto Agnelo Menezes², Pinheiro Yassadora Tércila Coimbra², Costa Monica Maria Rêgo², Rosa Fernanda Costa², Câmara Marcos Bispo P.³, Rocha Claudia Quintino⁴, Carvalho Georgiana Eurides Marques De⁵, Moraes Francielle Costa². ⁽¹⁾ Laboratório de Parasitologia e Microbiologia, Enfermagem, Faculdade Estácio São Luis, São Luis - MA, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Parasitologia e Microbiologia, Biomedicina, Faculdade Estácio de Sá, São Luis - MA, BR. ⁽³⁾ Departamento de Análises Clínicas, Química, Instituto Federal do Maranhão, São Luis - MA, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Química, Química, Universidade Federal do Maranhão, São Luis - MA, BR. ⁽⁵⁾ Departamento de Análises Clínicas, Química, Universidade Federal do Maranhão, São Luis - MA, BR.

In recent years, the incidence of fungal infections has increased dramatically. Among the yeast species, the genus *Candida* is known for its pathogenicity and resistance to antifungal drugs. In doing so, many researches have been carried out with emphasizing the discovery of new natural products possessing anti-*Candida* activity. Therefore, the objective of the present study was to verify the anti-*Candida* action of the methanolic extract of the branches of *Euphorbia tirucalli* Linneau. The anti-*Candida* activity assays were carried out using the agar diffusion technique and microdilution in broth, with the following species: *Candida albicans* (ATCC 14053), *Candida krusei* (ATCC 6258) and *Candida parapsilosis* (ATCC 22019). For the positive control, it was used Fluconazole 64 µg/mL. In the microdilution, TTC (triphenyltetrazolium chloride) was added after the incubation to verify yeast growth in order to verify the MIC (minimum inhibitory concentration) and then investigate the MFC (minimum fungicidal concentration). The results showed in the agar diffusion technique the formation of inhibition halos, presenting the following diameters: 12.3 mm, 11.95 mm and 8.61 mm respectively for *Candida albicans*, *Candida krusei* and *Candida parapsilosis*. In the microdilution, the MIC of 3.16 µg/mL was verified for both *Candida parapsilosis* and *Candida albicans* whose MFC was the same, showing the most sensitive species against methanolic extract of the branches of *Euphorbia tirucalli* Linneau. However, for *Candida parapsilosis*, the highest FCM=28.95 µg/mL was observed. Before the *Candida krusei* it was obtained MIC=7.23 µg/mL and MFC=14.47 µg/mL. It's concluded that the methanolic extract of the branches of *Euphorbia tirucalli* Linneau showed a good anti-*Candida* action, suggesting that the plant species in question may have some bioactive compound capable of inhibiting the growth of yeasts.

MI130

Genes marcadores de metabolismos microbianos validados a nivel industrial en un sistema de biolixiviación

Sabrina Marin¹, Daniela Rios¹, Cecilia Demergasso¹. ⁽¹⁾ Centro de Biotecnología Profesor Alberto Ruiz, Universidad Católica Del Norte, Antofagasta, CL.

La biolixiviación es un proceso conocido y ampliamente descrito y aplicado para la obtención de metales de interés desde minerales sulfurados. Se basa en la actividad de un consorcio microbiano que genera el agente lixivante a partir de la oxidación de Fe^{2+} y compuestos reducidos de S^0 . En este proceso participan variadas especies con diferentes requerimientos de nutrientes, de oxígeno y de CO_2 , y distintos grados de tolerancia a la temperatura, a la acidez y a impurezas, entre otros factores operacionales. La actividad microbiana es un factor crítico para la recuperación de los metales de interés. El objetivo del presente estudio fue identificar marcadores genéticos asociados a tres metabolismos claves de dos especies de microorganismos predominantes en estos procesos, y utilizarlos para evaluar dicho estado metabólico en un sistema industrial. Los marcadores fueron identificados y validados en experiencias de columnas controladas de biolixiviación mediante análisis de expresión relativa (RT-qPCR) de genes asociados a la cadena transportadora de electrones (citocromo oxidasa terminal) y a la respuesta al estrés osmótico (vía de la Trehalosa) en *Leptospirillum ferriphilum* (LII), y a la fijación de CO_2 (ciclo de Calvin-Benson-Bassham) en *Acidithiobacillus thiooxidans* (ATT). Se comprobó la eficiencia y la especificidad de las reacciones de RT-qPCR y se validaron los genes normalizadores. Diez de los 17 genes estudiados (LII-*cydA*, LII-*cydB*; LII-*treZ*, LII-*treY*, LII-*lamB*; ATT-*rbcl1*, ATT-*rbcl2*, ATT-*csoS2*, ATT-*csoS3*, ATT-*csoS4*) presentaron perfiles de transcripción (sobre o sub-expresión) consistentemente asociados a los diferentes niveles de oxígeno, CO_2 y SO_4^{2-} analizados en las columnas. Posteriormente, se evaluó la expresión relativa de estos genes en distintas franjas de una pila de biolixiviación industrial, que presentaban diferentes condiciones de aireación y de niveles de impurezas (SO_4^{2-}). Los diez genes mantuvieron la dinámica de transcripción observada en las columnas, validando su condición de marcadores de los respectivos metabolismos. En todos los casos, la amplificación de los genes seleccionados fue altamente específica, repetible y suficientemente sensible para detectar los transcritos de interés en las muestras industriales. Los marcadores transcripcionales validados a nivel industrial pueden utilizarse para evaluar el ambiente interno de las pilas y tomar decisiones tempranas que permitan mejorar la operación.

Proyecto FONDEF IT16M10045

MI131

Biossíntese de nanopartículas de prata com sobrenadante de cultura de *Bacillus licheniformis*

Marins Mikaely Sousa^{2,1}, Corrêa Ricardo Augusto M.¹, Marriel Ivanildo Evódio², Oliveira Christiane Abreu De².

⁽¹⁾ Biotecnologia, Faculdade Ciências da Vida, SETE LAGOAS, BR. ⁽²⁾ Microbiologia e Bioquímica do Solo, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Milho e Sorgo, Sete Lagoas, BR.

Background: O interesse industrial pelo desenvolvimento de sistemas biológicos para síntese de nanomateriais expandiu devido ao avanço da tecnologia, a possibilidade de processos rentáveis e por não gerar resíduos tóxicos ao ambiente. Dentre as metodologias propostas, a utilização de microrganismos apresenta privilégios como facilidade de escalonamento da produção, e sistemas de foto catálise possibilitam acelerar a atividade reacional. O processo envolve várias enzimas, sendo a nitrato redutase a mais destacada na produção de nanopartículas de prata (AgNPs). Organismos do gênero *Bacillus* são amplamente destacados como produtores de nitrato redutase. Neste trabalho objetivou-se biossintetizar AgNPs através do sobrenadante da cultura de uma cepa de *Bacillus licheniformis* e promover foto indução da síntese utilizando luz solar. **Methods:** O microrganismo foi crescido em meio NB por 24h a temperatura ambiente com agitação constante de 120 rpm. Posteriormente a cultura foi centrifugada a 8000 rpm por 10 min e o sobrenadante utilizado para preparar soluções contendo 5% de sobrenadante da cultura e concentração final de nitrato de prata de 1mM que foram incubadas por 24h na presença de luz solar direta e no escuro, uma solução controle sem nitrato de prata foi submetida ao mesmo procedimento. Subsequentemente alíquotas foram submetidas a caracterização por espectrofotometria UV-vis. **Results:** As amostras submetidas a exposição de luz solar apresentaram alteração da coloração de amarelo claro para marrom escuro, as amostras incubadas no escuro e a solução controle não apresentaram alteração. A espectrofotometria confirmou a síntese nas amostras expostas a luz solar com absorção de ressonância plasmônica de superfície na faixa de 430 nm com densidade óptica de 3,5, entretanto as amostras incubadas no escuro não demonstraram síntese, assim como a solução controle. **Conclusion:** Através dos dados apresentados, conclui-se que o sobrenadante de cultura de *Bacillus licheniformis* é eficaz na biorredução da prata e que a presença de luz induz o processo. O processo representa uma alternativa biotecnológica viável em substituir processos químicos e o produto pode ser aplicado como agente antimicrobiano, em sistemas de biossensores e catálise.

CNPQq; FAPEMIG; FACULDADE CIÊNCIAS DA VIDA; EMBRAPA - MILHO E SORGO;

MI132

Efeito de óleos residuais de frituras e milhocina sobre a produção de quitina e quitosana por *Rhizopus arrhizus* isolado de solo do Bioma Caatinga (Brasil)

Galindo Hugo Marques¹, Franco Luciana Oliveira², Santos Isabella Beatriz Marinho¹, De Araujo Eduardo Marques¹, De Lira Diana Duarte¹, De Santana Raphael Carlos Ferrer¹, De Oliveira Thales Henrique Barbosa¹, De Melo Erik Jonne Vieira¹, Da Silva Pérsio Alexandre³, Da Silva Leonor Alves De O¹, De Gusmão Norma Buarque¹. ⁽¹⁾ Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, RECIFE, BR. ⁽²⁾ Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, RECIFE, BR. ⁽³⁾ Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, RECIFE, BR.

Substratos alternativos, renováveis e de baixo custo podem ser utilizados como fontes nutricionais para crescimento de fungos e produção de compostos de interesse biotecnológico. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de resíduos industriais como fonte alternativa de nutrientes para a produção de biomassa, quitina e quitosana por *Rhizopus arrhizus* URM 7651 isolado de solo do Bioma Caatinga (Brasil). Os cultivos foram realizados através de fermentação submersa, na condição estática durante 96 horas a 28°C. Um planejamento fatorial completo 2³, composto por 8 ensaios, com 4 pontos centrais, foi realizado para avaliar os efeitos e interações das variáveis independentes: óleo residual 1 (óleo residual bruto de fritura obtido de estabelecimentos comerciais); óleo residual 2 (Emulsão oleosa obtida da lavagem dos coletores de óleo residual de fritura) e milhocina (obtido do beneficiamento do milho), sobre os rendimentos de biomassa, quitina e quitosana, bem como selecionar a melhor condição para a produção satisfatória. Os resultados obtidos evidenciaram uma produção máxima de biomassa de 12,05 g/L, em ensaio contendo 5% de óleo residual 1, 5% de milhocina e 1% de óleo residual 2. As maiores produções de quitina 217,71 mg/g e quitosana 206,54 mg/g foram obtidas nas concentrações de 1% de óleo residual 1, 5% de milhocina e 1% de óleo residual 2. De acordo com o diagrama de pareto, o aumento da concentração de milhocina e óleo residual 1 favoreceu um maior rendimento de biomassa, quitina e quitosana, tendo influência positiva na produção. A interação desses dois resíduos mostrou-se estatisticamente significativa, tendo efeito sinérgico. O óleo residual 2 teve influência negativa, onde sua menor concentração favoreceu a produção de ambas as três variáveis resposta. A interação do óleo residual 2 com os demais resíduos foi significativa, porém antagônica. Este estudo demonstrou que milhocina e óleo residual 1 são eficientes na produção de quitina e quitosana por *Rhizopus arrhizus*, sugerindo uma otimização das condições de cultivo em meio com maiores concentrações dos dois resíduos.

MI133

Preliminary screening and characterization of antagonistic actinobacteria against *Fusarium verticillioides* isolated from the Cerrado in central region of Brazil

Marriel Ivanildo Evódio¹, Mendonça Laís Barbosa Prazeres², Camilo Gonçalves Bianca³, Gomes Maria Rita Francielle⁴, Melo Izabelle Gonçalves⁵, Leal Vivienne Sousa⁶, Lana Ubiraci Gomes De Paula⁷, Dornelas João Carlos Maia⁸, Ribeiro Vitória Palhares⁵, Oliveira Christiane Abreu De¹. ⁽¹⁾ Microbiology and Soil Biochemistry, Nucleus of Water, Soil and Environmental Sustainability, BRAZILIAN AGRICULTURAL RESEARCH COMPANY, Sete Lagoas, BR. ⁽²⁾ Phytopathology Laboratory, Federal University of Viçosa, Viçosa, BR. ⁽³⁾ Academic Unit of Teaching of Management Sciences, University Center of Sete Lagoas, Sete Lagoas, BR. ⁽⁴⁾ laboratory of microbiology and soil biochemistry, Federal University of São João del rei, Sete Lagoas, BR. ⁽⁵⁾ Graduate Program in Bioengineering, Federal University of São João del rei, São João Del rei, BR. ⁽⁶⁾ Academic unit of Philosophy, Sciences and Letters, University Center of Sete Lagoas, Sete Lagoas, BR. ⁽⁷⁾ Nucleus of Applied Biology, BRAZILIAN AGRICULTURAL RESEARCH COMPANY, Sete Lagoas, BR. ⁽⁸⁾ Postgraduate Program in Microbiology, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, BR.

The fungi belonging to the *genus Fusarium* are well-known plant pathogens. These microorganisms cause significant losses of grain yield and quality in several agriculturally important crops in the Brazil, beyond its deleterious impacts on human and animal health. In this study, it was sought to select and characterize strains of efficient actinobacteria for the biocontrol of *Fusarium verticillioides*, *in vitro*. A total of 246 isolates of the actinobacteria from the Collection of Multifunctional Microorganisms of Embrapa Maize and Sorghum was used. These isolates, obtained from the samples collected under different systems of management and use of the cerrado soil, were screened for their antagonistic activity against *F. verticillioides* using primary screening techniques based on the percent inhibition of radial growth after 8 days, in three steps: (i) initially, groups of six actinobacterial isolates were spot-inoculated at equidistant points around the edges of three PDA plates containing a centrally placed 8 mm mycelial agar disc of *F. verticillioides* 27 isolate, (ii) only 20% exhibited antifungal activity and were tested again against two fungi isolates (*F. verticillioides* 27 and 43). Groups of four actinobacterial isolates were spot-inoculated at equidistant points around the edges of three PDA plates containing a mycelial agar disc and, (iii) only 12% selected isolates with antagonist activity above 50% of inhibition were reassessed against five *Fusarium* isolates (*F. verticillioides* 12, 27, 37, 43 e 295). In this, case, each actinobacterial isolate was spot-inoculated at three equidistant points around the edges of three PDA plates containing a mycelial disc. It was noted that the degree of inhibition of radial growth of the fungus depends on the genotype of the actinobacteria and phytopathogen. The selected actinobacterial strains with high antagonist activity were characterized and identified as *Streptomyces* sp. The results of this study revealed that actinomycetes from cerrado soil present potential for formulation of bioproducts to control *Fusarium verticillioides*, as an environmentally friendly and appropriate technological strategy to mitigate costs and losses of agricultural profitability.

Brazilian Company of Agricultural Research - Maize and Sorghum, FAPEMIG, CNPq, Federal University of São João del Rei Federal University of Minas Gerais.

MI134

Evaluation of enzyme ability increasing the efficiency of cleaning agents in the removal of bacterial biofilm

Bresciani Thiely Martins¹, Garcia Marina Rodrigues¹, Derami Mariana Silveira¹, Hiroshi Aoyama², Leite Domingos Silva¹, Miranda Márcio André³. ⁽¹⁾ Genética, Evolução e Bioagentes, Instituto de Biologia, UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, BR. ⁽²⁾ Bioquímica e Biologia Tecidual, Instituto de Biologia, UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, BR. ⁽³⁾ Bioquímica, IFSP - Instituto Federal de São Paulo, Campinas, BR.

Removal of bacterial particles and biofilms from dental-medical-hospital devices is a major challenge for infections and costs for the health care system. It is important to develop effective cleaning products in order to remove the microbial load from these devices. The addition of enzymes to the detergent has a beneficial effect on the removal of biofilm. Since the cleaning agents have different efficiency depending on the biofilm, and enzymes evaluated, this study aimed to evaluate the removal of the bacterial biofilm. *Escherichia coli* ATCC 35218 grown on BHI medium, for 24h at 37°C, using two serine proteases (E1 and E2), at concentrations of 0.5% to 5.0%, diluted in base detergent 1x, at action times of 0.5h and 2h, at room temperature. SDS 0.25% and NaCl 0.9% were used as positive and negative controls, respectively. Crystal violet and tetrazolium salt were used to detect the residual biomass and the cell viability, respectively. It was observed that E1 and E2 removed 35% and 50% of the biomass, promoting 65% and 80% of cell death, respectively. Diluting the base detergent by 5x and 10x, E1 promoted 50% and 65% of biomass removal and 80% and 95% of cell death, respectively. At the same conditions, E2 didn't present any change in biomass removal but promoted 95% of cell death. Mixed E1 and E2 removed 86.5% of biomass, independently of the time and enzymes concentrations, and a cell death of 94.7% occurred in 2h. Our results indicate that the protease E2 has a higher efficiency in the removal of biofilm and in the cell death. The increased efficiency of the protease E1, after the detergent dilution, might be due to the reduction of the concentration of the inhibitor sodium formate, present in the base detergent. In conclusion, combined enzymes (E1+E2) results showed an increased biomass removal when compared with the individual results (E1/E2), regardless the concentrations, in the shortest exposure time evaluated.

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. LabNews

MI135

***In silico* determination of the mechanism of inhibition on key enzymes of acetone-butanol-ethanol fermentation by compounds generated in biomass pretreatment**

Silvia Mau¹, Constanza Cardenas², Julián Quintero¹, Juan Carlos Gentina¹, Germán Aroca¹. ⁽¹⁾ Escuela de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Núcleo Biotecnología Curauma, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL.

Biobutanol, produced by several species of the genus *Clostridium*, has been proposed as an alternative renewable biofuel. Lignocellulosic biomass could be used as raw material for increasing the sustainability of the process. However, it must be pretreated and some fractions can be converted to inhibitory compounds that have an effect on key enzymes of the acetone-butanol-ethanol (ABE) fermentation. There is not much information about the mechanism of inhibition on the enzymes involved. The aim of this study was to elucidate the possible mechanism of inhibition on ABE fermentation in *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 by an *in-silico* approach. The prediction of 3D enzyme structure was performed using sequences obtained from GeneBank. For homology modeling, BLAST was run to find the best template. The best model obtained was docked with their ligand, cofactor (NADH) and inhibitors: formic acid, levulinic acid, furfural, hydroxymethylfurfural (HMF), syringaldehyde and vanillin. The possible binding site of the inhibitors were analyzed to determine the effect on the enzymatic activity. The individual effect of the inhibitory compounds was also experimentally determined by assessing the biomass growth and metabolites production in P2 medium supplemented with each inhibitory compound. Molecular docking showed the interaction of the inhibitors with some enzymes. For 3-OH-butyryl-CoA-dehydrogenase inhibitors interacted close to the active site of the natural ligand (Asn221 and Asn141). On the other hand, inhibitors interacted close to the cofactor binding site at butanol dehydrogenase (Asn71 and Gln187) and butyryl-CoA dehydrogenase (Lys244). Finally, for the enzyme Co-A transferase they interacted close to the Coenzyme-A binding site (Thr92 and Gly98). Experimental results showed that for some inhibitors there was a significant increase in the concentration of butyric and acetic acid, indicating an inhibition of the re-assimilation of acids. There was also a decrease in the biomass growth (up to 50% less cells for syringaldehyde and vanillin) and the production of butanol (15-36%). The evidence provided by molecular docking, which shows the possible union of inhibitors to enzymes, and the accumulation of butyric and acetic acid, as well as the decrease in the butanol production, suggested that these inhibitors could establish a mechanism of competitive inhibition with the enzymes related to solventogenesis.

MI136

Solid-state fermentation with white-rot fungi as an efficient strategy for the bioremediation of the binary mixture of synthetic dyes brilliant blue - allura red

Felipe Mejía¹, Carolina Velásquez¹, Andrés Merino¹, Angelina Hormaza¹. ⁽¹⁾ Escuela de Química, Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, CO.

The pollution of water resources with synthetic dyes is a serious environmental problem and the lack of policies for a rigorous control on the effluents discharging has increased this issue. Additionally, these synthetic molecules have health-damaging characteristics and could affect the photosynthetic process, and in this way the natural development of the ecosystem. Several methodologies have been proposed to solve this alteration, among which the bioremediation using white rot fungi (WRF) has been of relevance. The objective of the present study was to carry out an initial evaluation of the bioremediation of the brilliant blue FCF and allura red AC dye mixture by means of two biological alternatives, solid-state fermentation (SSF) and submerged fermentation (SmF). First, a qualitative screening was performed on PDA agar with the dye mixture and inoculated with the species *Irpex lacteus* and *Phanerochaete chrysosporium*. Subsequently, the degradation percentage was measured for both SSF and SmF, with the WRF that presented qualitatively greater degradation. The WRF with the highest qualitative decolourization was *I. lacteus*, given that at day 16 it showed a decolourization halo of the complete Petri dish; whereas *P. chrysosporium* did not exhibit evident levels of decolourization at the end of the process. By comparing the degradation of the binary mixture of dyes with the two biological processes, a remarkable difference was obtained, since the degradation percentage was $64.4 \pm 12.9\%$ and $8.6 \pm 1.9\%$ for SSF and SmF, respectively. This result is attributed to the fact that the SSF recreates the environment and the natural conditions of the microorganism, in terms of the low humidity (75%) of the process and the use of a lignocellulosic by-product such as corncob as a support and source of nutrients, which leads to the enhancement of the production of the enzymes required for the bioremediation process of the dye mixture. Based on the above, it is concluded that the SSF with the enzymatic machinery of the WRF represents an efficient, economical and clean biological alternative for the bioremediation of synthetic dyes and for the scaling-up of the process further studies are required.

The authors acknowledge “Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia- Sede Medellín” and COLCIENCIAS for the financial support of the project code 111871250685.

MI137

Engineering the GH1 β -glucosidase from *Humicola insolens*: insights on the stimulation of activity by glucose and xylose

Luana Parras Meleiro¹, José Carlos Santos Salgado¹, Raquel Fonseca Maldonado², Sibeli Carli¹, Richard John Ward¹, João Atilio Jorge³, Rosa Prazeres Melo Furriel¹. ⁽¹⁾ Química, FFCLRP-USP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, BR. ⁽²⁾ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, São José dos Campos, BR. ⁽³⁾ Biologia, FFCLRP-USP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, BR.

The activity of the GH1 β -glucosidase from *Humicola insolens* (Bglhi) against *p*-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside (*p*NP-Glc) and cellobiose is enhanced 2-fold by glucose and/or xylose. Kinetic and transglycosylation data showed that hydrolysis is preferred in the absence of monosaccharides. Stimulation involves allosteric interactions, increased transglycosylation and competition of the substrate and monosaccharides for the -1 glycone and the +1/+2 aglycone binding sites. Protein directed evolution has been used to generate 6 mutants of Bglhi with altered stimulation patterns. All mutants contain one of three substitutions (N235S, D237V or H307Y) clustered around the +1/+2 aglycone binding sites. Two mutants with the H307Y substitution preferentially followed the transglycosylation route in the absence of xylose or glucose. The strong stimulation of their *p*NP-glucosidase and cellobiase activities was accompanied by increased transglycosylation and higher monosaccharide tolerance. The D237V mutation favoured hydrolysis over transglycosylation and the *p*NP-glucosidase activity, but not the cellobiase activity, was stimulated by xylose. The substitution N235S abolished the preference for hydrolysis or transglycosylation; the cellobiase, but not the *p*NP-glucosidase activity of the mutants was strongly inhibited by xylose. Both the D237V and N235S mutations lowered tolerance to the monosaccharides. These results provide evidence that the fine modulation of the activity of Bglhi and mutants by glucose and/or xylose is regulated by the relative affinities of the glycone and aglycone binding sites for the substrate and the free monosaccharides.

FAPESP, CNPq, CAPES

MI138

Biofilm formation in *Acidiferrobacter sp* SPIII/3: A bioinformatics and epifluorescence microscopy study

Cristobal Mena¹, Ana Moya-Beltrán², Francisco Issotta², Matías Castro², Raquel Quatrini², Mario Vera^{1,3}. ⁽¹⁾ Instituto de Ingeniería Biológica y Médica, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. ⁽²⁾ Laboratorio de Ecofisiología Microbiana, Fundación Ciencia y Vida, Santiago, CL. ⁽³⁾ Departamento de Ingeniería Hidráulica y Ambiental, Escuela de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

The study of extreme acidophilic microorganisms is relevant for its increasing use in bioleaching, an ecologically friendly alternative to traditional mining, and in mining waters remediation. Both processes are heavily reliant on the formation of biofilms, the communication between cells and the interactions between minerals and microbes, all of which are only beginning to be addressed in acidophiles. The genus *Acidiferrobacter* comprises extremely-acidophilic iron and sulfur oxidizing bacteria and possess at the moment just one validated species, *Acidiferrobacter thiooxydans* DSM 2392^T. The role of the *Acidiferrobacter* in these social behaviors is still unexplored. In this work, we have studied the capabilities of biofilm formation of a new strain and proposed species of *Acidiferrobacter sp.* SPIII/3 by different strategies. Using publically available genomic information, genes and gene clusters encoding quorum sensing and biofilm formation related functions were predicted and the cognate responses, reconstructed. To explore the mineral colonization patterns of different *Acidiferrobacter* strains on pyrite colonization experiments were monitored by epifluorescence microscopy (EFM) and planktonic cell count variations. To assess the potential of *Acidiferrobacter sp.* SP3/III strain for bioleaching, we also performed leaching experiments with SPIII/3 axenic cultures, or mixed cultures of SPIII/3 with *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270^T or *Leptospirillum ferrooxidans* DSM 2705. Total iron and pH were measured for three weeks. Preliminary results on the bioinformatic analysis have shown that *Acidiferrobacter sp.* SPIII/3 possess a complete set of genes for synthesis of the *pel* exopolysaccharide (EPS) and for the construction of molecular mechanism/circuits involved in the regulation of biofilm development, such as c-di-GMP pathway and Quorum Sensing (QS) system, among other interesting features. Although little difference on planktonic cell counts or the total iron leached from pyrite was appreciated on axenic or mixed cultures, clear differences in the colonization patterns were found depending of the mixtures of species used. Relevant variations in distribution, grouping and preference for settling on mineral imperfections and crevices are presented and discussed. This study provides first insights on the early stages of colonization and leaching by *Acidiferrobacter spp.*, that may lead to a better understanding of their role in bioleaching consortia.

FONDECYT 1161007 and 1181251 and AFB 170004; CONICYT scholarships 21171049 and 21160871

MI139

Construção de bibliotecas de BACs de duas linhagens do gênero *Trichoderma*

Juliano Mendes¹. ⁽¹⁾ Ciências Biológicas, CBMEG, Universidade Estadual de Campinas.

Bibliotecas de BACs são constituídas por clones que carregam grandes insertos de DNA, sendo esta uma ferramenta de grande valor para uma grande quantidade de estudos biotecnológicos. Fungos do gênero *Trichoderma* secretam grandes quantidades de enzimas celulolíticas ativas, as quais podem compreender importantes potenciais biotecnológicos, como a produção de bioetanol de segunda geração. Neste trabalho foram construídas duas bibliotecas de BACs de duas linhagens de *T. harzianum* (CBMAI 0179 e CBMAI 0020). O procedimento de montagem da biblioteca foi feito de acordo com o protocolo estabelecido por Peterson et al., (2000). Os fragmentos foram clonados em vetor pAGIBAC 25ng/μL, dos quais foram selecionados 5.760 clones que foram repicados e distribuídos em quinze placas de 384 poços. O *screening* foi inicialmente realizado através de *pools* de placas e de colunas, onde foram realizadas ampliações por RT-PCR de 45 genes alvo para cada linhagem estudada, ambos desenhados a partir de dados de transcriptoma. Para o sequenciamento de bibliotecas por SMRTbell™, foram utilizados procedimentos de acordo com o protocolo estabelecido por Pacific Biosciences (PacBio), e o sequenciamento foi realizado no Arizona Genomics Institute (AGI; Tucson, USA), utilizando o sistema de sequenciamento *Single Molecule, Real-Time* (SMRT) da PacBio.

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

MI140

Ingeniería metabólica en *Saccharomyces cerevisiae* para la producción de isobutanol

Gabriel Esteban Méndez¹. ⁽¹⁾ Ingeniería Química y Biotecnología, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile.

La producción de biocombustibles como fuente de energía alternativa a los combustibles fósiles busca presentar alternativas de obtención que sean renovables y amigable con el ambiente. Dentro de estos biocombustibles surgen los alcoholes de fusel, como el butanol, el cual al ser comparado con el etanol, presenta ventajas en su uso como combustible. Por otro lado, *S. cerevisiae* es una levadura que posee la ruta de síntesis de isobutanol, alta resistencia a alcoholes y condiciones favorables para el escalamiento y producción, estas características lo hacen un objetivo de estudio para la obtención de butanol, sin embargo una de las limitantes de este proceso, es la baja producción de este alcohol de forma natural, por lo que existe un gran interés en lograr un aumento de esta. Este trabajo busca obtener, mediante ingeniería metabólica en *S. cerevisiae*, cepas sobre productoras de isobutanol. Para esto se utilizará la ruta de Erlich, la cual se realiza dentro de la mitocondria exceptuando por las dos últimas reacciones. Se seleccionaron las enzimas que catalizan estas dos reacciones, alcohol deshidrogenasa y α -cetoisovalerato deshidrogenasa (SkARO10) provenientes de *L. lactis* y *S. kudriavzevii* respectivamente y mediante el péptido señal de citocromo C oxidasa se destinaron a mitocondria. Utilizando Gibson Assembly se ensamblaron estos genes a promotores y terminadores nativos de *S. cerevisiae*. La transformación se realizó por recombinación homóloga *in vivo* mediante electroporación con el fin de obtener transformantes estables. La integración del constructo de interés se realiza en el cromosoma V en el gen *ura3*. La medición de la producción de alcoholes se realizó mediante HPLC. De este trabajo se obtuvieron finalmente cepas transformadas con el gen *skaro10* de *S. kudriavzevii* con una producción de isobutanol de 19 mg/L, logrando de esta manera observar que la transformación con la enzima α -cetoisovalerato deshidrogenasa con destinación mitocondrial logra incrementar la producción de butanol al doble. Adicionalmente, para incrementar aún más la producción es necesario integrar una enzima del tipo alcohol deshidrogenasa (ADH) específica para isobutiraldehído y así también utilizar una cepa industrial con producción basal de isobutanol mayor a *S. cerevisiae* s288c.

CONICYT PAI N° 781413012 y PIA FB-0001

MI141

Estudio de la producción de metabolitos intermediarios durante la degradación de fenantreno en dos cepas de *Sphingobium* sp

Martina Granada², Sabrina Festa², Marianela Macchi², Bibiana Coppotelli², **Morelli Irma Susana Irma** ^{1,2}. ⁽¹⁾ CIC-PBA, Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires. ⁽²⁾ CINDEFI (CONICET-UNLP), Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata.

La biodegradación microbiológica de los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH) puede resultar en la acumulación de metabolitos *dead-end*, posiblemente más tóxicos que la molécula inicial. El cometabolismo de PAH, transformación colateral de un cosustrato en presencia obligada de un sustrato, es crucial en el ambiente. Los objetivos de este trabajo fueron incursionar en el estudio del perfil de intermediarios de degradación de fenantreno en cultivos de cepas puras y estudiar el cometabolismo de pireno en una cepa degradadora de fenantreno. Se comparó, utilizando *resting cells*, a distintos tiempos durante 48 hs de incubación la acumulación de metabolitos intermediarios de fenantreno en las cepas *Sphingobium* sp. AM y *Sphingobium* sp. 20006FA. Las secuencias de sus genomas (Illumina HiSeq1500), se compararon, obteniéndose un diagrama circular con alto porcentaje de identidad de secuencia proteica (RAST-BLASTp) y 99% de similitud (NCBI), aunque presentaron distinta cinética de degradación de fenantreno. Determinado el mayor tiempo de acumulación, se realizaron extracciones químicas (HPLC-UV) que se compararon con un control abiótico a cada tiempo. El cometabolismo del pireno en la cepa *Sphingobium* sp. AM se estudió mediante *resting cells* en buffer fosfato Na-K 50 mM suplementado con pireno, incluyendo un control abiótico y un control células en crecimiento. Se realizaron extracciones químicas (GC-FID). Los cromatogramas obtenidos de ambas cepas resultaron diferentes a cada tiempo de incubación. La cepa AM mostró mayor acumulación de intermediarios a las 24 hs mientras que la cepa 20006FA lo hizo a las 46 hs. En los extractos orgánicos de ambas cepas se encontró ácido salicílico. Sin embargo, solamente en la cepa AM se evidenció ácido 1-hidroxi 2-naftoico (AHN). Ya que no se encontraron metabolitos del orto clivaje del AHN se podría suponer que, en este ensayo, ambas cepas degradaron AHN siguiendo la ruta del meta clivaje. Pese a que en cultivos de *resting cells* de la cepa AM se observó coloración, no se detectó degradación de pireno luego de 6 días de incubación. A pesar de la alta similitud de los genomas, la acumulación de metabolitos intermediarios fue diferente en ambas cepas, lo que podría ser consecuencia de una diferencia en la regulación enzimática.



MI142

Development of a ligand against Andes virus (*Hantaviridae*) and characterization of its inhibition mechanism

Nicolás Muena¹, Nicole Tischler¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Virología, Fundación Ciencia y Vida, Santiago, CL.

Andes virus (ANDV) belongs to the *Hantaviridae* family and can cause as other hantaviruses in America the hantavirus pulmonary syndrome (HPS) in humans with mortality rates up to 40%. In Chile the main host of the virus is the endemic rice rat (*Oligoryzomys longicaudatus*). To date, there are no treatments against HPS approved by the Food and Drug Administration (FDA). ANDV infects mainly pulmonary endothelial cells, a process mediated by the envelope glycoproteins of the virus, Gn and Gc. Cell entry occurs through binding to cellular receptors and subsequent uptake into endosomes. In these organelles, the decrease of the pH induces a conformational change in the viral glycoprotein Gc, that thereby induces fusion of the virus with the endosomal membranes, producing the release of the viral ribonucleocapsids into the host cell cytoplasm allowing for subsequent replication of the virus. Here, we developed ligands against the Gn and Gc glycoproteins of ANDV with the aim to block viral cell entry at a specific step. The ligands bound specifically to these glycoproteins in ELISA, indirect immunofluorescence and flow cytometry and also present cross-reactivity against glycoproteins of non-related hantaviruses. One of the ligands showed neutralizing activity against ANDV in infection assays *in vitro*. The binding site of the ligand, determined by peptide scanning, suggests that it binds to the fusion protein. When virus-cell and glycoprotein-mediated cell-cell fusion assays were performed, the ligand interfered in the fusion activity. Therefore we conclude that we identified a Gc ligand that blocks specifically the viral fusion process, likely arresting Gc in an intermediate conformation.

Proyecto FONDECYT 1140050, Proyecto FONDEF CA12 | 10367, Proyecto Basal PFB-16, Beca de Doctorado Nacional NM



MI143

Estudio comparativo de la fermentación de gránulos de kéfir de agua para su potencial uso en la producción de cultivos probióticos

Laura Muñoz¹, Gustavo Garay², Michael Seeger¹, Alejandra Urtubia², Beatriz Cámara¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química & Centro de Biotecnología DAL, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Bioreactores, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL.

Los gránulos de Kéfir de agua son un consorcio microbiano constituido por bacterias ácido-lácticas (BAL), bacterias ácido-acéticas (BAC), bifidobacterias (BIF) y levaduras (LEV), embebidas en una matriz exopolisacárida (dextranos de tipo α -1,6 polímero de glucosa), que transforman soluciones de sacarosa en alcoholes, ácidos orgánicos y ésteres. Este gránulo es considerado un probiótico debido a los microorganismos que contiene y a los beneficios que aporta a la salud. Dado que los probióticos están ampliamente relacionados con lácteos, este consorcio constituye una oportunidad de desarrollo de nuevos alimentos funcionales libres de lactosa. Las BIF y las BAL, son con preferencia usados por la industria alimentaria por su reconocimiento como seguros, por lo tanto, este gránulo puede ser útil para la obtención industrial de cepas y productos con carácter probiótico. El objetivo de este estudio es determinar el potencial fermentativo de gránulos provenientes de Chile y Colombia para su posible uso como cultivo iniciador en la producción de bebidas con capacidad probiótica. Experimentalmente, se obtuvieron 5 gránulos de kéfir de agua que fueron sometidos a fermentaciones de 500 mL, bajo anaerobiosis, a 30°C y agitación de 130 rpm, utilizando soluciones al 8% de azúcar no centrifugado y un inóculo del 8% en masa por 96 horas. Se evaluó contenido de etanol y azúcares totales por FTIR, acidez total equivalente en ácido láctico y peso húmedo de biomásas al finalizar las fermentaciones. Como resultado, los gránulos presentaron un aumento de biomasa que varía desde el 19 al 126%. En términos de acidez, se encontraron valores entre 7,67 a 9,96 g/L de ácido láctico, un consumo de azúcar entre el 62 a 73% y un rango de producción de etanol de 1,17 a 2,28 g/L. A partir de los resultados obtenidos, se pudo observar una heterogeneidad tanto en los indicadores de crecimiento como en formación de productos, interesantemente, los gránulos de origen chileno representaron los casos máximos y mínimos de los rangos obtenidos. Estos resultados son útiles para determinar los gránulos candidatos (WKGCOL3 y WKGCH2) para estudios cinéticos y metagenómicos posteriores que permitan el desarrollo de nuevos cultivos iniciadores para la industria de probióticos.

Beca CONICYT de doctorado 21160460, FONDECYT Regular N°1171555, proyecto Anillo ACT172128.



MI144

Simultaneous removal of arsenate and zinc using an acidophilic sulfate reducing bioreactor

Daniella González³, Sabrina Hedrich², Alex Schwarz¹, Camila Colipai³, **Ivan Nancuqueo**³. ⁽¹⁾ Ingeniería Civil, Universidad de Concepción, Concepción, CL. ⁽²⁾ Resource Geochemistry, Federal Institute for Geosciences and Natural Resources, Hannover, DE. ⁽³⁾ Facultad de Ingeniería y Tecnología, Universidad San Sebastián, Concepción, CL.

Mining can release high concentrations of arsenic by the oxidation of sulfide minerals. The application of acidophilic sulfate reducing bacteria (SRB) for the treatment of acidic mine-impacted waters can be an attractive alternative for removal arsenate in Chile, where high concentrations of this metalloid have particularly been found in the Azufre River. Precipitation of arsenate as sulfide mediated by acidophilic SRB has advantageous over chemical treatment including less waste production and lower lime and iron consumption. However, few successful applications using low-pH sulfidogenic reactors have been demonstrated for sulfate reduction and metal removal from acidic mine-impacted water. The main reason for this challenge is that SRB preferentially grow between pH 6 and 8. In this study, we have set up a low pH sulfidogenic biofilm reactor inoculated with a bacterial consortium obtained from an acidic, anaerobic sediment from the Azufre River. The sulfidogenic system was operated under continuous flow mode and maintained at pH 4.5. It was initially fed with an acidic (pH 2.1) synthetic mine water containing Zn and As (15 and 2 ppm respectively), based on the chemical composition of Azufre River. Since removal of Zn and As was achieved during the first 50 days of operation, the objective was to assess the performance of the bioreactor in the following 100 days by progressively increasing the arsenic concentration up to 50 ppm. The results showed that over 95% of As was removed from solution during this period, however the hydraulic retention times increased significantly from ~35 to 130 h. This phenomenon was closely coupled to the decreasing numbers (in about ~75%) in the upper liquid phase of the bioreactor. The composition of the microbial consortia throughout the experiment showed the presence of a known sulfidogenic bacterium (*Desulfosporosinus acididurans* strain USS-CCA2). This study demonstrated the feasibility of arsenic removal from an extremely acidic water by using a continuous bioreactor system.

FONDECYT # 11150170

MI145

β -glucosidase production by mutant strains *Trichoderma atroviride* 102C1 and *Trichoderma reesei* RUT-C30 using agro-industrial by-products

Lucas Ribeiro Cardoso¹, Oliveira Matheus Uchoa¹, **Rodrigo Pires Nascimento**². ⁽¹⁾ Engenharia Bioquímica, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Rio de Janeiro, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Members of the genus *Trichoderma* are cosmopolitan and prevalent components of different ecosystems, providing a wide repertoire for the selection of biocontrol agents of plant diseases, inducing systemic resistance, increasing nutrient availability and uptake, promotion of plant growth, improving crop yields and degrading xenobiotic pesticides by enzymes secretion. The majority of *Trichoderma* species are involved in decomposition of biopolymers such as cellulose, hemicelluloses and chitin. Several *Trichoderma* species have been used in different biotechnological applications, especially in enzymes production, as holocellulases (cellulases, b-glucosidases, xylanases, b-xylosidases). Holocellulases are very important enzymes complex for use on biorefinary to converse lignocellulosic biomass in fermentable sugars (C5 and C6). So, the present work aimed study the production of b-glucosidase (BGU) from mutant strain *Trichoderma atroviride* 102C1 using a minimal medium (pH 5.0) in the presence of agro-industrial by-products. The strain was inoculated in Erlenmeyers flasks (250 mL) containing 50 mL of distilled water supplemented with 3.0% (w/v) sugarcane bagasse *in natura*, sugarcane straw *in natura* and wheat bran in the presence or not of 0.3% (p/v) yeast extract. The flasks were incubated at 180 rpm for 3 and 6 days at 28°C and aliquots were collected and enzymatic assays was determined. The maximal b-glucosidase activity (72,867.28 U.L⁻¹) from mutant strain *T. reesei* RUT-C30 was observed when 3.0% (w/v) wheat bran + 0.3% (w/v) yeast extract was used, after 6 fermentation days. However, when *T. atroviride* 102C1 was used in the same fermentation condition, the b-glucosidase activity detected (88,594.03 U.L⁻¹) was 4x higher than that observed by *T. reesei* RUT-C30 (22,178.75 U.L⁻¹) after 3 days fermentation. The current results showed the great potential of mutant strain *T. atroviride* 102C1 to produce b-glucosidase activity using a minimal media composition in comparison to *T. reesei* RUT-C30. This very important characteristics to use on biotechnological applications.

CNPq, UFRJ

MI146

Heterobactin-like arsenic-binding siderophores produced by the arsenic tolerant actinobacterium *R. erythropolis* S43

Gerardo Enrique Retamal-Morales¹, Ringo Schwabe², Marika Menhert², Dirk Tischler³, Michael Schlömann², Gloria Levicán¹. ⁽¹⁾ Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. ⁽²⁾ Institute of Biosciences, Faculty of Chemistry and Physics, Technische Universität Bergakademie Freiberg, Freiberg, DE. ⁽³⁾ Microbial Biotechnology, Ruhr-Universität Bochum, Bochum, CL.

Arsenic is an ubiquitous metalloid on earth, however, it can become a pollutant due to industrial activities such as mining. This highly toxic metalloid has become an environmental issue in several countries including Chile and Germany, thus, low cost and environmentally friendly solutions are necessary nowadays. *Rhodococcus erythropolis* S43 is an arsenic-tolerant actinobacterium isolated from an arsenic contaminated soil in an old mining site, located close to Freiberg, Germany. This strain has shown to be able to produce siderophores when exposed to iron depleting conditions. Here, we explore the putative siderophore production pathway in *R. erythropolis* S43 and the arsenic binding capacity of these molecules. A bioinformatic search of siderophore production related genes was performed in the genome of the strain S43, showing the siderophore production cluster *htbABCDEFGHIJK*, previously described for heterobactin production. To induce siderophore production, the strain was cultured in iron depleted M9 media and tested using the colorimetric method CAS assay to evaluate iron chelating capacity of siderophores, and As-mCAS to test the arsenic-binding capacity. The obtained siderophore activity was expressed in concentration as μM equivalent of desferrioxamine B (DFOB). The metabolites produced by S43 showed iron and arsenic binding properties achieving a chelating activity equivalent to 160 μM of DFOB in the raw extract and about 10 mM of DFOB in a concentrated extract made in 80% methanol. This last extract was evaluated by HPLC showing only one absorbance peak at 11.8 min retention time, and was responsible of the iron and arsenic binding activity of the extract. These findings suggest that *R. erythropolis* S43 produces one type of heterobactin-like siderophore able to bind iron and arsenic. These results open a novel perspective to face the arsenic contamination problem, using the arsenic-binding capacity of bacterial siderophores.

FONDECYT 1170799 (GL), Beca Conycit (GRM), USACH (GRM)

MI147

Bioreducción de cromo de aguas residuales de curtiembres utilizando *Raoultella sp*

Patricia Landazuri¹, Nelsy Loango Chamorro², Beatriz Restrepo Cortés², Eliana Soto Rueda². ⁽¹⁾ Grupo de Investigaciones en Enfermedades Cardiovasculares y Metabólicas, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad del Quindío, Armenia, CO. ⁽²⁾ Grupo de Investigaciones en Ciencias Básicas y Educación, Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías, Universidad del Quindío, Armenia, CO.

El cromo hexavalente es un contaminante altamente tóxico y carcinogénico, incluso a bajas concentraciones y con grandes efectos negativos sobre un amplio espectro de la biota y en los seres humanos. La industria del cuero utiliza el cromo en la etapa de curtido de la piel, quedando incrustado en los desechos que luego son vertidos a un tanque de agua junto con una gran carga de materia orgánica en descomposición y demás desechos que se producen en las curtiembres. El propósito fue reducir cromo hexavalente a cromo trivalente utilizando la bacteria *Raoultella sp.* aislada a partir de una planta de tratamiento de aguas residuales de curtiembres. Se realizó un ensayo inicial en Erlenmeyer para determinar la capacidad de reducción de Cr^{6+} utilizando medio de cultivo BHI enriquecido con cromo a una concentración de 100 ppm y agua residual de curtiembres incubando en un shaker orbital a 150 rpm a 37°C, para determinar el crecimiento del microorganismo y el porcentaje de remoción de cromo. Los ensayos también se realizaron en biorreactor (winpact) a 500 rpm a 37°C con un pH de 7,0 y un volumen final de 3 L. Se llevó a cabo la determinación espectrofotométrica de Cr^{6+} y para cromo total se utilizó espectrofotometría de absorción atómica. El cromo trivalente se calculó por diferencia. La bacteria *Raoultella sp.* aislada demostró ser reductora de Cr^{6+} alcanzando el 100% de reducción de cromo en 30 horas utilizando Erlenmeyer, se obtuvo igual reducción de Cr^{6+} en biorreactor, disminuyendo el tiempo de reacción a 14 horas. Los porcentajes de reducción fueron obtenidos tanto en medio de cultivo como en las aguas residuales de curtiembres. Varios mecanismos de reducción de Cr^{6+} se han identificado en microorganismos y éstos incluyen la reducción por DT-diaforasa, aldehído oxidasa en el citoplasma celular, cromo reductasa y citocromo P450 en la membrana celular, así como nitrorreductasa, como lo indican algunos autores. La capacidad de reducción del Cr^{6+} , así como el crecimiento bacteriano en condiciones altas de este metal, permiten proponer a *Raoultella sp.* como microorganismos promisorio para la biorremediación de sitios contaminados con Cr^{6+} a escala real.

Agradecimientos: Sistema General de Regalías-Colombia. Gobernación del Quindío-Colombia; Universidad del Quindío. Empresas curtidoras de la María-Quindío

MI148

Degradação da celulose bacteriana em diferentes condições ambientais

Cercal Ana Paula¹, Silveira Marcia Lange¹, Pezzin Ana Paula², **Gern Regina Miranda**³, Schneider Andréa Lima¹.

⁽¹⁾ Engenharia Química, UNIVILLE, Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE, Joinville, BR. ⁽²⁾ Programa de Pós-graduação em Engenharia de Processos, UNIVILLE, Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE, Joinville, BR.

⁽³⁾ Programa de Pós-graduação em Saúde e Meio Ambiente, UNIVILLE, Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE, Joinville, BR.

A celulose pode ser sintetizada por um grande número de organismos, na maior parte plantas verdes, principalmente árvores e algodão, visto a maior disponibilidade, sendo denominada celulose vegetal (CV). Contudo, a celulose também pode ser encontrada em fungos, algas verdes ou sintetizada por algumas bactérias, esta última, classificada como celulose bacteriana. A utilização de bactérias nos processos industriais vem aumentando constantemente, de forma que a Celulose Bacteriana (CB) vem ganhando espaço em diversas áreas, desde a saúde até a biotecnologia. Embora CB tenha um grande potencial para diversas aplicações, o desenvolvimento de novos materiais implica em conhecer o impacto ambiental que este material pode causar. Em concordância com o exposto, esta pesquisa propõe avaliar o perfil de (bio)degradação da CB em diferentes condições ambientais e tempos de exposição. As membranas foram submetidas a (bio)degradação em ambiente estuarino, solo, intemperismo natural e câmara de envelhecimento acelerado. As amostras foram caracterizadas por análise visual, FTIR e TGA. Diante dos resultados obtidos, ficou evidente a importância dos microrganismos e da umidade no processo de biodegradação da CB condição encontrada no solo e ambiente estuarino. Em 05 dias e 15 dias as amostras estavam totalmente degradadas, respectivamente. As amostras submetidas ao intemperismo natural e câmara de envelhecimento acelerado, apesar de expostas aos fatores como vento, chuva e radiação estenderam sua degradação a 90 dias para o intemperismo natural enquanto não foi observada degradação propriamente dita.



MI149

Production of protease fibrinolytic by the *Aspergillus* genus from solid-state fermentation using coffee ground

Santos Steliane L.¹, Brandão Costa Romero M.¹, Porto Ana L.F.¹, Nascimento Cynthia O.¹, Herculano Polyana N.¹, Cavalcanti Maria T.H.¹. ⁽¹⁾ Animal Morphology and Physiology, Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE), Recife, BR.

Introduction. Thrombotic disorders are a consequence of the formation of a thrombus (composed mainly of fibrin), which obstructs the flow of blood, one of the main causes of cardiovascular diseases. The usual fibrinolytic agents available for medical applications are known for their side effects, making it necessary to search for novel fibrinolytic enzymes obtained from alternative sources. Coffee is one of the international agricultural products and is the second commodity traded in the world. Every year, the a big quantity of coffee waste is generated, this increase in production, have become a problem in contemporary society, especially for agro-industrial and food sectors. The removal of these by-products is an environmental concern, with the advent of biotechnology, attempts have been made globally to the potential use of agro-industrial waste as a substrate for production of various enzymes including the proteases fibrinolytic. **Objective.** To obtain the best production of proteases fibrinolytic by fungi of the *Aspergillus* genus using coffee ground as substrate. **Methods.** Three filamentous fungi of the genus *Aspergillus* (*A. carbonarius* URM 5012, *A. niger* URM 5741, *A. sydowii* URM 5860) were maintained in the PDA culture medium for sporulation during 7 days. After this period, the solid-state fermentation (SSF) was performed with coffee residues added by nutrient broth (7 mL spore suspension) and tannic acid at 30 °C for 120 h. The fibrinolytic activity was quantified by a spectrophotometric correlation of the crude extract potential of dissolution of fibrin. **Results.** Between the analyzed microorganisms the fungi *A. sydowii* was the best producer of proteases fibrinolytic with maximum activity of 35,983 U/mL, whilst the lower activity was found in the fungus *A. niger* with 13,033 U/mL. Through this screening of filamentous fungi of *Aspergillus* Genus it was possible to identify the best producer of the fibrinolytic protease enzyme with high potential for biotechnological applications. Subsequent experiments should be performed in order to optimize production and purification of the crude extracts using the microorganism *A. sydowii* URM 5860.

FACEPE, Capes, CNPQ.

MI150

Biorremediação de amostras de aquífero contaminado com creosoto por meio das técnicas de bioestimulação e bioaumentação com consórcio de bactérias degradadoras para futura utilização *in situ*

Castanon Francisco Singulani¹, Brito Mayara Zolini¹, Carvalho Isabela Meira¹, Júlio Aline Lopes¹, Santos Vera Lúcia¹.

⁽¹⁾ Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Br.

O creosoto é um óleo formado por diversos compostos que possuem alta toxicidade. Por isso, os resíduos de creosoto representam uma grande ameaça ao meio ambiente e a eliminação desse composto de áreas contaminadas é essencial. Em um aquífero, os componentes do creosoto formam uma contaminação persistente, devido a diferença de solubilidade e recalcitrância dos compostos presentes nele. Isto requer intervenções como o uso de fatores que estimulem a degradação dos contaminantes pela microbiota local e/ou adição de consórcios bacterianos degradadores adaptados às condições da área. Esse trabalho teve como objetivo isolar bactérias a partir de amostras de aquífero contaminadas com creosoto, caracteriza-las quanto ao potencial de degradação dos componentes do creosoto e formar um consórcio com aqueles de maior potencial para avaliar a degradação em microcosmos com amostras do aquífero. As bactérias foram isoladas usando a técnica de enriquecimento, baseada em três cultivos consecutivos de 7 dias em meio BHB adicionado de creosoto (1%) coletado da área contaminada. Um total de 77 isolados foram obtidos e testados quanto ao percentual de remoção de creosoto em meio mínimo mineral com 0,25% de creosoto. As 10 bactérias com maior porcentagem de degradação de creosoto foram testadas individualmente em frascos simulando as condições do aquífero, com 0,5% de creosoto, nas condições com e sem aeração. A aeração aumentou em média 12% a degradação de creosoto e chegou ao valor máximo de 47,66% pelo isolado *Pseudomonas putida* grupo T9P6/1. Os 6 isolados com maiores porcentagens de degradação (*Pseudomonas* sp R106-4, *Brevundimonas nasdae* R206-6, *Pseudomonas putida* grupo R301-5, *Pseudomonas putida* grupo R108(10-5), *Pseudomonas putida* grupo T9P6/1 e *Alcaligenes* sp. B/4) foram escolhidos para formar o consórcio para degradação do creosoto em microcosmos consistindo de 80 ml de amostras do aquífero e variação da aeração, nutrientes e presença da microbiota autóctone. O processo alcançou até 86% de degradação do creosoto na condição aerada, com nutrientes, micro-organismos autóctones e consórcio. Esses resultados indicam que o consórcio formado possui grande potencial para ser utilizado como inoculante para biorremediação de aquíferos contaminados com creosoto.

Capes e Vale S.A.

MI151

Removal of Zn²⁺ from aqueous effluent through biosorption by inactivated microorganisms

Alves Diego A.S.¹, Baltazar Marcela P.G.¹, Tenório Jorge A.S.¹.⁽¹⁾ Chemical Engineer Department, Polytechnic School, São Paulo University, São Paulo, BR.

Growing worldwide production on zinc has been rising in the last years, increasing the contaminations of water sources and affecting the quality of them. Zinc, widely used in galvanizing industry, is primordial element in enzymatic functions into human body, but it is toxic at levels of 100-500 mg/day. Bioremediation using microorganism has been showed to be an efficient option to remove metal ions from liquid effluents, being inexpensive and eco-friendly compared to other remediation methods. Freeze-dried bacteria proved to be efficient as the cellular wall, rich in peptidoglycans, lipopolysaccharides and phospholipids, tends to adsorb cations for latter recovery. The aim of this study was to evaluate the removal and subsequent recovery of zinc ions from a liquid effluent using a permeation column loaded with freeze-dried biomass composed of *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa* grown by subculture and previously freeze-dried at -60°C and milled until obtain a powder aspect. To determine of the process efficacy a synthetic solution containing the metal under study was made and passed through a glass column with diameter of 5 cm and 20 cm of height, the solution concentration (10 – 100 mg Zn²⁺/L) and the mass of biomass were varied (25 g/L; 40 g/L and 50 g/L) and after the experiments the final solutions were analyzed by optical emission spectroscopy technique (ICP-OES) to determine the biomass capacity to uptake the metal and the isotherm modeling. The tests reached 93% removal with 50 g/L of biomass in contact with a solution of 100 mg Zn²⁺/L and a metallic recovery in the range of 95% with 50 g/L and metallic solution of 25 mg Zn²⁺/L, eluted by 0.2M HNO₃ solution. The Langmuir and Freundlich isotherms models were evaluated and the first was the one that best fitted the process (Q_m =21.09 mg Zn²⁺/g biomass; K_L =0.057; R_L=0.89 and R²=0.9976), showing that the adsorption process is favorable and occurs in monolayers.

MI152

Obtención de azúcares reductores a partir de celulosa de agave mediante enzimas fúngicas

Julio Silva Mendoza¹, María Elena Cantú Cárdenas¹, J. Alberto Gómez Treviño², Leonardo Chávez Guerrero³.

⁽¹⁾ Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, MX. ⁽²⁾ Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, MX. ⁽³⁾ Departamento de Nanotecnología, Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, MX.

Los hongos son microorganismos de gran importancia en la naturaleza debido a la capacidad de descomponer la materia muerta dada su capacidad de producir y secretar una variedad de enzimas hidrolíticas. Debido a esta característica se seleccionaron dos hongos, de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, con la finalidad de obtener celulasas para hidrolizar la celulosa presente en las hojas de *Agave salmiana*. Como resultado de la hidrólisis se obtienen azúcares reductores que posteriormente se emplearán en una fermentación alcohólica. Las hojas de agave fueron descortezadas para separar la epidermis y posteriormente liofilizadas. Las fibras fueron separadas manualmente del parénquima y lavadas para eliminar azúcares y sales presentes. El tejido parenquimatoso fue tratado con ácido sulfúrico (1,7% p/p) para recuperar la celulosa. Se inocularon esporas de los hongos (1×10^6 esporas/mL) en matraces con 500 mg de fibra suplementada con 1 mg de sulfato de amonio, como fuente de nitrógeno y buffer de acetatos pH 5 para mantener la humedad. Los hongos fueron incubados por 15 días, a 28°C a 150 rpm. Posteriormente, las enzimas fueron recuperadas con buffer de acetatos y se evaluó su actividad sobre 3 diferentes sustratos: fibras, celulosa aislada del parénquima y celulosa microcristalina comercial como control. Se observó un mayor crecimiento del *Penicillium* sobre las fibras, sin embargo, las enzimas recuperadas del cultivo de *Aspergillus* tuvieron una mayor actividad. Con *Aspergillus* se obtuvieron 0,24 y 1,11 y con *Penicillium* 0,17 y 0,9 mg/mL de glucosa, a partir de las fibras y la celulosa aislada del parénquima, respectivamente. Solo las enzimas de *Penicillium* presentaron actividad sobre la celulosa comercial. Debido a que la celulosa presente en el parénquima tiene un tamaño nanométrico, es más fácil de hidrolizar, por lo que se puede emplear para la obtención de azúcares fermentables. Por otro lado, las fibras son más difíciles de hidrolizar, pero los hongos tienen la capacidad de desarrollarse en éstas, de esta manera se aprovecha mejor la biomasa lignocelulósica. Además, las hojas de agave contienen otros carbohidratos como inulina y sacarosa que podrían ser aprovechados por microorganismos fermentadores en la producción de etanol.

Agradecimientos a la Universidad Autónoma de Nuevo León y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo recibido (No. 514440) para la realización de este trabajo

MI153

Caracterización del crecimiento de *Pseudomonas arsenicoxydans* en presencia de compuestos arsenicales orgánicos e inorgánicos en un medio de cultivo que permite la precipitación de calcita microbiológicamente inducida (MICP)

Javiera Ravanal¹, Carla León¹, Luis Pereira¹, María Angélica Mondaca¹, Víctor Campos¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL.

La industria avícola, suministra compuestos organoarsenicales, como ácido 3-Nitro-4-hidroxifenilarsénico (roxarsona o ROX) y ácido 4-nitrofenilarsénico (nitarsona o NIT), para promover el crecimiento de las aves, aumentar la pigmentación de la carne y prevenir parásitos intestinales. En agricultura, el uso de pesticidas arsenicales en cultivos, tiene prohibiciones y restricciones de uso, sin embargo, el organoarsenical metanoarsonato monosódico (MSMA) aún se puede utilizar. Cuando llegan al suelo, estos compuestos arsenicales son activados por reducción y degradados hasta formas tóxicas de arsénico inorgánico que contaminan los alimentos y suministros de agua, llegando a la población humana y animal, y provocando enfermedades como cáncer de piel, pulmón y vejiga. El objetivo del trabajo fue caracterizar el crecimiento de *Pseudomonas arsenicoxydans* (aislada desde sedimentos del Valle Camarones) en presencia de compuestos arsenicales orgánicos e inorgánicos, en un medio de cultivo modificado para propiciar la MICP (adición de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 33 mM y CaCl_2 30 mM). *P. arsenicoxydans* fue crecida en presencia de ROX, NIT, MSMA, As^{3+} y As^{5+} (0.5 mM final cada especie), y se ensayó el crecimiento planctónico (As^{3+}P y As^{5+}P) y sésil (As^{3+}S y As^{5+}S), frente a especies inorgánicas. Las cinéticas de crecimiento y de remoción de arsénico fueron estudiadas mediante la técnica microgota y HPLC-HG-ASS, respectivamente, y el modelamiento matemático de Weibull. La biopelícula y cristales se observaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Las velocidades de crecimiento (k) fueron: 0.038 (control), 0.022 (ROX), 0.050 (NIT), 0.057 (MSMA), -0.026 (ROX+NIT+MSMA), 0.027 (As^{3+}P), 0.033 (As^{5+}P), 0.041 ($\text{As}^{3+}\text{P}+\text{As}^{5+}\text{P}$), 0.046 (As^{3+}S), 0.061 (As^{5+}S) y 0.052 ($\text{As}^{3+}\text{S}+\text{As}^{5+}\text{S}$) ($\text{Log}_{10}\text{UFC}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). Las velocidades de remoción de arsénico fueron: 0.032 (As^{3+}P), 0.034 (As^{5+}P), 0.045 ($\text{As}^{3+}\text{P}+\text{As}^{5+}\text{P}$), 0.046 (As^{3+}S), 0.038 (As^{5+}S) y 0.063 ($\text{As}^{3+}\text{S}+\text{As}^{5+}\text{S}$) ($\text{mM}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). Se observó formación de biopelícula y formación de cristales de calcita en todas las condiciones ensayadas, y el porcentaje de arsénico en los cristales fue 0.54 (As^{3+}S), 0.67 (As^{5+}) y 0.48 ($\text{As}^{3+}\text{S}+\text{As}^{5+}\text{S}$) (% p/p total del área analizada). *P. arsenicoxydans* es capaz de crecer en las condiciones ensayadas (k : $\text{As}^{5+}\text{S} > (\text{MSMA}) > (\text{As}^{3+}\text{S}+\text{As}^{5+}\text{S}) > (\text{NIT}) > (\text{As}^{3+}\text{S}) > (\text{As}^{3+}\text{P}+\text{As}^{5+}\text{P}) > (\text{control}) > (\text{As}^{5+}\text{P}) > (\text{As}^{3+}\text{P}) > (\text{ROX})$), excepto en presencia de la mezcla ROX+NIT+MSMA. El arsénico fue removido al 100% a las 60 horas de cultivo, donde $\text{As}^{3+}\text{S}+\text{As}^{5+}\text{S}$ alcanzó la mayor k .

FONDECYT 11130383

MI154

Producción biogénica de ácido sulfhídrico en reactores con biomasa inmovilizada, mediante un consorcio microbiano reductor de azufre

Franco Cárdenas¹, Cristian Martínez¹, Pabla Viedma¹, Davor Cotoras¹. ⁽¹⁾Bioquímica y Biología Molecular, Ciencias químicas y farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL.

La liberación de metales pesados en los efluentes y la formación de lodos son los principales problemas que afectan las descargas de la industria minera, por lo que el tratamiento de aguas residuales y la remoción de valores metálicos cumplen un rol crucial en la reducción del impacto ambiental. Una alternativa de remoción de metales en aguas residuales consiste en su precipitación como sulfuros, proceso que se caracteriza por ser bien conocido, formar lodos compactos, ser altamente eficiente y precipitar selectivamente los metales para su posterior separación. Sin embargo, el alto costo de reactivos (NaHS o Na_2S) y los aspectos de seguridad, hacen prohibitiva su aplicación. Una forma eficaz y segura de producir H_2S desde azufre elemental, es la utilización de bacterias reductoras de azufre (S^0RB). Sin embargo, debido al lento crecimiento de estas bacterias, se hace indispensable la inmovilización y formación de biopelículas de estos microorganismos en biorreactores, lo que permitiría la generación de grandes cantidades de H_2S . Las tecnologías existentes para la producción biogénica de H_2S utilizan acetato, etanol o hidrógeno como dador de electrones, lo que incrementa sus costos de operación. Este estudio demostró la capacidad sulfurogénica de un consorcio bacteriano reductor de azufre elemental, extraído de una muestra ambiental, en biorreactores de lecho fijo con biomasa inmovilizada. Como dadores de electrones se utilizaron sustratos orgánicos complejos: almidón, celulosa y espirulina y se evaluó la influencia del pH, concentración de NaCl y razón sustrato/azufre. Se generó biomasa con actividad sulfurogénica en los biorreactores, bajo un régimen hidráulico de flujo ascendente, lo cual da soporte para generar una tecnología eficaz para remover y recuperar metales pesados desde aguas contaminadas. La caracterización de los grupos filogenéticos microbianos presentes en el consorcio sulfurogénico, mediante FISH, indicó presencia de arqueas y bacterias del grupo α , β y δ -proteobacterias y del grupo cytophaga-flavobacterium. El grupo δ -proteobacterias, al que pertenecen gran parte de los microorganismos sulfurogénicos, fue el predominante para todos los sustratos estudiados. Se obtuvo una actividad volumétrica de hasta $2,94 \text{ mol H}_2\text{S}/\text{m}^3 \times \text{d}$ con las condiciones hidrodinámicas establecidas.

FONDEF IDeA CA13I10019 y FONDEF IT16M10002

MI155

Aislamiento, caracterización y análisis filogenético de bacterias asociadas a esponjas marinas del golfo de México

Jose Felix Aguirre Garrido¹, Marcos López Pérez², Hugo César Ramírez Saad³, Humberto García Arellano², Luis Mario Soto Hernández¹, Jessica Josselyn Gómez García². ⁽¹⁾ Ciencias Ambientales, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma, Estado de México, MX. ⁽²⁾ Ciencias Ambientales, Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma, Estado de México, MX. ⁽³⁾ Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Ciudad de México, MX.

Las esponjas son consideradas los animales pluricelulares más simples que existen. Dentro de las características relevantes del estudio de los poríferos se refiere a su ecología, ya que algunas especies son capaces de mantener relaciones simbióticas con algas y bacterias. Cada vez se acumula más evidencia que resalta el importante papel de las bacterias en asociaciones bacteria-esponjas. En México, se han logrado aislar y caracterizar mediante pruebas moleculares bacterias asociadas a la esponja *Aplysina gerardogreeni*, en otros estudios se han logrado cultivar bacterias Gram positivas de la esponja *Aplysina clathrata*, con la finalidad de evaluar su actividad antimicrobiana. Las cepas utilizadas en el presente estudio se aislaron de tres esponjas *Smenospongia aurea* y *Scopalina ruetzleri*, provenientes del Golfo de México y *Aplysina gerardogreeni* proveniente de la Isla Isabel en el Pacífico mexicano. Se utilizaron tres diferentes medios de cultivo LB-10, LB-20 y MH, se determinó las Unidades Formadoras de Colonia. Se realizó una ribotipificación mediante la electroforesis en gel con gradiente desnaturante (DGGE) utilizando la región variable V6-V8 del gen 16S rRNA. Para el conteo de cepas viables no se observaron diferencias significativas para las tres esponjas con valores medios de 1×10^6 colonias/g de tejido. Se lograron aislar 68 cepas y mediante el DGGE se agrupó en 18 ribotipos. Se secuenció el gen 16S rRNA y a partir de estas secuencias se realizó la reconstrucción filogenética. El 77% de los aislados pertenecen al género *Bacillus* en donde destacan las especies de *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus anthracis*, para este género se ha reportado producción de compuestos con actividad antibacteriana. Las especies *Staphylococcus epidermis* y *Staphylococcus warneri* representan el 17% de las secuencias y aunque se han encontrado en agua marina, aún no se conoce su relación con las esponjas en estudio. Solo el 6% de las secuencias pertenecen a la especie *Prolinoborus fasciculus*, reportada como una bacteria fijadora de nitrógeno, esta cepa fue exclusiva de la esponja *Aplysina gerardogreeni*. Si bien existen coincidencias en cuanto a la composición de las comunidades bacterianas, cada una de las esponjas en este estudio parece condicionar el crecimiento de grupos bacterianos específicos.

MI156

Scalable and exhaustive screening of metabolic functions carried out by microbial consortia

Clémence Frioux¹, Mauricio Latorre^{2,3,4}, Anne Siegel¹. ⁽¹⁾ Dyliss Team, CNRS - INRIA, Université de Rennes, Rennes, FR.

⁽²⁾ LBEG, INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Mathomics, Ingeniería, Universidad de Chile, Santiago, CL.

⁽⁴⁾ Bioingeniería, Ingeniería, Universidad de O'Higgins, Rancagua, CL.

Switching from large microbiota datasets to the study of function effectiveness is a key challenge that entails the selection of communities of species. Bioinformatics and genome-scale metabolic models are suited to address the high combinatorics of community-design studies: a metabolic objective is established for the community and its reachability starting from given nutrient conditions is computed. The difficulty lies in the modeling level to be chosen: considering the organisms as individuals that share identified goods is feasible for a selection among few bacteria. Yet scaling up to hundreds or thousands of bacteria is intractable and requires considering a meta-organism in which exchanges are ignored. In any case, methods provide a single community solution among possibly hundreds or thousands. To overpass these limitations, we propose a workflow that screens and classifies metabolic producibility in terms of feasibility, functional redundancy and cooperation processes involved. The community selection is performed in two steps using Answer Set Programming, whose solving capacities enables exploring all solutions, and adequate definitions of producibility and metabolic exchange. First, minimizing community size without compartmentalizing organisms enables the enumeration of solutions to filter massive datasets. Then, a minimization of metabolic exchanges on the previous solutions retrieves all the communities that minimize both criteria. We applied the workflow to select communities among 2,500 bacteria of the Human Microbiome Project. We explored 5,300 metabolic functions requiring bacterial cooperation. 86.5% of them generated more than 100 community solutions under size-minimality, hence the need to explore them. Additional minimization of exchanges reduces the number of solutions by 24%. We then showed that our workflow is also suited to the selection of communities in a host-symbionts system: we classified bacteria from the gut microbiota based on their added-value for the human host under defined metabolic objectives. Exploring all optimal solutions prevents loss of information for the experimenters; solutions can be easily filtered a-posteriori with biological criteria such as growth incompatibilities or culture requirements. Exhaustive screening of metabolic complementarity is of high interest to better understand dependencies of hosts to their symbionts or in the context of synthetic biology for the industrial production of metabolites.

FONDECYT N°11150679 and N°1160802, Center for Genome Regulation FONDAP 15090007, Basal grant of the Center for Mathematical Modeling UMI2807 UCHILE-CNRS N° PFB03 project, Formación de Redes Internacionales para Investigadores(as) en Etapa Inicial N° REDI170193

MI157

Consistent microbial communities facing hydrocarbons in Antarctic soils

Sebastián Fuentes Alburquenque¹, Beatriz Díez¹. ⁽¹⁾ Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

Ecological processes in Antarctic soils are mainly driven by microorganisms due to the abiotic conditions that limit the life of most higher organisms. Anthropogenic disturbances can impair community stability and, eventually, their ecological functions. The present research focuses on hydrocarbon pollution, as disturbance model, over Antarctic soil microbial communities, using total-community 16S and 18S rRNA genes sequencing, hydrocarbon quantification and soil physicochemistry. The first approach consisted in the sampling of soils from the South Shetland Islands and Antarctic Peninsula. After accounting for geographical distance and other environmental variables, hydrocarbon resulted to be one of the main drivers of both Bacteria/Archaea and Eukarya diversity. Hydrocarbon levels were particularly important for Eukaryotic diversity, even more than pH, a well-known driver of microbial diversity. Bacterial OTUs related to Actinobacteria and Alphaproteobacteria were enriched in polluted sites, particularly a *Williamsia*-related OTU which accounted for ca. 25% of the total bacterial community in heavily-polluted sites. Similarly, fungal OTUs related to Leotiomycetes and Microbotryomycetes accounted for ca. 60% of the eukaryotic community in heavily-polluted sites. In both cases, these high proportions of specific OTUs were consistent across sites sampled kilometers far from each other. A second approach consisted in soil microcosm experiments to weight the influence of community history on the stability after pollution (hydrocarbons in this case). Results demonstrate that a community from a chronically-polluted soil was more stable, in terms of beta-diversity, than a community from a pristine soil. Different population dynamics were observed in the pristine soil after hydrocarbon pollution. Consistent with our previous results from non-manipulated soils samples, several Actinobacteria and Alphaproteobacteria taxa increased in relative abundance, whereas other taxa responded negatively after hydrocarbon pollution has been induced. Our data suggest that when an Antarctic soil community faces hydrocarbons for the first time, Alphaproteobacteria members are the first to respond, followed by Actinobacteria members. In a broader sense, from our results it is possible to extract: i) we can predict that a similar disturbance can have a consistent effect in communities located in distant sites by kilometers, and ii) the stability is higher in communities exposed to disturbances of similar nature.

FONDECYT Postdoctorado 3160424, CONICYT DPI20140044, CONICYT, CONICYT FONDAP-CR2 15110009



MI158

Caracterización de bacterias aisladas del desierto de Atacama como potenciales promotoras del crecimiento de plantas (PGPR)

Alexis Gaete^{1,2,3}, Dinka Mandakovic^{2,3}, Felipe Maza², Mauricio Gonzalez^{2,3}. ⁽¹⁾ Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias, Campus Sur, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Centro de Regulación del Genoma (CRG), Universidad de Chile, Santiago, CL.

En forma creciente, bacterias que habitan en comunidades de microorganismos de suelo son utilizadas como biofertilizantes en sistemas de producción agrícola debido que poseen un potencial como rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas (PGPR). De especial interés son las bacterias aisladas desde ambientes extremos debido a su capacidad de colonizar y proliferar bajo condiciones bióticas y abióticas desfavorables. En este trabajo se evaluó la capacidad de fijación de nitrógeno, producción de sideróforos, solubilización de fosfato, producción de auxina y actividad ACC desaminasa en aislados bacterianos (n=30) obtenidos desde el altiplano Chileno (app. 4500 M a.l.s.) en la base del volcán Lascar, en la ladera oeste de la cordillera de los Andes en la región central del Desierto de Atacama. El análisis de la secuencia de la región que codifica el 16S rRNA permitió clasificar estos aislados en diez géneros (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Halomonas*, *Paenibacillus*, *Streptomyces*, *Microbacterium*, *Stenotrophomonas*, *Arthobacter*, *Rhodococcus* y *Oceanobacillus*). Los resultados indicaron que 22 aislados corresponden a productores de sideróforos, 7 aislados poseen capacidad de solubilizar fosfato, 10 aislados son potenciales fijadores de nitrógeno, 4 aislados poseen actividad ACC desaminasa y 7 aislados son productores de auxina. El mayor potencial PGPR fue observado en dos aislados del género *Pseudomonas* y *Bacillus*, los cuales presentaron actividad en cuatro de los cinco ensayos realizados.

Este trabajo fue financiado por proyecto FONDECYT Regular N° 1151384

MI159

Comunidad bacteriana de *Aphis gossypii* y *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) en cultivos de ají (*Capsicum* sp.)

Gallo-Franco Jenny J.¹, Duque Diana N.¹, Nelson Toro-Perea¹. ⁽¹⁾ Biología, Ciencias naturales y exactas, Universidad del Valle, Cali, CO.

Los insectos están asociados con diversos microorganismos que son capaces de influenciar varios aspectos de su biología. Los áfidos, han sido organismos modelo para el estudio de la interacción microorganismo–insecto. Se sabe que los áfidos presentan un endosimbionte obligado, *Buchnera aphidicola*, que es esencial para compensar las deficiencias nutricionales de estos insectos. Igualmente, pueden presentar diversas bacterias que les permiten la adquisición de rasgos de importancia agronómica, tales como, resistencia a altas temperaturas y/o defensa contra enemigos naturales. A pesar de esto, la comunidad bacteriana de la mayoría de especies de áfidos, todavía, está pobremente caracterizada. En este estudio, utilizamos secuenciación masiva del gen RNAr 16s para caracterizar la comunidad bacteriana de *Aphis gossypii* y *Myzus persicae*, en dos especies de ají, *Capsicum frutescens*, variedad Tabasco y *Capsicum annum*, variedad Cayena, cultivables en cuatro localidades del sur occidente colombiano. Además, evaluamos la dinámica de los microorganismos de *A. gossypii* en cuatro temporadas del año. Nuestros resultados muestran que las comunidades bacterianas de *A. gossypii* y *M. persicae*, están dominadas por el endosimbionte primario *B. aphidicola*, con la presencia de un endosimbionte secundario conocido, *Arsenophonus* sp. en una población de *A. gossypii* en ají Cayena. Además de estos dos simbioses conocidos, se encontraron ocho géneros de bacterias, que presentaron una frecuencia del 1% o más en al menos una de las poblaciones analizadas. Los resultados evidencian que la comunidad bacteriana de los áfidos del cultivo de ají, se estructura de acuerdo a la especie de áfido huésped y a la localidad de estudio, ya que no se encontraron diferencias en la diversidad de bacterias entre plantas hospederas. Sin embargo, la presencia de *Arsenophonus* sp. solo en la variedad Cayena, sugiere que esta bacteria tendría un papel en la especialización por planta hospedera. Por último, se observó que la diversidad y abundancia de la comunidad bacteriana de *A. gossypii*, varía dependiendo de la temporada del año, en relación con la dinámica poblacional de los áfidos. Estos resultados amplían nuestro conocimiento de las interacciones áfido-microorganismo-entorno, proporcionando información para desarrollar técnicas de control biológico de estos áfidos de importancia económica a nivel mundial.

Centro de Investigación e Innovación en Bioinformática y Fotónica (CIBioFi), Gobernación del Valle del Cauca, Sistema general de regalías.

MI160

Levaduras basidiomicetes asociadas a líquenes de la especie *Peltigera frigida*

Matías Gálvez¹, Mauricio Nuñez¹, Diego Leiva¹, Margarita Caru¹, Julieta Orlando¹. ⁽¹⁾ Ciencias Ecológicas, Ciencias, Universidad de Chile.

Los líquenes se han definido de forma clásica como una simbiosis entre un hongo ascomicete (micobionte) y un compañero fotosintético (fotobionte) que puede ser una microalga clorófito o una cianobacteria. Sin embargo, en los últimos años se han detectado diversos microorganismos asociados a los líquenes, como otros hongos, bacterias y arqueas. El año 2016 se popularizó un nuevo componente en la simbiosis líquénica correspondiente a levaduras basidiomicetes del orden Cyphobasidiales, sin embargo estos estudios se realizaron en un conjunto restringido de líquenes. El objetivo de este trabajo es la caracterización de levaduras basidiomicetes asociadas tanto a líquenes pertenecientes a la especie *P. frigida* como a los sustratos donde éstos crecen. Las muestras se recolectaron en la Reserva Nacional Coyhaique, Región de Aysén. Para la caracterización de las levaduras, primero se llevó a cabo su detección mediante el uso de secuenciación de Sanger del marcador rDNA 28S, utilizando partidores específicos para Cyphobasidiales. Estos partidores amplificaron en las 12 muestras testeadas de *P. frigida*, pero sólo la mitad de las secuencias presentaron suficiente calidad para realizar un análisis filogenético. En el árbol generado, observamos que estas secuencias se agrupan monofiléticamente a secuencias de levaduras del orden Cyphobasidiales planteadas anteriormente como nuevos componentes de otros líquenes. La baja calidad de algunas secuencias, sumado a la necesidad de realizar PCR anidado, sugiere que estas levaduras serían diversas, aunque poco abundantes en las muestras estudiadas. Por ello, como una aproximación más robusta, se procedió a realizar una secuenciación Illumina utilizando: (i) partidores dirigidos a la misma región genética que en el ensayo anterior (rDNA 28S), pero que disminuyen la amplificación de los hongos ascomicetes (filo fúngico al que pertenece *Peltigera*) y (ii) partidores para la región ribosomal ITS que disminuyen la amplificación sólo de las secuencias relacionadas con líquenes del género *Peltigera*. La secuenciación masiva nos permitió tener una visión más holística de esta simbiosis, donde no sólo se analizó a los basidiomicetes, sino que a toda la comunidad fúngica asociada. Estos resultados indican que los nuevos simbiosistas en líquenes deben estudiarse mediante múltiples aproximaciones para entender cómo se relacionan sus componentes.

FONDECYT 1181510, CONICYT-PFCHA 2016-21161693, CONICYT-PFCHA 2018-21181541



MI161

Cambios en las comunidades microbianas del suelo del desierto de atacama debido a la presencia de rocas extraterrestres

García Jonathan A¹, Vladimir Avalos¹, Millarca Valenzuela², Cristina Dorador³. ⁽¹⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL.

⁽²⁾ SERNAGEOMIN, Servicio Nacional de Geología y Minería - Instituto Milenio de Astrofísica, Santiago, CL.

⁽³⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos- Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL.

En el Desierto de Atacama se encuentran diferentes nichos ecológicos que hacen posible la proliferación de distintos microorganismos. Este desierto al presentar amplias superficies sin alteración en los últimos cientos de años y bajas tasas de lluvia, se convierte en un acumulador natural de meteoritos. Además, características como la alta radiación ultravioleta, oscilaciones térmicas marcadas, vientos y baja humedad relativa lo posicionan como un análogo para el estudio del planeta Marte. Los meteoritos, al presentar una composición química diferente a las rocas del desierto, son posibles lugares donde los microorganismos del suelo buscan refugio y pueden estar contribuyendo al proceso de meteorización (eventos bióticos y abióticos que terminan con el fraccionamiento del meteorito), por lo tanto, interesa conocer si la estructura microbiana de los suelos es alterada por la presencia de rocas extraterrestres como los meteoritos. Por esta razón, se realizó una excursión al sector de Los Vientos, cercano al observatorio astronómico VLP en Cerro Paranal, Región de Antofagasta, Chile. En este sector se encontraron y seleccionaron tres meteoritos para estudio. A partir de la ubicación de cada meteorito se determinó un área de estudio de 2 metros cuadrados a la redonda, tomando muestras en suelo de superficie (0-5 cm) y de profundidad (5-10 cm), incluida una zona con una roca control (no meteorito). En total se analizaron 136 muestras. Estas muestras fueron analizadas químicamente y sometidas a extracción de ADN, subsecuentemente se realizó secuenciación masiva del gen ribosomal 16S rRNA mediante plataforma illumina Miseq (sitios hipervariables V3-V4). La asignación taxonómica fue realizada con el software Qiime v1.9.1 y base de datos SILVA128. La comunidad microbiana fue dominada por los phyla: Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria y Chloroflexi. A nivel de familia, se detectó que gran parte de la abundancia estaba representada por organismos no cultivados con un 42,5% del total de la abundancia relativa; *Chitinophagaceae* (2,8%) y *DA101 soil group* (2,4%). Los resultados preliminares señalan diferencias significativas entre las comunidades de suelo de superficie y profundidad y existiría una modificación de la estructura comunitaria microbiana cercana al meteorito, sugiriendo efecto por la presencia de meteoritos en las comunidades microbianas terrestres.

FONDECYT 1140179-1181773-11171090



MI162

Actinobacteria isolated from fungus-growing ants in different Brazilian biomes for prospecting biologically active substances

Weilan Gomes Paixao Melo¹, Cameron Currie², Jon Clardy³, Monica Tallarico Pupo¹. ⁽¹⁾ Department of Pharmaceutical Sciences, School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil, BR.

⁽²⁾ Department of Bacteriology, University of Wisconsin - Madison, Madison, US. ⁽³⁾ Department of Biological Chemistry and Molecular Pharmacology, Harvard Medical School - Boston, MA, Boston, MA, USA, US.

Attine ants cultivate Basidiomycetes, with which they maintain a permanent and obligatory symbiotic association. To help prevent nest infection by parasites, ants have adopted several mechanisms, including an association with symbiotic actinobacteria of the genus *Pseudonocardia* that produce secondary metabolites for selectively suppressing the parasite *Escovopsis*. Thereby, we aim to explore the diversity of antibiotic-producing actinobacteria associated with fungus-growing ants. A total of 882 actinobacteria were isolated from 210 colonies of attine ants in different biomes such as Mata Atlântica, Amazon Forest and Cerrado, and included the genera *Acromyrmex*, *Atta*, *Trachymyrmex*, *Apterostigma*, *Cyphomyrmex*, *Micocephurus*, *Mycetophylax* and other unknown attine. Sequencing of the 16S rRNA gene was performed for 197 strains identified as *Pseudonocardia* (66 strains), *Streptomyces* (47), *Amycolatopsis* (46), *Microlunatus* (9), *Tsukamurella* (7), and others. Phylogenetic analyses of *Pseudonocardia* symbiont from *Trachymyrmex* revealed that they are included within IV, V and VI clades of *Pseudonocardia* from fungus-growing ants, which include *T. cornetzi* group along with “High attine ants”. Inhibition assays between *Pseudonocardia* strains isolated from *Trachymyrmex* and *Escovopsis* species revealed different degrees of inhibition (low to high). Genome sequencing of 15 *Pseudonocardia* strains was performed revealing biosynthetic gene clusters (BGCs) encoding for the production of 6-34 secondary metabolites, including different bacteriocin, cahuitamycin, eicosapentaenoic acid, nystatin-like and amphotericin, which may be involved in the inhibition of other bacteria and the *Escovopsis* parasites within the fungal garden of the attine ants.

Funding by Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP grants #2013/50954-0 (FAPESP/FIC-NIH); #2015/01001-6 (WGPM), CAPES and CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

MI163

Identificación de bacterias cultivables, bacterias filamentosas y protozoos presentes en una planta de tratamiento de aguas residuales de Antioquia, Colombia

Camila Gómez¹, Santiago Erazo¹, Yamilet Arcos¹, Múnera Luisa M¹, Lida Arias¹. ⁽¹⁾ Antioquia, Escuela de microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, CO.

Los microorganismos en las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) cumplen una función importante como indicadores del funcionamiento de las mismas; y como elementos fundamentales de los ciclos biogeoquímicos que suceden al interior de esta. En la literatura, se reporta que al interior de las PTAR es posible encontrar una alta diversidad microbiana, la cual varía en función del tipo de agua residual. En este estudio se determinó la presencia de bacterias cultivables, filamentosas y protozoos, en el afluente, tanque de aireación y efluente de una PTAR, localizada en Antioquia-Colombia. Para el aislamiento e identificación de las bacterias cultivables se emplearon técnicas dependientes de cultivo y amplificación de DNAr 16S. Por otro lado, las bacterias filamentosas y los protozoos se agruparon en función de las características morfológicas observadas en respuesta a diferentes tinciones y se identificaron utilizando las claves de identificación microscópica disponibles para tal fin. Se identificaron diferentes géneros de bacterias cultivables, siendo los de mayor frecuencia *Aeromonas* sp., *Enterobacter* sp., *Enterococcus* sp., *Escherichia* sp., *Klebsiella* sp., y *Yokenella* sp. En cuanto a los protozoos los géneros identificados con mayor frecuencia *Amoeba* sp., *Epistylis* sp., *Opercularia* sp. y *Vorticella* sp. De igual manera, las bacterias filamentosas de mayor frecuencia fueron los géneros *Microthrix* sp., *Nostocoida* sp., *Thiothrix* sp., *Beggiatoa* sp., *Haliscomenobacter* sp., *Sphaerotilus* sp. y los tipos (Eikelboom types) 0041, 0092, 0411, 0681, 1701, 0681, 0803, 1863, 0014, 021N. No se encontró una influencia significativa de las variables fisicoquímicas sobre la diversidad de las comunidades microbianas en la PTAR (ordenamiento NMDS), no obstante, se estableció una correlación significativa entre la abundancia de las poblaciones evaluadas con los parámetros fisicoquímicos de conductividad, oxígeno disuelto, sólidos suspendidos totales, demanda química de oxígeno y carbono orgánico total. Los resultados constituyen un punto de partida para la realización de estudios adicionales sobre ecología y fisiología microbiana, que permitan obtener un acercamiento a las interacciones metabólicas de la comunidad de microorganismos al interior del sistema en la PTAR evaluada.

MI164

Monitoramento da qualidade biológica de solo de Cerrado sob sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta através da hidrólise de diacetato de fluoresceína e da atividade das enzimas fosfatase ácida e alcalina

Melo Isabelle Gonçalves¹, Viana Maria Celuta Machado², Gontijo Neto Miguel Marques³, Emerson Borghi³, Antônio Carlos Oliveira⁴, Marriel Ivanildo Evódio³. ⁽¹⁾ Bioengenharia, Universidade Federal de São João Del Rei, Sete Lagoas, BR. ⁽²⁾ Integração Lavoura-Pecuária, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Sete Lagoas, BR. ⁽³⁾ Núcleos Temáticos, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, BR. ⁽⁴⁾ Núcleo de Desenvolvimento Institucional, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, BR.

O sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) tem se mostrado como alternativa sustentável de uso do solo e conservação dos recursos naturais. Esta estratégia de cultivo agrega em uma única área diferentes sistemas produtivos, como madeira, grãos, carne e leite, possibilitando a máxima utilização da área. O conhecimento da diversidade da ecologia microbiana do solo e sua atividade sob ILPF tornam-se de fundamental importância para avaliar a estabilidade destes sistemas. O trabalho objetivou avaliar a atividade microbiana em solo de Cerrado sob ILPF envolvendo diferentes arranjos estruturais de eucalipto e pastagem, na região central de Minas Gerais. Foram monitoradas as atividades das enzimas Fosfatase Ácida e Alcalina (Tabatabai, 1994) e FDA (Adam & Duncan, 2001), em amostras de solo que foram coletadas em três arranjos de ILPF (renques de 9 m com linhas simples e duplas de eucalipto, e 20 m com linhas simples de eucalipto) em duas distâncias do pé do eucalipto plantado em 2008 (1 m de distância das linhas de eucalipto e no centro do renque), e usando áreas de pastagem a pleno sol, eucalipto GG100 (3x3) e Cerrado nativo como controle. O delineamento experimental foi blocos casualizados em parcelas subdivididas, com três repetições. Em cada repetição, foram retiradas amostras, compostas de cinco subamostras, em quatro profundidades (0-10, 10-30, 30-60 e 60-100 cm). Como resultados, não se observaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre sistemas e distâncias, independentemente das variáveis analisadas. Por outro lado, houve influência significativa ($p < 0,05$) do fator profundidade sobre todos os parâmetros avaliados, sendo a atividade das enzimas mais elevada na camada 0-10 cm, com valores de $5807,24 \mu\text{g p-nitrofenol h}^{-1} \text{g}^{-1}$ solo no arranjo ILPF (20m LS) e $3556,4 \mu\text{g p-nitrofenol h}^{-1} \text{g}^{-1}$ solo no arranjo ILPF (9m LS) para as fosfatases ácida e alcalina, respectivamente. Para FDA, maior atividade foi detectada sob pastagem a pleno sol, com valor de $230,79 \mu\text{g FDA g}^{-1}$ solo. Concluiu-se que o uso dos bioindicadores utilizados permitiu detectar alterações na qualidade biológica do solo do bioma Cerrado sob diferentes sistemas de cultivo.

EMBRAPA, CAPES, FAPEMIG e CNPq



MI165

Análise funcional do microbioma de manguezal amazônico por abordagem metagenômica: Aspectos biogeoquímicos e ambientais

Graças Diego Assis¹, Cuóco Cássia Maués¹, Marques Joana Montezano¹, Silva Artur Costa¹. ⁽¹⁾ Centro de Genômica e Biologia de Sistemas, Biotecnologia, UFPA, Belém, BR.

É amplamente conhecido que metade das áreas de mangues no mundo já foram perdidas devido ação do homem. Estes ambientes também possuem aspectos ecológicos únicos para diversas comunidades microbianas. Bactérias e arqueias controlam grande parte da dinâmica dos micronutrientes e podem contribuir para a determinação dos tipos de solo e vegetação, e também carregam uma enorme quantidade de genes com potencial biotecnológico. Neste trabalho coletamos uma amostra de mangue situado na região amazônica brasileira, do Estado do Pará, para caracterização funcional do microbioma. O DNA total foi extraído e sequenciado em plataforma Ion Torrent PGM com protocolo de 400 pares de base de tamanho por abordagem shotgun. As leituras brutas foram submetidas ao EBI metagenomics portal e MG-RAST para análise taxonômica e funcional. Foram geradas mais de 770 mil leituras com tamanho entre 100-400 bp de qualidade maior que QV 20. Na análise de COG, das mais de 740 mil CDSs preditas, sendo que, a maior parte com funções atribuídas a processos metabólicos (25%), biosintéticos (13%) e relacionados ao nitrogênio (11%). Na análise do EBI, 2345 CDSs foram preditas com domínios relacionados a resistência a antibióticos (1625), 34 a resistência a metais pesados, 26 com domínios envolvidos com produção de biosurfactantes, 305 de biossíntese de policetídeos. Usando o portal MG-RAST, 587 CDSs tiveram função de degradação de compostos aromáticos, 2146 CDSs com função de resistência a antibióticos e compostos tóxicos como metais pesados. Nos processos relacionados a ciclos biogeoquímicos, os mais abundantes foram ao metabolismo do metano (687), enxofre (663), fotossíntese (382) e fixação do carbono (358), ciclo do nitrogênio (303). As análises preliminares dos dados mostram que microbioma do manguezal é rico em biodiversidade taxonômica e funcional, com uma abundância de genes com potencial biotecnológico, de importância para saúde humana e ambiental e atuando em diversos ciclos biogeoquímicos ajudando a manter a vida no ambiente. Análises de montagem de contigs para elucidação das vias metabólicas ou de clusters biosintéticos são necessárias pra determinar como a comunidade microbiana executa seu papel no mangue.

CAPES/FAPESPA 06/2015 sob Nº AUXPE.88881.161276/2017-01



MI166

Patterns and ecological drivers of hot springs viral communities

Sergio Guajardo-Leiva¹, Tomás Alarcón-Schumacher¹, José Ignacio Arroyo², Oscar Salgado¹, Beatriz Díez¹. ⁽¹⁾ Genética Molecular y Microbiología, Biología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Ecología, Biología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

Hot spring environments can be considered as “hot islands” surrounded by a “cold ocean” where thermophilic bacteria and archaea can not grow. Because viruses require host organisms to replicate, viral community structure is affected by environmental conditions that in turn impact the structure of the microbial community. However, viruses distribution can be directly influenced by environmental conditions, such as temperature and pH, affecting their ability to infect, the persistence in the environment and especially in the case of hot springs its ability to spread. Here, we explore patterns and structure of hot spring viral communities in 12 samples from North America, South America and Africa through quantitative ds-DNA viral fraction metagenomics. Because viruses lack shared marker genes that can be used for investigation of community patterns we used three different approaches to compare between viral communities: (i) K-mer distances to estimates differences in the mutation rates of genes and proteins, (ii) Protein clusters (PCs) as a means to organize virome sequence space commonly dominated by unknown sequences (iii) OTUs-populations, using established metrics for viral contig recruitment and monopartite gene sharing networks. Comparison and hierarchical clustering based on K-mer genetic distances separated the viral communities, in three main groups explained mainly by pH values and geographic distance at continental scale. Protein cluster cataloging (43.716 PCs) determine hot spring viral community pan and core gene sets and suggests that this sequence space is highly under sampled (only 1182 PCs were also present in the IMGVR earth virome database) and diverse (Shanon~ 2.07-5.33). The analyzes of OTU and viral populations (viral clusters) revealed biogeographic patterns in which viral communities were locally structured by limiting dispersal (historical events) and environmental conditions that affect the structure of the host community. Altogether, our bigdata analysis provides a picture of thermophilic viral communities at intercontinental scale in which we assessed population patterns using multiple parameters including, genetic distances, protein clusters, and OTU-population, as previously used in the analysis of global ocean viral communities. Our data provide advanced view on viral community structure and broad application of population ecology to asses ecological inferences from natural viral communities.

CONICYT beca nacional de Doctorado 21130667, FONDECYT N° 1110696, N° 11105171



MI167

Estudio de especies microbianas claves en la producción de butirato mediante análisis de interacciones en consorcios del microbioma intestinal

Natalia Gutierrez¹, Daniel Garrido¹. ⁽¹⁾ Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Facultad de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

El microbioma intestinal alberga un complejo ecosistema formado por miles de especies microbianas de diferentes filos, que al interactuar, condicionan su crecimiento y la producción de ciertos metabolitos. El objetivo fue determinar el efecto de la ausencia de un microorganismo en un consorcio microbiano en términos de abundancia relativa de especies, consumo de sustrato y producción de ácidos grasos de cadena corta (SCFA), destacando la producción de butirato, debido a su potencial impacto en la respuesta inflamatoria intestinal. Para esto, se trabajó con 15 bacterias representativas del microbioma intestinal: *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, *Bacteroides dorei*, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides finegoldii*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides cellulosilyticus*, *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Ruminococcus gnavus*, *Clostridium orbiscindens*, *Clostridium clostridioforme* y *Clostridium symbiosum*. Los experimentos se realizaron en un reactor *batch* anaeróbico de 250 ml durante 30 horas, con pH y temperatura controlados y utilizando inulina como fuente de carbono. Seguidamente, se fue quitando del consorcio una especie bacteriana a la vez, realizando un total de 16 biorreactores. Se analizó el consumo de inulina y proteínas, a través del método fenol-ácido sulfúrico y Bradford, respectivamente. La cuantificación de SCFA (acetato, lactato, propionato y butirato) a través de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) y finalmente, la abundancia relativa de cada especie fue evaluada mediante qPCR. Se observó un consumo rápido de inulina durante las primeras 10 horas, sin fermentación de proteínas en cada caso. La producción de butirato alcanzó la máxima concentración en ausencia de *B. vulgatus* y *R. gnavus*. Contrariamente, en ausencia de *E. coli*, *L. plantarum*, *B. adolescentis*, *B. dorei* y *C. symbiosum* no hubo producción de butirato. El reactor con mayor producción de butirato (10,73 mM) presenta la mayor abundancia de *C. symbiosum*, sin embargo, en ausencia de *B. dorei* y aún en presencia de *C. symbiosum*, no hay producción de butirato, revelando una relación entre su interacción y la producción del ácido. Este resultado entrega información relevante para comprender el efecto de interacciones del microbioma, destacando interacciones claves para la maximización de butirato, lo que resulta interesante dado el profundo impacto de ese metabolito en la salud humana y su potencial aplicación en tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales.



MI168

Caracterización de bacterias productoras de asparaginasa aisladas de la albúfera “Medio Mundo”, Huaura – Lima

Abad Hurtado, Stepby Saavedra¹, Flores-Santos Juan Carlos¹, Cynthia Esquerre¹, Zavaleta Amparo Iris¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Biología Molecular, Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, PE.

La asparaginasa (ASNasa) es una enzima empleada en la industria farmacéutica y alimentaria para la Leucemia Linfoblástica Aguda y disminución de acrilamida (potencial cancerígeno), respectivamente. Sin embargo, los efectos adversos causados en muchos pacientes limitan el éxito del tratamiento. Por ello, es necesario la búsqueda de nuevas fuentes microbianas productoras de ASNasa. La albúfera “Medio Mundo”, ubicada en el distrito de Huacho (Lima), presenta gran variedad de flora y fauna. En este contexto, la diversidad microbiana presentes podrían producir ASNasa con potencial farmacéutico. El objetivo de este estudio fue aislar y caracterizar bacterias productoras de ASNasa.

Metodología: Se recolectaron fangos de la albúfera “Medio Mundo” y se cultivaron en Agar Tripticasa de Soya a 37 °C por 48 horas, después se seleccionaron colonias con características diferenciales de color, forma, tamaño y consistencia. Posteriormente, se realizó la identificación fenotípica por tinción Gram, actividad catalasa y pruebas bioquímicas como agar Hierro-Triple Azúcar, Citrato de Simmons y Sulfuro Indol Movilidad. La actividad de ASNasa se determinó en caldo azul de bromotimol compuesto por Medio Mínimo (M9), suplementado con asparagina 10 g/L; Glucosa 2 g/L y azul de bromotimol 0.07 g/L, se incubó a 37 °C por 48 horas, en caso positivo se observó coloración azul del medio. A las cepas seleccionadas se les evaluó a diferentes condiciones de crecimiento como temperatura (20, 37 y 50 °C) y pH (5, 7 y 9). Además, se amplificaron los genes ribosómicos 16S de las cepas productoras de asparaginasa y se cortaron mediante *Hae* III. Los productos de restricción se separaron mediante electroforesis en geles de agarosa. **Resultados:** Se aislaron 16 bacterias, las cuales presentaron características diferenciales en morfología y características bioquímicas. A la vez, los aislados fueron reconocidos como diez bacilos, cuatro cocos y dos cocobacilos y cuatro aislados hidrolizaron asparagina. El 50% de los aislados fermentaron glucosa, lactosa, sacarosa y citrato. Ninguno presentó movilidad. El análisis de los perfiles de restricción de los genes ribosómicos 16S indican la presencia de al menos seis especies diferentes. **Conclusión:** Se logró aislar al menos cuatro cepas diferentes molecularmente con potencial productor de ASNasa.

CONVENIO No 169-2017-FONDECYT

MI169

Estructura de la comunidad bacteriana y detección de bacterias capaces de utilizar 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) en plantas vasculares antárticas

Inostroza Nitza G¹, Acuña Jacqueline J.¹, Duran Paola A², Luis Marileo G.¹, Viscardi Sharon², Fumito Maruyama³, Jorquera Milko A¹. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, CL. ⁽²⁾ Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos, Universidad de La Frontera, Temuco, CL. ⁽³⁾ Department of Microbiology, Kyoto University, Kyoto, JP.

Bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) contribuyen al crecimiento y sobrevivencia de plantas mediante diversos mecanismos, tales como la hidrólisis enzimática del compuesto 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC). En ambientes extremos, las bacterias han co-evolucionado con sus plantas huésped desarrollando mecanismos adaptativos para enfrentar a las condiciones locales adversas. En este contexto, estudios recientes en plantas vasculares antárticas (*Deschampsia antarctica* y *Colobanthus quitensis*) han revelado la asociación de una gran diversidad bacteriana, atribuyéndole a algunos aislados un potencial PGPB. El objetivo del presente estudio fue comparar las estructuras de las comunidades bacterianas presentes en diferentes compartimentos (rizósfera, endósfera y filósfera) de plantas antárticas, y determinar la ocurrencia de bacterias capaces de utilizar ACC como fuente de nutriente. Muestras de *D. antarctica* y *C. quitensis*, y sus respectivos suelos rizosféricos, fueron obtenidos desde las Islas Shetland del Sur y Península Antártica (ECA53-2017). Las estructuras de las comunidades bacterianas fueron reveladas a través de PCR-DGGE (gen 16S ARNr) y la capacidad de utilizar ACC por diversos aislados fue testeada utilizando el medio DF suplementado con ACC como única fuente de nitrógeno. El análisis nMDS derivado de los geles PCR-DGGE mostró que las comunidades bacterianas de la rizósfera difirieron (60%) en comparación a aquellas de la endósfera y la filósfera. Coincidentemente los recuentos mostraron una mayor abundancia de bacterias en rizósfera ($1 \sim 10 \times 10^6$ UFC g⁻¹ suelo) en comparación con endósfera ($1 \sim 5 \times 10^4$ CFU g⁻¹ tejido) y filósfera ($1 \sim 5 \times 10^5$ CFU g⁻¹ hoja). De un total de 536 aislados (75% de rizósfera, 17% de endófito y 8% de filósfera), 131 aislados (24 %) fueron capaces de utilizar ACC y crecer en medio DF, distribuyéndose los aislados en 83 de rizósfera, 1 de endósfera y 47 de filósfera. El presente estudio reveló que a pesar de las diferencias en las comunidades bacterianas, potenciales PGPB (basado en la utilización de ACC) pueden estar distribuidas en diferentes compartimentos de las plantas. Futuros trabajos estarán enfocados a confirmar la hidrólisis enzimática del ACC por los aislados y la utilidad de éstos para mejorar el crecimiento de plantas expuestas a estreses abióticos.

Agradecimientos: FONDECYT Regular no. 1160302 e INACH Regular RT_02_16



MI170

Análisis de la microdiversidad de poblaciones de *Acidithiobacillus* a lo largo de un gradiente natural de acidez extrema

Francisco Issotta¹, Ivette Olave¹, Ana Moya-Beltrán¹, Yasna Gallardo¹, Daniel Garrido¹, Ricardo Ulloa², Patricia Chiachiarini², Alejandra Giaveno², Raquel Quatrini¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Ecofisiología Microbiana, Fundación Ciencia y Vida, Santiago, CL. ⁽²⁾ PROBIEN, Universidad Nacional del Comahue, Neuquén, AR.

El sistema geotérmico Copahue-Caviahue-ChanchoCo es un entorno natural extremo ubicado en la cordillera de los Andes al norte de Patagonia. Dos manantiales hidrotermales surgen cerca del cráter del volcán Copahue y dan origen al río "Agrio", una cuenca hidrográfica de características únicas en América del Sur. A lo largo de su recorrido, desde la fuente hasta el lago Caviahue y aguas abajo del lago por otros 40 km, el río presenta un amplio gradiente de pH (pH 0,5-8,5), temperatura (10-80 °C) y conductividad (0,5-500 mS/cm). A lo largo de este gradiente ambiental coexisten varios taxones de bacterias acidófilas extremas, incluidos diversos representantes del complejo específico *Acidithiobacillus*. En este estudio, se explora la distribución y variabilidad de las poblaciones de *Acidithiobacillus* que habitan la cuenca de Agrio-Caviahue utilizando estrategias genómicas y moleculares. A partir de muestras de agua colectadas en cinco puntos a lo largo la cuenca se recuperó la biomasa microbiana para el aislamiento selectivo de microorganismos del complejo *Acidithiobacillus*. Se empleó tanto plaqueo directo como enriquecimiento en diversos medios y condiciones de incubación. En cada sitio muestreado se registraron además metadatos, como pH, temperatura y conductividad. Los aislados recuperados de cada sitio fueron tipificados mediante secuenciación y comparación del amplicón del gen codificante para el rRNA 16S (F27-R1492). Empleando estrategias de análisis filogenético y oligotipificación de dicho gen, se analizó la variabilidad de los aislados recuperados del sistema. Este estudio reveló la presencia de diversos linajes del complejo *Acidithiobacillus* a lo largo de la cuenca (1C, 4C) y la coexistencia de varios sublinajes en ciertos puntos del gradiente (1C, 2B, 4C). Adicionalmente, se identificaron sublinajes de ocurrencia diferencial a lo largo de la cuenca (1A, 3C). La variabilidad genética y fenotípica de aislados representativos de los diversos sublinajes se evaluó mediante campos pulsados, secuenciación genómica y perfiles de uso de fuentes de energía. Con el fin de obtener información sobre los procesos ecológicos y evolutivos que estructuran y mantienen la diversidad microbiana en este ecosistema, los resultados generados se analizan en el contexto de la metadata ambiental a través de análisis estadísticos multivariados.

AFB170004, FONDECYT 1181251 (RQ), Becas CONICYT 21160871 (FI) y 21171049 (AMB).

MI171

Comunidad rizobacteriana de *Cisthante* sp. (Pata de Guanaco) durante el Desierto Florido y su potencial actividad promotora del crecimiento vegetal

Marcia Astorga¹, Prabhakaran Renganathan¹, Susett Gonzalez¹, Alexandra Stoll², **Milko Alberto Jorquera**³. ⁽¹⁾ Programa de Doctorado en Ciencias de Recursos naturales, Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, CL.

⁽²⁾ Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas, Universidad de La Serena, La Serena, CL. ⁽³⁾ Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, CL.

El desierto florido (DF) es un fenómeno que se origina debido a precipitaciones cortas e infrecuentes en la parte sur del Desierto de Atacama. Cuando esto ocurre, se produce la germinación y floración de más de 200 plantas nativas, únicas de este ecosistema. Aun cuando estudios recientes realizados en diversos ambientes de nuestro país, incluyendo ambientes extremos, indican la presencia natural de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) asociadas con plantas, no existen mayores estudios sobre PGPR asociadas a plantas nativas durante DF. Los objetivos de este trabajo fueron describir la composición de la comunidad rizobacteriana de *Cisthante* sp. (Pata de Guanaco), una planta representativa del DF, y aislar potenciales cepas PGPR desde su rizósfera. Se tomaron muestras de suelo rizosférico de dos eventos de DF durante los años 2014 y 2015. El ADN total se extrajo desde las muestras mediante un kit comercial y se construyeron librerías de genes 16S ARNr a través de secuenciación de alto rendimiento. Luego, la asignación taxonómica de las librerías se realizó mediante el uso del software QIIME y su procedimiento estándar. En general, en ambos años los resultados mostraron una alta abundancia relativa (expresada en OTUs) de miembros de los filo *Proteobacteria* (72~33%) y *Actinobacteria* (38~9%). Posteriormente, durante el último evento de DF en 2017 nuevamente se extrajeron muestras de rizósfera de *Cisthante* sp. a partir de las cuales se obtuvieron aislados que presentaron mecanismos PGPR *in vitro*, tales como la capacidad de solubilizar fósforo, producir ácido indol acético y presentar actividad 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminasa. Este estudio describe la composición de la comunidad rizobacteriana durante los eventos de DF y confirma la asociación natural de potenciales PGPR en ambientes extremos de Chile. Sin embargo, mayores estudios son requeridos para determinar las interacciones planta-bacteria durante el DF.

Proyecto FONDECYT no. 1160302 y Beca de Doctorado Nacional de Conicyt no. 21151002.

MI172

Counts comparison on Effective Microorganisms (EM) from different soils: forest and coffee plantation

Oliveira Mariana Marsaglia¹, Korres Adriana Marcia Nic¹, Ribeiro Sheila Souza Da S¹, Bringhenti Jacqueline Rogéria¹.

⁽¹⁾ Engenharia Sanitária e Ambiental, Ifes, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo - Ifes, Vitória, BR.

Studies on effective microorganisms (EM) began on the 1970's and among its uses are the improvement of soil and composting acceleration. Traditionally, the suspension is obtained from forest soil, but the search for suspensions obtained from soils of specific crops and applied in the same place may be biotechnological alternatives. Few information is available about microbiota diversity and characteristics of EM suspension obtained from different soils. This work aimed to characterize and compare microbiota from EM suspension from two different soils, forest (Forest-EM) and coffee crop soil (Coffee-EM). Traditional methodology was used to produce the suspensions from different soils. Microbial screening focused on global count of heterotrophic bacteria, lactose-fermenting bacteria, molds and yeasts, and Actinomycetes by serial dilutions and plate counting agar technique. Presence of *Escherichia coli* was determined by the chromogenic substrate method and pH by the pH tapes. Results pointed there are differences in the number of colony forming units/mL (CFU/mL) of suspension from both soils. Counts of global heterotrophic microorganisms was very close for Forest-EM and Coffee-EM, 1.015×10^5 and 1.28×10^5 CFU/mL, respectively. This group is important because can stimulate the growth of important microbial populations, such as nitrogen fixing bacteria and Actinomyces. Lactose-fermenting bacteria counts were higher for Forest-EM, 2.38×10^4 CFU/mL, comparing to 1.14×10^4 for Coffee-EM. The importance of this group is concerned to lactic acid production and control of some pathogenic microorganisms. Molds and yeast counts were 2.09×10^4 and 1.64×10^4 CFU/mL for Forest-EM and Coffee-EM, respectively, showing a small difference in numbers for this group. Coffee-EM showed higher Actinomycetes count, 4.3×10^3 CFU/mL, compared to 2.6×10^3 CFU/mL for Forest-EM. *Escherichia coli* was not found in any suspension, indicating absence of pathogenic microorganisms and pH values were 4 for both suspensions obtained. In conclusion, microbial counts point differences in number and diversity of groups, indicating that EM can be obtained from different soils. The contribution brought by this work with the knowledge of EM production may be applied to areas as composting and, or soil enhancement of coffee crops.

Ifes

MI173

Contrasted methanogenic activity of sub-Polar wetlands in climate change context.

Céline Lavergne¹, Polette Aguilar¹, Sebastián Olivares², Natalia Calle², Maialen Barret³, Chamy Rolando ¹, Cabrol Léa⁴.

⁽¹⁾ Escuela Ingeniería Bioquímica, Laboratorio Biotecnología Ambiental, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Ingeniería Civil Ambiental, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL. ⁽³⁾ Laboratoire Ecologie Fonctionnelle, Université de Toulouse, Castanet-Tolosan, FR. ⁽⁴⁾ Mediterranean Institute of Oceanography, Aix-Marseille University, Univ Toulon, Marseille, FR.

Due to organic matter accumulation and anaerobic microbial processes, wetland ecosystems are known to contribute greatly to global warming through methane emissions. Polar wetlands are more strongly affected by climate change, resulting in expected modifications of microbial community structure and methanogenesis activity rate, leading to a positive feedback on regional methane budget and global warming. Yet, the outcome of temperature increase on methanogenic communities and processes in Sub-Antarctic wetlands in comparison with their Sub-Arctic counterparts has not been investigated to date. In this study, the screening of methane production rate in lake sediments and peatlands from 10 Sub-Antarctic ecosystems (Patagonia to Cape Horn, Chile) collected in austral summer, highlighted the heterogeneity of methanogenic activities between the considered ecosystems, with regional specificities and higher potential in lake sediments. In controlled microcosm incubations, methane production pathway was mainly acetoclastic and increased temperature (5-10-15-20°C) resulted in enhanced methane production rate. Interestingly, the hydrogenotrophic activity was important at 20°C but very low below 15°C. The most temperature-sensitive samples were identified by comparison of modeled energy activation. While the functional gene involved in methanogenesis (*mcrA*) did not exhibit clear pattern with temperature, it was enriched after incubations compared to the abundance of this gene *in-situ*. Microbial diversity will be investigated by high-throughput sequencing of bacterial and archaeal 16S rRNA genes in order to record the change of microbial communities of environmental samples and in each tested conditions.

ERANET-LAC (ELAC2014/DCC-0092, PI: Dr Maialen Barret and Dr Léa Cabrol) – METHABASE // ECOS (PI:Dr Léa Cabrol, Folio n°C16B03) - MATCH

MI174

Bacterias como simbioses adicionales en líquenes: Estudio comparativo con la microbiota del sustrato

Diego Leiva¹, Fernando Fernández-Mendoza², José Acevedo¹, Margarita Carú¹, Martin Grube², Julieta Orlando¹.

⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Division of Plant Sciences, Institute of Biology, University of Graz, Graz, AT.

Los líquenes son organismos definidos clásicamente como interacciones mutualistas, donde los simbioses son un hongo filamentoso (micobionte) y un componente fotoautótrofo (fotobionte) que puede ser un alga clorófito, una cianobacteria, o ambos. El uso de técnicas moleculares y de microscopía ha permitido encontrar una insospechada diversidad de microorganismos asociados a los líquenes, tales como arqueas, otros hongos y principalmente bacterias. De acuerdo con esto, se ha propuesto la existencia de varios nuevos simbioses en base a sus posibles funciones en contextos particulares. Estos nuevos simbioses pueden provenir de distintos orígenes, los más específicos podrían perpetuarse a través de los propágulos reproductivos; otros, adquirirse desde el sustrato donde los líquenes se desarrollan. En este trabajo estudiamos la preferencia de líquenes por diversos grupos bacterianos, comparando de forma pareada la diversidad bacteriana en 10 cianolíquenes de la especie *Peltigera frigida* y en el sustrato donde éstos crecen. Las muestras fueron obtenidas en la Reserva Nacional Coyhaique (Región de Aysén), en dos sitios donde la cobertura arbórea varía entre árboles nativos y plantaciones exóticas. Las comunidades bacterianas fueron caracterizadas por secuenciación de amplicones del gen rDNA 16S mediante Illumina®, utilizando partidores que excluyen de la amplificación a cianobacterias y plastidios. El análisis de secuencias se realizó utilizando la plataforma QIIME 2™, con referencia en la última edición de la base de datos SILVA. La preferencia de los líquenes por los grupos bacterianos se calculó utilizando el índice de electividad relativizado (E_i^*) de Vanderploeg y Scavia, que varía entre -1 y 1, donde 0 indica electividad neutral. En resumen, los resultados indican que los líquenes tendrían una alta selectividad, evitando o prefiriendo determinados componentes bacterianos. Filos como Planctomycetes y Acidobacteria serían altamente ignorados, ya que los órdenes de estos grupos muestran valores de E_i^* cercanos a -1. Al contrario, varios órdenes de alfaproteobacterias entregan valores de E_i^* mayores a 0; obteniéndose particularmente para Sphingomonadales un valor promedio de 0,8 con baja desviación estándar. Esto, junto con su baja abundancia en los sustratos, sugiere que los miembros de este orden bacteriano podrían considerarse simbioses específicos y se perpetuarían a través de los propágulos del líquen.

CONICYT-PFCHA 2016-21161693, FONDECYT 1181510

MI175

Análisis metagenómico de un consorcio arsénico-tolerante dominado por *Acidithiobacillus* spp. recuperado del Rio Agrio (Neuquén, Argentina)

Maria Alejandra Lima¹, Francisco Issotta², Ana Moya-Beltrán², Maria Urbieta¹, Raquel Quatrini², Edgardo Donati¹.

⁽¹⁾ CINDEFI (Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. ⁽²⁾ Laboratorio de Ecofisiología, Fundación Ciencia & Vida, Santiago, CL.

El Rio Agrio recorre la zona geotermal Caviahue-Copahue constituyendo un ambiente extremo natural caracterizado por aguas ácidas con alto contenido de azufre y hierro, como con presencia de arsénico. Las condiciones descritas convierten a este ambiente en una importante fuente de microorganismos extremófilos potencialmente valiosos en aplicaciones biotecnológicas industriales y ambientales. Este es el caso de las bacterias acidófilas, azufre y/o hierro oxidantes del género *Acidithiobacillus*, cuyo uso en biolixiviación es ampliamente reconocido. En función de las características de este ambiente se prospectaron muestras del río, específicamente de Salto del Agrio, en busca de consorcios microbianos acidófilos y arsénico-tolerantes, con presencia de representantes del género *Acidithiobacillus*. Las muestras obtenidas se sometieron a enriquecimientos en medio MAC pH3, suplementado con S⁰ y cantidades crecientes de As(III) (hasta 15 mM) a 30°C. El metagenoma del consorcio seleccionado mostró una baja diversidad específica con dominancia de bacterias del género *Acidithiobacillus* spp., las cuales constituyen un 82% del total de las secuencias obtenidas. La asignación taxonómica de los representantes del complejo específico *Acidithiobacillus* se reevaluó empleando bases de datos curadas privadas y estrategias bioinformáticas que logran mayores niveles de resolución, en base a: 1) el oligotipado de las secuencias recuperadas del gen 16S rRNA y 2) el análisis de los perfiles de polimorfismos únicos de secuencia en múltiples genes *housekeeping*. Según éstos, las principales especies representadas en la muestra fueron los hierro-oxidantes *A. ferrooxidans* (73,8% coverage), *A. ferridurans* (68,7% coverage) y *A. ferrivorans* (40,1% coverage). El ordenamiento de los contigs contra cepas de referencia permitió recuperar el genoma borrador de la especie mayoritaria y segmentos parciales de las otras dos. El genoma derivado de metagenoma (MGDG) de *A. ferrooxidans* presenta un %G+C de 59,2, un tamaño de 3,0 Mbp y una identidad nucleotídica promedio (ANI) de 95,6% vs. la cepa ATCC 23270, que da cuenta de la divergencia genómica entre ambas. Empleando este *draft genome* y estrategias de reconstrucción metabólica se analizó la respuesta de tolerancia a arsénico del taxón dominante. Los resultados obtenidos se discuten en el contexto de la respuesta de tolerancia a arsénico descrita con anterioridad para este taxón.

AFB 170004, FONDECYT 1181251 (RQ), Becas CONICYT 21160871 (FI) y 21171049 (AMB). PEEPg (AUGM).



MI176

Microbiota bacteriana asociada a nidos de aves en un gradiente latitudinal en Chile central

Mercedes Lizama¹, Susana Vera¹, Natali Zamora¹, Carolina Yañez¹, Carvallo Gastón O.². ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Ecología Vegetal, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL.

Los nidos de aves generan un ambiente propicio para el establecimiento y desarrollo de comunidades bacterianas de diversos orígenes (ej. material vegetal, suelos, animales) las que pueden establecer interacciones negativas (patogénicas) o positivas (simbióticas) con las aves. Complementariamente, las bacterias pueden participar en la descomposición del material del nido y asociarse simbióticamente con semillas de plantas que germinan dentro de estas estructuras. A pesar de la importancia de las bacterias en diversas funciones ecológicas dentro de los nidos de las aves, existen escasos estudios que hayan abordado la caracterización microbiológica de estas estructuras. En este trabajo se evaluó la composición y la variación espacial de las comunidades bacterianas asociadas a nidos de tres especies de aves Passeriformes presentes en Chile central a lo largo de un gradiente latitudinal de 106 km. Se realizó un análisis de las comunidades bacterianas presentes en 18 nidos en desuso (6 por especie) obtenidos de 4 sitios utilizando la técnica de DGGE. Paralelamente, se realizaron recuentos de bacterias heterótrofas en cada uno de los nidos y se aislaron cepas bacterianas. Además, se estudió la diversidad de los aislados obtenidos mediante REP-PCR. Los resultados muestran que el recuento de bacterias heterótrofas se encuentra entre 1.2×10^6 y 1.7×10^7 UFC/g y una media de 20 aislados por nido. El análisis de los perfiles DGGE indican diferencias en la composición bacteriana remanente entre las especies de aves y variación intra-específica asociada a la localidad. Nuestros resultados evidencian una alta variabilidad de la microbiota bacteriana remanente en los nidos, sugiriendo una alta especificidad determinada por la especie de ave y por el sitio de nidificación. Se proyecta el posible análisis mediante secuenciación masiva de las comunidades bacterianas de nidos seleccionados en base a los perfiles obtenidos por DGGE.

FONDECYT 11150301; Proyecto PUCV 122.764/2018.



MI177

Reconstruction of bacteria genomes through analysis of abundance changes between contrasting environmental conditions

Jonathan Maldonado¹, Dinka Mandakovic¹, Alexis Gaete¹, Verónica Cambiazo¹, Mauricio González¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Santiago, CL.

Current developments in metagenomics allow us to describe associations between community properties and features of their environment. The next step should be to determine the relative contribution of different taxa to the global function of the bacterial community. The goal of the present work is to use and develop bioinformatic tools to discriminate taxa-specific genomes inside a metagenome to understand the relationship between changes in the relative abundance of bacterial community members that face abiotic variations, and their functional capacities responsive to these changes. We extracted DNA from soil of six sites of the Andean steppe at central Atacama Desert that present differences in environmental variables and nutrient composition. This DNA was sequenced by Illumina (102 Gb of total data), and samples were assembled in scaffolds using IDBA-UD. The scaffolds were binned by abundance on each sample and sequence tetramers frequency. These subgroups were reassembled to obtain final genomes that represent taxa-specific genomes. At this time, we have been able to assembly 195 draft genomes of novel bacteria with contrasting abundances among sample sites, and our ongoing work is focused to increase this number with gold standard genomes. Functional analysis of those genomes revealed significant differences from the corresponding metagenome functional patterns. Our work reveals that environment drives a selection over the components of a community, and those components do not necessarily follow the community functional pattern. This new approach of taxa-specific discrimination of genomes will help to understand the processes that cause the adaptation of these organisms to extreme environment. At this point we know about the coding potential of our communities, however, it's necessary to go further. Thinking on that our next step is to measure the transcriptional signature of this microbiomes to evaluate the genome regulation process that could lead to environmental adaptation.

FONDAP CGR N°15090007, FONDECYT N°1151384, FONDECYT N°1160802 and CONICYT Doctoral Fellowship N°21120313



MI178

Structure and co-occurrence patterns in microbial communities under acute environmental stress reveal ecological factors fostering resilience

Dinka Mandakovic¹, Jonathan Maldonado¹, Alexis Gaete¹, Claudio Latorre², Gutiérrez Rodrigo A.³, Alejandro Maass⁴, Verónica Cambiazo¹, Navarrete Sergio A.⁵, Damien Eveillard⁶, Mauricio González¹. ⁽¹⁾ INTA, INTA, Universidad de Chile. ⁽²⁾ Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Millennium Nucleus Center for Plant Systems and Synthetic Biology, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Mathomics Center for Mathematical Modeling, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁵⁾ Estación Costera de Investigaciones Marinas and Center for Marine Conservation, Pontificia Universidad Católica de Chile, Las Cruces, CL. ⁽⁶⁾ LS2N, UMR CNRS, Université de Nantes, Nantes, FR.

Understanding the factors that modulate bacterial community assembly in natural soils is a longstanding challenge in microbial community ecology. In this work, we tried to identify some of these factors by comparing two microbial co-occurrence networks representing bacterial soil communities from two different sections of a pH, temperature and humidity gradient occurring along a western slope of the Andes in the Atacama Desert. A topological graph alignment of co-occurrence networks was used to determine the impact of a shift in environmental variables on OTUs taxonomic composition and their relationships. We observed that a fraction of association patterns identified in the co-occurrence networks are persistent despite large environmental variation. This apparent resilience seems to be due to: (1) a proportion of OTUs that persist across the gradient and maintain similar association patterns within the community and (2) bacterial community ecological rearrangements, where an important fraction of the OTUs come to fill the ecological roles of other OTUs in the other network. Actually, potential functional features suggest a fundamental role of persistent OTUs along the soil gradient involving nitrogen fixation. Our results allow identifying factors that induce changes in microbial assemblage configuration altering specific bacterial soil functions and interactions within the microbial communities in natural environments.

FONDECYT 1151384, 3170523 and 1160802; FONDAF 15090007; CONICYT PhD fellowship 21120313.

MI179

Estudo da influência dos exsudatos da planta na ecologia de *Methylobacterium* spp. durante a interação com a planta hospedeira

Maria Alejandra Mantilla-Galindo¹, Dourado Manuella Nóbrega¹, Salgueiro-Londoño Jennifer Katherine¹, Araújo Wellington Luiz ¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas II, Universidade de São Paulo, Brazil, São Paulo, BR.

O gênero *Methylobacterium* estabelece interações epifíticas ou endofíticas com diferentes espécies vegetais. O estabelecimento dessa interação requer de uma comunicação química coordenada entre ambas partes, em que os exsudatos da planta hospedeira podem regular a especificidade do processo de colonização. Tem sido mostrado, que a linhagem *Methylobacterium mesophilicum* SR1.6/6 apresenta um maior crescimento na presença de exsudatos vegetais, os quais induzem uma alteração no padrão da expressão de genes possivelmente envolvidos na colonização (transporte de açúcares, atividade catalítica, formação de biofilme, metabolismo primário e genes envolvidos em resposta antioxidante). Assim, neste trabalho foram analisadas e caracterizadas fisiologicamente doze linhagens de *Methylobacterium* spp., bem como o efeito destes isolados sobre a germinação de soja (*Glycine max*), visando a entender o padrão de interação de *Methylobacterium* spp. com a planta hospedeira. Foi avaliado o crescimento *in vitro* por um período de cinco dias e a sobrevivência em solo esterilizado por 90 dias. Os resultados de cinética de crescimento *in vitro* demonstraram que as 12 linhagens formam dois grupos (G1 e G2), os quais não correlacionam com o perfil de crescimento no solo. Após 90 dias observou-se que as doze linhagens sobreviveram no solo, sendo as linhagens R12E e R16E as que apresentaram uma maior sobrevivência neste tempo de amostragem. Foi observado também, que dez linhagens de *Methylobacterium* spp. influenciaram positivamente o desenvolvimento da raiz de sementes de soja, sendo que AR1.6/2, SR1.6/6, MP2-3 e F7 induziram um maior crescimento radicular. Por último, foram desenhados *primers* específicos para a detecção de três conjuntos de isolados. Com base nos resultados parciais, pode-se concluir que não foi observada correlação entre o desenvolvimento *in vitro*, a sobrevivência em solo esterilizado e a atividade de promoção de *Methylobacterium* durante a interação com a planta hospedeira.

Fundação de Amparo À Pesquisa do Estado de São Paulo- FAPESP (Processo Nº 2017/03422-4 e 2017/12510-4).

MI180

Distribuição genótipo-dependente de comunidades bacterianas relacionadas à promoção do crescimento em rizosfera de batata-doce

Marques Joana Montezano¹, Jackeline De Lacerda², Da Silva Thais Freitas², Camila Rattes², Pamella De Souza², Rosiane De Sousa¹, Kadmiel Pereira¹, Simone Cotta³, Lucy Seldin². ⁽¹⁾ Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, BR. ⁽²⁾ Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽³⁾ Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, BR.

Alguns fatores como estágio de desenvolvimento, espécie e genótipo da planta podem afetar comunidades microbianas próximas às raízes. Além disso, genótipos de plantas podem influenciar no recrutamento de micro-organismos benéficos e específicos à rizosfera pela secreção de exsudatos radiculares. Em um estudo anterior, foi demonstrado que a idade e o genótipo da planta influenciaram na composição de comunidades bacterianas endofíticas associadas à batata-doce. A hipótese de que esses mesmos genótipos também poderiam influenciar a composição de comunidades bacterianas relacionadas à solubilização de fosfato e fixação de nitrogênio em sua rizosfera foi testada no presente estudo. Para tal, solo de rizosfera dos genótipos IPB-149, IPB-052 e IPB-137 foram coletados três e seis meses após o plantio da batata-doce. O DNA da comunidade total foi extraído do solo e analisado por PCR-DGGE, e PCR em tempo real (qPCR) baseada no gene *alp* (enzima fosfatase alcalina) e no gene *nifH* (enzima nitrogenase). A análise de agrupamento mostrou que a idade da planta não afetou a comunidade bacteriana relacionada à fixação de nitrogênio. Corroborando a análise do agrupamento e Análise de Componentes Principais (PCA), a análise estatística das bandas de DGGE (teste de permutação, $P < 0,05$) mostrou que as bactérias fixadoras de nitrogênio do IPB-052 diferiram estatisticamente dos genótipos IPB-149 e 137 após seis meses de plantio. Cinco bandas de *nifH* foram extraídas do gel DGGE, sequenciadas e identificadas como sequências parciais de nitrogenase de *Kosakonia oryzae* (identidade=99%), *Lusitaniella coriacea* (98% e 100%), *Bradyrhizobium* sp. (99%), *Azohydromonas australica* (97%). Já a análise estatística de DGGE mostrou que a idade da planta possuiu influência na comunidade bacteriana relacionada à solubilização de fosfato na rizosfera de IPB-137. A comunidade bacteriana da rizosfera de IPB-137, analisada pelo gene *alp*, também apresentou diferenças significativas em relação ao IPB-149 nos dois períodos de amostragem ($P < 0,05$). A análise do PCA confirmou os resultados estatísticos. Além disso, percebeu-se que o número de cópias do gene *alp* aumentou significativamente na rizosfera IPB-137 após seis meses do plantio. Esses dados sugerem que as comunidades bacterianas relacionadas a promoção do crescimento em plantas de batata-doce tiveram sua composição influenciadas pelos genótipos estudados.

CNPq, PROPESP, PROINTER/UFGA

MI181

Transcriptome analysis of the interaction between the endophyte *Curtobacterium* sp. and the phytopathogen *Xylella fastidiosa*

Pierry Paulo M.¹, Dourado Manuella N.², Araujo Wellington L.², Da Silva Aline M.¹. ⁽¹⁾ Biochemistry Department, Chemistry Institute, University of Sao Paulo, Sao Paulo, BR. ⁽²⁾ Microbiology Department, Biomedical Sciences Institute, University of Sao Paulo, Sao Paulo, BR.

Xylella fastidiosa is a phytobacteria strictly inhabiting the xylem vessels of its plant hosts. It is responsible for causing several diseases in economically important crops. Along more than two decades a number of studies of epidemiology, biochemistry, molecular biology, genetics and genomics have been done to understand the pathogen's biology and virulence mechanisms. Moreover, gene expression studies were performed to investigate how the bacteria respond to different growth conditions and various stresses. One stress that *Xylella* can encounter in its natural environments is the competition for resources against other microorganisms. In a previous work describing citrus endophytic microbial community, species of the genera *Methylobacterium* and *Curtobacterium* were found interacting with *X. fastidiosa*, eventually minimizing the pathogen's growth. Thus, the present work aims to describe and compare the complete transcriptomes of *X. fastidiosa* strain 9a5c and *Curtobacterium* sp. strain ER1/6 as isolated culture and when both bacteria are cultured together. For that, one third of the volume of each culture, previously grown until similar cell-density, were mixed to obtain the co-culture. The remaining volume was used as the single culture samples and all flasks were incubated for additional 24h. Total RNA was extracted and respective mRNA-enriched cDNA libraries were prepared and sequenced using Illumina MiSeq platform. Analysis and comparison of the results obtained from three biological replicates showed that more than 74% of the genes are expressed in all transcriptomes, mostly with low expression values (FPKM<100). Differential gene expression analysis found 677 genes differently expressed in the comparison between isolated culture of 9a5c and the co-culture, while 401 genes were found in the same comparison for ER1/6. Mostly of the ER1/6's positively regulated genes in the co-culture are related to nutrient metabolism, while 9a5c seems to be trying to cope with this stress condition. Thus, we can affirm that the direct interaction between these two bacteria modulated gene expression, suggesting an indirect battle for nutrient resources rather than a killing war.

Coordination of Superior Level Staff Improvement (CAPES), University of Sao Paulo (USP)



MI182

Diversidad de genotipos tóxicos del complejo *Microcystis aeruginosa* en el gradiente ambiental Río Uruguay-Río de la Plata

Gabriela Martínez De La Escalera¹, Angel Segura², Carla Kruk³, Badih Ghattas⁴, Claudia Piccini¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología, MEC, IIBCE, Montevideo, UY. ⁽²⁾ Modelización y Análisis de Recursos Naturales, UdelaR, CURE, Rocha, UY. ⁽³⁾ IECA, Sección Limnología, UdelaR, Facultad de Ciencias, Montevideo, UY. ⁽⁴⁾ Institut de Mathématiques, Aix-Marseille University, Marseille, FR.

Entre las especies de cianobacterias asociadas a floraciones tóxicas en Uruguay y el mundo las que componen el complejo *Microcystis aeruginosa* (CMA) son las más frecuentes. Las especies de cianobacterias del complejo *Microcystis aeruginosa* (CMA) son capaces de producir toxinas y generar floraciones en diversos ecosistemas acuáticos (ej: Río Uruguay y Río de la Plata). Las diferentes especies del CMA e incluso poblaciones de una misma especie presentan variabilidad en su toxicidad, demostrándose que genotipos tóxicos y no tóxicos co-existen en una floración. La diversidad intraespecífica (por ej. a nivel de genotipos) del CMA podría ser un factor importante para la adaptación a las condiciones ambientales locales. Sin embargo, la relación entre el ambiente y la diversidad de genotipos es aún desconocida. Con el fin de avanzar en el conocimiento acerca de la diversidad de genotipos tóxicos del CMA se estudiaron las relaciones entre la diversidad de genotipos tóxicos y el ambiente mediante la combinación de la técnica molecular *High Resolution Melting Analysis* (HRMA) de un gen involucrado en la síntesis de microcistinas (*mcyJ*) con análisis de datos funcionales y árboles de clasificación y regresión (CART). Se obtuvieron las curvas de desnaturalización mediante HRMA (distribución de fluorescencia) para 6 sitios a lo largo del sistema Río Uruguay-Río de la Plata. A partir de ellas se extrajeron los coeficientes (variable de respuesta) que luego fueron analizadas mediante un CART funcional para evaluar que variables ambientales (variables explicativas) segregan a las diferentes poblaciones. Según el CART, la temperatura, la conductividad y la turbidez fueron las variables más relevantes que explicaron la distribución de los diferentes genotipos en el gradiente. Estos resultados novedosos sugieren que el enfoque desarrollado utilizando HRMA y CART funcional son útiles para identificar las variables ambientales que seleccionan diferentes poblaciones tóxicas de CMA. Esta combinación de herramientas moleculares y estadísticas abren una nueva vía de trabajo para comprender el ensamblaje comunitario y su relación con el ambiente a nivel molecular.



MI183

Prospección de la microbiota bacteriana cultivable del desierto de Atacama

Felipe José Maza¹, Javiera Vásquez¹, Alexis Gaete^{1,2}, Dinka Mandakovic^{1,2}, Jonathan Maldonado^{1,2}, Mauricio González^{1,2}.

⁽¹⁾ Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Centro de Regulación del Genoma (CRG), Universidad de Chile, Santiago, CL.

El desierto de Atacama representa un ecosistema extremo, de alta complejidad, con una microbiota que despierta un interés creciente en la comunidad científica debido a su alto potencial biotecnológico. Las condiciones de alta radiación y salinidad, baja disponibilidad de agua y nutrientes, marcada oscilación de la temperatura, etc. que impone el desierto de Atacama, promueve la adquisición de propiedades metabólicas únicas a los organismos que lo habitan. Por ello, hemos iniciado un trabajo de prospección y recuperación de microorganismos bacterianos de suelos del desierto de Atacama, de manera tal de obtener un paisaje taxonómico y funcional de su microbiota bacteriana cultivable. Para ello, se realizó una toma de muestras de suelo en 3 sitios de la ladera oeste de la cordillera de los Andes en la región central del Desierto de Atacama, entre la laguna Lejía y el pueblo de Talabre. La microbiota del suelo fue recuperada mediante cultivo en medio LB enriquecido con extracto de suelo en múltiples condiciones: alta y baja temperatura (30 y 15 °C), medios ricos y pobres de nutrientes (LB y 10% LB), y aero y anaerobiosis. De estos cultivos se obtuvieron cerca de 1000 colonias bacterianas, de las cuales se seleccionaron 163 por morfología, para luego ser identificadas mediante su secuencia 16S rRNA. De acuerdo a los criterios de identidad de secuencia, origen y morfología de los aislados, se redujo el número de aislados únicos a 106. Estos 106 aislados se agrupan en 11 géneros pertenecientes a 4 filos: Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes y Proteobacteria. Se construyó un árbol filogenético para cada género y uno compuesto por todos los aislados, utilizando el software MEGA. Al contrastar la microbiota cultivable obtenida con estudios de microbioma de los mismos sitios, se observaron diferencias principalmente en el filo Acidobacterias (ausente del universo cultivable) y el filo Firmicutes (sobrerrepresentado entre los cultivables). Como conclusión, los esfuerzos de recuperación de microorganismos del desierto de Atacama representan un reflejo sesgado del microbioma local, pero permiten contribuir con el repertorio nacional de microorganismos y con el potencial metabólico que aquellos microorganismos poseen.

Proyecto FONDECYT N°1151384 y Proyecto Fondap N°15090007



MI184

A first insight into the metagenome and virome of a human impacted ecosystem in Patagonia

Mendez Katterinne N¹, Valenzuela Sandro L¹, Sergio Guajardo-Leiva², Beatríz Díez², Eduardo Castro-Nallar¹. ⁽¹⁾ Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago. ⁽²⁾ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

Microbes are fundamental drivers of ecosystems and their activities shape the biogeochemistry of the planet. Disruption of microbial ecosystem activities may result in pathogenic shifts that affect not only the environment but also human populations. Patagonia coast waters have been a place of high aquaculture activity (fish production in open-cages). During the aquaculture production process, fish are fed with feed with antibiotics to control pathogens that are detrimental for production. The presence of antibiotics in the water, could lead to the selection of microbes containing antibiotic resistance (AR) genes, or even, drive to the development of new AR mechanisms. We present the preliminary metagenome analysis of three sampling sites located at the head of the Comau fjord in Northern Patagonia (42° S), within a region of intensive open-cage salmon aquaculture. As we already have found, through a comparison with Tara Ocean data (global ocean sampling project), that the Comau's samples are unique regarding to their metagenomics sequences. We aim to, first, resolve the taxonomic and functional composition of the metagenome and virome of the samples, and second, resolve their resistome (i.e., presence of AR genes). Search for the presence/absence of genes conferring resistance to antibiotics, used by aquaculture for fish pathogens control, could give us a first clue regarding the human impact on this environment. Finally, this study will provide new insights into the microbial composition and environmental resistome of Patagonia coast water ecosystem.

CONICYT-FONDECYT de iniciación 11160905.

MI185

Densidade de bactérias heterotróficas na região estuarina do Porto de Santos, afetada pelo despejo de derivados de hidrocarbonetos e espuma formadora de filme aquoso proveniente de incêndio em terminal portuário

Chinellato Roberta Roberta AI¹, Doi Sonia Assami², Costa Vanessa Andrade², Zampieri Bruna Del Busso², Pinto Aline Bartelochi², Fontes Roberto Fioravanti¹, Oliveira Ana Julia Fernandes¹. ⁽¹⁾ Micromar, UNESP Litoral Paulista, UNESP Litoral Paulista, SANTOS. ⁽²⁾ Microbiologia Aplicada, UNESP Rio Claro, Rio Claro, BR.

A RMBS (Região Metropolitana da Baixada Santista) tem grande importância para o estado de São Paulo - BR, tanto por seu aspecto ecológico pela presença de áreas protegidas (Estuário Santos - São Vicente, manguezais e da Mata Atlântica), quanto pelo seu aspecto econômico, com intensas atividades industriais, portuárias e urbanas. A região é considerada exemplo de ocupações populacionais de grande impacto ambiental por abrigar o Porto de Santos, que é considerado o maior porto em movimento da América Latina, gerando grande influência na qualidade ambiental em relação à contaminação por petróleo e derivados. Em 2015, no Terminal Químico S. A. (TEQUIMAR) do estaleiro da Ultracargo, ocorreu o maior incêndio em área industrial do Brasil, tendo duração de nove dias com despejo de uma grande quantidade combustíveis, hidrocarbonetos derivados de petróleo e da espuma formadora de filme aquoso para conter o incêndio. A degradação de derivados de hidrocarbonetos por microrganismos, especialmente bactérias, é amplamente conhecida sendo sua presença amplamente distribuída nos oceanos e muitas vezes relacionada às concentrações presentes no ambiente. Este trabalho teve como objetivo analisar a variação da densidade de bactérias heterotróficas presentes no sedimento afetado pelo despejo de poluentes no estuário, pelo período de 6 meses. Amostras de sedimento foram coletadas e mantidas em MICROCOSMOS para posterior processamento em Ágar Nutriente utilizando a técnica de "Spread Plate". Após o período de adaptação, as densidades das bactérias nos MICROCOSMOS apresentaram um aumento exponencial, indicando uma grande atividade metabólica. A densidade inicial foi de $0,71 \times 10^4$ UFC/g e após 6 meses do incêndio observou-se uma densidade de $3,04 \times 10^4$ UFC/g. Algumas espécies de bactérias heterotróficas são descritas como degradadoras de hidrocarbonetos e formadoras de esporos, o que facilita sua permanência e dominância em sedimentos contaminados por muito tempo. Esses microrganismos são ubíquos na natureza e capazes de degradar diversos tipos de hidrocarbonetos de cadeia curta, cadeia longa e numerosos compostos aromáticos, incluindo os PAH (hidrocarbonetos aromáticos policíclicos). A presença da espuma e os hidrocarbonetos policíclicos (HPAS), somada à contaminação crônica pré-existente, pode causar uma alteração na comunidade bacteriana, tendo em vista que poluentes orgânicos podem aumentar a diversidade.

MI186

Diversidade de espécies de *Trichoderma* oriundas de solo de sistemas agroflorestais

Amaral Ana Cláudia T.¹, **Mesquita Aline P.**¹, Silva Anderlechi B.¹, Costa Phelipe M.O.¹, Costa Antônio F.², Tiago Patrícia V.¹, Oliveira Neiva T.¹. ⁽¹⁾ Departamento de Micologia, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽²⁾ Departamento de Micologia, Instituto Agrônomo de Pernambuco, Instituto Agrônomo de Pernambuco, Recife, BR.

Os sistemas agroflorestais podem apresentar uma rica diversidade de espécies fúngicas ainda não estudadas, dentre elas espécies pertencentes ao gênero *Trichoderma*. Este estudo teve por objetivo identificar 15 isolados de *Trichoderma* provenientes de solo de sistemas agroflorestais. Para identificação morfológica foram observadas e avaliadas características microscópicas com auxílio de microscópio óptico, a partir de culturas crescidas em meio de cultura BDA a 25°C durante quatro dias em BOD, com alternância de luz. Para avaliação das características morfofisiológicas, as taxas de crescimento dos isolados foram determinadas em meio BDA (30, 35 e 40°C) e SNA (35°C), mantidas em BOD por quatro dias na ausência de fotoperíodo. A identificação molecular foi realizada utilizando-se o sequenciamento do fragmento amplificado da região do fator de alongamento da tradução TEF-1 α do DNA. Os dados do sequenciamento obtidos foram comparados com as sequências depositadas na plataforma GenBank. A partir dos dados morfológicos e moleculares obtidos constatou-se a ocorrência de sete espécies de *Trichoderma*, pertencentes a *T. longibrachiatum* (um isolado), *T. asperellum* (dois isolados), *T. afroharzianum* (dois isolados), *T. brevicompactum* (dois isolados), *T. breve* (um isolado), *T. asperelloides* (um isolado) e *T. atroviride* (seis isolados). Dentre estas espécies, *T. breve* constitui novo registro para o Brasil. Os resultados obtidos neste estudo evidenciam uma rica diversidade de espécies de *Trichoderma* em solos de sistemas agroflorestais que podem apresentar potencial de uso no manejo de doenças de plantas.

CAPES pela concessão de bolsa a Ana Cláudia Tenório Amaral e a Aline Pinheiro Mesquita.



MI187

Isolation and characterization of commensal bacteria from zebrafish embryos

Miranda-Cárdenas Camila A.³, De La Paz Javiera F.^{1,2,3}, Allende Miguel L.¹, Chávez Francisco P.³. ⁽¹⁾Laboratorio Zebrafish for Innovation and Research, Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾Laboratorio de Bioensayos, Danio Biotechnologies SpA, Santiago, CL. ⁽³⁾Laboratorio de Microbiología de Sistemas, Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Since early developmental stages, all vertebrates are subjected to an extensive colonization by a diverse microbiota living in the surrounding environment. Vertebrates have developed traits to sustain relations with commensal microbes during their life cycles. Particularly, teleost fish development occurs in the aquatic ecosystem, one of the most aggressive habitats. Several host models have been used to study the importance of commensal microorganisms during health and diseases. Particularly, zebrafish (*Danio rerio*), has been used as a host model to study live cell colonization of human and commensal microbes and its influence in innate immunity. Zebrafish have developed a completely and fully functional immune system with specific functional mechanisms for discriminating between the threats of a pathogenic origin and the signals that come from commensal microbes. Despite several resident microbes have been isolated in adult zebrafish, commensal microbes from early stages of zebrafish development remain unknown. In this study we have examined different culture conditions for isolation of commensal bacteria from zygote, perivitelline fluid and chorion from zebrafish embryos. In addition, live cell recruitment of immune cells were tracked during the manipulation of zebrafish embryos. Commensal bacteria from extra-embryonic and embryonic structures were isolated and further characterized by microscopic, metabolic, and molecular biology analyses. Several commensal bacteria were found in all embryonic structures and in all culture conditions used. Most commensal bacteria found were gram-negative and some belong to the Enterobacteraceae family. Our results suggest that the presence of these commensal bacteria in different embryonic structures of zebrafish zygote can be important for the correct embryonic development, and in particular for the correct activation of the innate immune system.

Centro FONDAP de Regulación del Genoma (15090007), Santiago, Chile. Servicios Biológicos Danio Biotechnologies, SpA. Santiago, Chile.

MI188

Bacterial structural composition in the rhizosphere of weeds in competition

Monteiro Cassemiro Larissa¹, Massensini André Marcos², Gallo Sergio Alberto Diaz¹, Costa Maurício Dutra³.

⁽¹⁾ Department of Microbiology, Federal University of Viçosa, Viçosa, BR. ⁽²⁾ Instituto Federal Goiano, Instituto Federal Goiano, Goiânia, BR. ⁽³⁾ Department of Microbiology, Researcher of Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Federal University of Viçosa, Viçosa, BR.

Plants have a strong influence on the microbial populations associated with their roots and when two plants are in competition, the structure of the rhizospheric bacterial community differs from that observed in monocultures. Several groups of bacteria present in the rhizosphere play important roles that can influence plant growth and ecological interactions established by them either positively or negatively. The aim of this work was evaluate the bacterial taxa present in the rhizosphere of weeds in competition and monoculture and relate them with growth-promoting activities already reported. The experiments were conducted in a greenhouse, at the Department of Microbiology, UFV. Three species of weeds, *Ageratum conyzoides* L., *Ipomoea ramosissima* (Poir.) Choisy, and *Bidens pilosa* L., were evaluated in monoculture or in competition with one another. DNA from the rhizospheric soil was extracted, and PCR amplification of the bacterial 16S rRNA gene was carried out to perform sequencing through the Illumina MiSeq platform. A total of 254,856 reads were obtained. Our results showed that the most abundant Phylum in all treatments of Bacteria were Acidobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi, Proteobacteria, and Verrucomicrobia ($p > 0.05$), and the most abundant Families were Acidobacteriaceae, Acidothermaceae, DA101 soil group, DA111, Sphingomonadaceae, and Xanthobacteraceae ($p > 0.05$). Many OTUs are shared by all treatments, however it was possible to classify taxonomically those that are exclusive for each treatment. Because of root exudation, the rhizosphere represents an environment rich in readily assimilable organic carbon. The β -Proteobacteria display copiotrophic characteristics, and are abundant in soils with high organic carbon availability. The Actinobacteria are capable of using a wide variety of carbon sources, including complex polysaccharides, a trait that may be responsible for the high abundance observed. Besides, this phylum includes bacteria that exert antagonism and biological control of plant pathogens and are capable of promoting plant growth by nitrogen fixation, synthesis of siderophores and phytohormones, and solubilization of minerals. The competition between weeds caused changes in the bacterial communities in the rhizosphere associated with them depending on the competition conditions. This rhizospheric community can interfere in the modulation of plant-plant interactions, affecting plant competitive ability.

CAPES, CNPq, FAPEMIG

MI189

Composição e origem do microbioma de ninhos de espuma de anuros

Monteiro Felipe A. C.^{1,2}, Bezerra Saulo G. S.³, Oliveira Francisca Andréa S.³, Hissa Denise C.⁴, Melo Vânia M. M.⁴.

⁽¹⁾ Departamento de Biologia / Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia (LEMBIOTECH), Doutorado em Biotecnologia, Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, BR.

⁽²⁾ Biologia, Ciências Biológicas, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), Campus Jaguaribe.

⁽³⁾ Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia (LEMBIOTECH), Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Biologia / Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia (LEMBIOTECH), Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, BR.

Ninhos de espuma são uma das várias estratégias reprodutivas desenvolvidas por algumas espécies de anuros. Esse curioso fenômeno fornece abrigo e proteção para seus ovos e larvas; podendo ser classificados como aquáticos, que flutuam sobre a lâmina d'água, ou terrestres, permitindo o desenvolvimento longe de corpos d'água. Essas bioestruturas são formadas por uma rede de proteínas e carboidratos que capturam água e bolhas de ar. Em adição, estudos recentes demonstram a presença de uma comunidade de microrganismos associados, o Microbioma dos Ninhos de Espuma (MNE). Até o momento, a composição do MNE é desconhecida, bem como o papel que essa biota representa para a estrutura e estabilidade nos ninhos. Desse modo, nossos objetivos foram: (1) Avaliar a origem do MNE, se é de origem parental ou ambiental; (2) Verificar a influência do ambiente de deposição, aquático ou terrestre, sobre o MNE; e (3) Analisar qual a influência da proximidade filogenética sobre a composição do MNE. Ninhos de espuma de três espécies (*Leptodactylus vastus*, *Physalaemus cuvieri* e *Adenomera hylaedactyla*) foram coletados em duas localidades do estado do Ceará, Brasil, bem como amostras do solo e água onde os NE haviam sido encontrados e de tecidos biológicos (pele, intestino e cloaca) da espécie *L. vastus*. O DNA total foi extraído utilizando kit comercial e/ou CTAB e a região hipervariável V4 do gene rRNA 16S foi amplificada e, posteriormente, sequenciada através da plataforma MiSeq Illumina. Os resultados preliminares demonstram que em média há uma maior representatividade do Filo Proteobacteria (>50%), seguida de Bacteroidetes (>10%), para as amostras de ninhos; Proteobacteria (>30%), Firmicutes e Actinobacteria (ambas >10%) para amostras dos ambientes e Firmicutes e Bacteroidetes (ambas >15%) para tecidos (principalmente intestino e cloaca). Análises apontam que o MNE das três espécies é mais semelhante entre si que quando comparados ao microbioma do ambiente onde foram coletados ou dos tecidos, sendo a composição da pele mais similar aos ninhos de *L. vastus* que intestino e cloaca. Dessa forma, os MNE parecem ter uma composição própria e o seu estudo poderá contribuir com estratégias para conservação de espécies de anuros e nossa compreensão sobre essas bioestruturas.

CNPq; FUNCAP; Instituto Serrapilheira



MI190

Comunidad de levaduras en suelos en proceso de recuperación ambiental después de la minería de hierro

Moreira Geisianny Augusta Monteiro¹, Vale Helson Mario Martins¹. ⁽¹⁾ Departamento de Fitopatologia, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Brasília, BR.

La minería es una actividad importante en el estado de Minas Gerais, principalmente en la región denominada *Quadrilátero Ferrífero*, conocida por sus significativos recursos minerales, en especial oro y hierro. Poco se sabe sobre el impacto de esa actividad en la comunidad microbiana debido a la remoción del suelo y consecuentes cambios en la cobertura vegetal. La comunidad fúngica de los suelos participa de procesos ecológicos importantes para la recuperación de áreas degradadas, como el ciclo de nutrientes y la producción de hormonas vegetales. El objetivo de este trabajo fue evaluar la dinámica de la comunidad de levaduras de suelos en recuperación ambiental, bajo proceso de revegetación con hierba (*Urochloa brizantha* y *Panicum maximum*), de un área de minería. Se analizaron 20 muestras de suelo en dos cambios estacionales (lluvia y seca). Las muestras de suelo fueron caracterizadas por sus propiedades fisicoquímicas y agrupadas por medio de análisis de componentes principales (PCA). La diversidad de levaduras fue evaluada por medio de técnica de cultivo y las especies aisladas fueron identificadas a través de secuenciación de la región D1/D2 del gen 26S del rRNA. Un total de 185 aislados de levaduras fueron recuperadas e identificadas en 28 especies pertenecientes a 18 géneros. El Filo Ascomycota (75%) predominó sobre el Filo Basidiomycota (25%). *Candida maltosa* (55%), *Papiliotrema laurentii* (10%), *Meyerozyma guilliermondii* (6,5%) y *Rhodotorula mucilaginosa* (5,4%) fueron las especies dominantes. Las demás especies encontradas representaron menos de 3% de la frecuencia de aislamiento. Cuatro especies fueron compartidas entre los dos cambios estacionales analizados. Doce especies fueron detectadas solo en la estación seca, y doce solo en la estación lluviosa. Las variables ambientales explicaron 84% de la variación de los datos. Las muestras de la estación seca se correlacionaron positivamente con la acidez total y los contenidos de Ca, Mg y P. Mientras que las muestras de la estación lluviosa se correlacionaron con el pH. En conclusión, las muestras analizadas presentaron diferencias en la diversidad de levaduras entre los cambios estacionales, con una alta riqueza en las comunidades, lo que representa un buen indicativo del proceso de recuperación ambiental de esas áreas.

FAPEMIG, CAPES

MI191

Rol del potencial quitinolítico en la capacidad invasora del hongo *Trichoderma harzianum*

María Camila Morales¹, Cecilia Muster¹, Julieta Orlando¹, Margarita Carú¹. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

El establecimiento de especies fuera de sus rangos geográficos naturales, se conoce como proceso de invasión biológica. Existe un amplio número de estudios enfocados en entender este proceso en macroorganismos, sin embargo, a pesar del importante papel que los microorganismos cumplen en los procesos ecosistémicos, las investigaciones en invasiones microbianas continúan siendo escasas. En la búsqueda por comprender este proceso en microorganismos, esta investigación se enfocó en responder lo siguiente: ¿Qué atributos de un invasor microbiano determinarían su establecimiento exitoso en una comunidad microbiana receptora?. Para responder esta pregunta, se utilizó un ensayo de invasión descrito previamente por nuestro grupo de investigación, el cual fue diseñado en base a la *hipótesis de naturalización de Darwin*, la cual plantea que especies estrechamente relacionadas comparten hábitos y atributos similares, compitiendo más intensamente que aquellas especies filogenéticamente distantes. Este ensayo se compone de microcosmos fúngicos constituidos por *Trichoderma harzianum* como agente invasor y dos tipos de comunidades fúngicas receptoras; (i) comunidades distantemente relacionadas a *T. harzianum* (*Comunidad No-Relacionada*), en donde éste logra establecerse, y (ii) comunidades filogenéticamente cercanas al invasor (*Comunidad Relacionada*), en donde *T. harzianum* no logra invadir. En el contexto de la *hipótesis de naturalización*, la competencia sería la interacción implicada en el éxito del invasor, sin embargo, es necesario considerar que *T. harzianum* también podría establecer otra importante interacción, como es el micoparasitismo, pudiendo parasitar a los hongos que conforman la comunidad receptora mediante la acción de enzimas quitinasas. Para estudiar si el potencial quitinolítico de *T. harzianum* influye en el éxito del invasor, se realizó una cuantificación relativa por qRT-PCR de genes que codifican para enzimas quitinolíticas fundamentales para el micoparasitismo de *T. harzianum* (*chit33* y *chit37*), en los diferentes contextos comunitarios de nuestro ensayo. Luego de 30 días de establecido el invasor en las comunidades, la expresión de quitinasas de *T. harzianum* en el contexto de la *Comunidad No-Relacionada* es similar a los controles conformados solo por el hongo invasor, sugiriendo que el potencial quitinolítico de *T. harzianum* no tendría un rol determinante en la invasión, siendo la competencia la interacción relevante.

CONICYT 21120772



MI192

New paradigms for managing belowground microbiomes to deliver predictable aboveground outcomes during mine-site rehabilitation

Moreira Benjamin Antonio¹, Adam Cross², Paul Nevill², Miriam Muñoz-Rojas³, Kingsley Dixon², Deepak Kumaresan⁴, O'Donnell Antony G⁵, Whiteley Andrew S¹. ⁽¹⁾ School of Agriculture and Environment, Faculty of Science, The University of Western Australia, Perth, AU. ⁽²⁾ Department for Environmental and Agriculture, Curtin University, Perth, AU. ⁽³⁾ School of Biological, Earth and Environmental Sciences, University of New South Wales, Sydney, AU. ⁽⁴⁾ School of Biological Sciences, Queen's University Belfast, Belfast, GB. ⁽⁵⁾ Department for Environmental and Agriculture, Faculty of Science, The University of Western Australia, Perth, AU.

Mining activities generate significant volumes of tailings, principally as crushed waste rock with chemically extreme properties. Current practices during mine-site restoration include the recycling of these tailings as a planting substrate where a few centimetres of tailing waste caps a thin layer of native topsoil. It is clear however, that these hybrid 'topsoils' are frequently constrained in terms of plant and microbiome colonization, most significantly with depth, where almost pure tailings exist. Key constraints to depth colonization (e.g. by plant roots and associated microbiomes) are through poor physical structure, low nutrient availability, toxic chemical conditions and an almost absent microbiome within the tailings layers. Here, we report on the archaeal and bacterial microbiome dynamics within hybrid top soil-tailings systems. We focus on key founder pathways required for successful plant colonisation, such as the ammonia oxidizers. Our results show that AOA communities are more resilient than their bacterial counterparts when coping with the highly non-permissive environment within hybrid topsoils. In parallel, we examine the use of microbial inocula to provide founder functions for plant establishment but demonstrate that addition of allochthonous microorganisms are detrimental for native plant establishment. Our results highlight the importance of carefully and directly managing the nascent microbiome of hybrid topsoil systems to generate below ground founder functions likely needed for native plant establishment. Specifically, predictable trajectories and outcomes in native plant revegetation likely require low nutrient input and careful *in situ* management to bring about desirable outcomes to maximise both belowground functions and thence aboveground diversity.

We acknowledge funding from Department of Premier and Cabinet and UWA to ASW as part of the Western Australian Fellowship Program and a Becas-Chile PhD scholarship to BMG.

MI193

Relación entre la abundancia de fosfatasa ácida y la disponibilidad de fósforo en *Peltigera frigida*, su sustrato asociado y el suelo aledaño

Cecilia Muster¹, Javiera Maturana¹, Vidal Andrea¹, María Camila Morales¹, Carú Margarita¹, Julieta Orlando¹.

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

En el suelo, el fósforo (P) se encuentra en formas orgánicas e inorgánicas y sólo una pequeña fracción se encuentra disponible para la biota, siendo la participación de microorganismos fundamental para el aumento de su biodisponibilidad. Los líquenes son importantes componentes de la biota criptogámica del bosque y consisten en asociaciones simbióticas mutualistas entre un hongo y un alga verde y/o una cianobacteria. Un componente liquénico adicional lo constituirían las comunidades bacterianas altamente estructuradas asociadas al talo liquénico, las cuales cumplirían múltiples funciones, entre ellas, la solubilización de P llevada a cabo mediante enzimas específicas, como la fosfatasa ácida (PhoN). Debido a que cambios en el estado de conservación de los bosques, como la introducción de pinos en bosques nativos de *Nothofagus*, influirían en la disponibilidad de P de los suelos, el objetivo de este estudio fue relacionar la abundancia del gen *phoN*, que codifica para la enzima fosfatasa alcalina, y la disponibilidad de P en muestras de líquenes de la especie *Peltigera frigida*, su sustrato asociado y el suelo aledaño, recolectadas en dos bosques de la Reserva Nacional Coyhaique (Chile): (i) un bosque nativo de *Nothofagus* y (ii) un bosque mixto de *Nothofagus* y pinos. Para esto, la abundancia de *phoN* se determinó por qPCR, mientras que la disponibilidad de P se cuantificó mediante el fraccionamiento secuencial de Hedley. Los resultados muestran que existen diferencias en la disponibilidad de P entre ambos bosques, tanto para suelo como para sustrato, siendo mayor su concentración en el bosque mixto. Por otro lado, se observó que la abundancia de *phoN* fue mayor en las muestras de suelo de bosque nativo, mientras que las muestras de sustratos y líquenes presentaron abundancias similares entre sí en ambos bosques. Por ende, en los talos liquénicos y los sustratos asociados, la abundancia de *phoN* sería independiente de la disponibilidad de P. Estos resultados sugieren que *P. frigida* estaría formando un microambiente en sus alrededores, estructurando a su comunidad bacteriana y a la del sustrato asociado.

FONDECYT 1181510

MI194

Biofilm formation on AISI 316 stainless steel in marine water

Neves Brunela Santos¹, Korres Adriana M. Nicolau². ⁽¹⁾ Department of Postgraduate in Environmental Engineering, Masters in Environmental Engineering, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, BR. ⁽²⁾ Department of Sanitary and Environmental Engineering, Sanitary and Environmental Engineering, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo - IFES, Vitória, BR.

Microorganisms don't live as pure cultures of dispersed single cells but instead accumulate at interfaces to form polymicrobial aggregates such as biofilms. Adherence of bacteria to metal surfaces can initiate the biofilm formation within which the metabolic processes can significantly affect the corrosion surface. AISI 316 stainless steel is highly resistant in oxidizing environments. It's used in the most diverse industrial segments, such as in water distribution systems, oil platforms and food industries. This study reports biofilm formation on AISI 316 stainless steel surface in marine water. Experiments were performed in laboratory. Steel coupons with 1.8 cm in diameter were sanded with sandpaper, polished and cleaned individually. The samples were immersed in marine water collected from Ilha do Boi Beach (Vitória, ES, Brazil) during 28 days. Colony Forming Units by cm² (CFU/cm²) and images were determined for each time using optical stereomicroscope (Leica EZ4 HD) and scanning electron microscope (SEM) with samples sputtered (Bal-Tec®, SCD 050, Germany). The presence and arrangement of microorganisms on the surface of the material were analyzed by SEM (MA10 EVO, Zeiss, Germany) and by spectrophotometer in energy dispersive (EDS) (software Aztec, Oxford). Results showed biofilm formation in all situations since biofilm formation was considered when values were between 10³ and 10⁵ cells per cm². CFU/cm² counts on first until fourth week, respectively, were 4.80x10³, 1.15x10⁵, 5.55x10⁵, and 8.20x10⁵. Data show it can be considered a high value compared to studies performed with the same stainless steel in another marine environment. This result points to possible damage in submerged marine structures. Data obtained by EDS showed the identification and location of chemical elements in the sample, what can help determine the steel corrosion over time and its relation to the adhered microbiota. The literature review and previous studies with other stainless steels show the importance to study the microorganisms present in AISI 316 stainless steel, as it is more resistant to marine water compared to other stainless steels. Surface studies by SEM along with other corrosion techniques are highly developed because of concern with corrosion and material losses especially in marine environments.

MI195

Genômica comparativa de *Serratia marcescens* endofíticas isoladas de *Zea mays* com linhagens de *Serratia* de diferentes estilos de vida

Silva Ubiana De Cassia¹, Silva Daliane Regis C.¹, Leite Laura Rabelo², Medeiros Julliane Dutra³, Felestrino Erica Barbosa⁴, Caneschi Washington Luiz⁴, Moreira Leandro Marcio⁴, Júnior Nalvo Almeida⁵, Robson Silva⁵, Oliveira Christiane Abreu⁶, **Santos Vera Lúcia Dos¹**. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Laboratório de Microbiologia Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽²⁾ Bioinformática, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Genética e Fisiologia Bacteriana, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de fora, BR. ⁽⁴⁾ Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, Centro de Pesquisa em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro preto, Ouro Preto, BR. ⁽⁵⁾ Faculdade de Computação, Cidade Universitária, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, BR. ⁽⁶⁾ Microbiologia, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, BR.

Neste estudo, foi realizada a comparação dos genomas de duas linhagens endofíticas de *Serratia marcescens* isoladas de *Zea mays* (SmCNPMS2112 e SmUFMG85) com outras 19 linhagens do gênero isoladas de diferentes ambientes. Na análise, buscou-se a identificação de genes indicativos do estilo de vida endofítico, promoção do crescimento de plantas e patogenicidade. Observamos alta conservação dos genomas para características relacionadas à colonização e promoção do crescimento de plantas independente da origem dos isolados, assim como para a produção de antibióticos, resistência a drogas e fatores de virulência. Isso sugere que as diferenças que definem um determinado estilo de vida entre as linhagens de *Serratia* avaliadas estão mais relacionadas às variações na expressão gênica do que ao conteúdo de genes per se. Além disso, foram investigados profagos e ilhas genômicas nas duas *S. marcescens* deste trabalho. SmUFMG85 apresentou três inserções de profagos e, no genoma de SmCNPMS2112, houve duas inserções de profagos. Outro interessante achado foi que grande parte das regiões únicas e acessórias de ambos os genomas (SmUFMG85 e SmCNPMS2112) estão localizadas em ilhas genômicas. Por exemplo, nas ilhas genômicas de SmCNPMS2112, detectou-se o sistema secretor do tipo III, protease, quitinase, fimbrias, sideróforos e β -lactamas, enquanto nas ilhas de SmUFMG85, foram encontrados genes exclusivos que codificam para o sistema de secreção tipo IV, além de protease, hemolisina, aquisição de ferro e produção de ramnolipídeos. Esses resultados contribuem para a compreensão de adaptações de genomas a nichos ecológicos específicos em relação a outros genomas similares, bem como para uma visão mais precisa e ampla sobre o potencial de bactérias para o desenvolvimento de bioinoculantes visando o cultivo de importantes vegetais, como o milho. Sendo essa uma possível forma de atender às demandas por modelos de agricultura mais sustentáveis para o meio ambiente.

Vale SA, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

MI196

Evaluación de las propiedades oxidantes de las bacterias sulfato reductoras aisladas de una columna de Winogradsky a escala de laboratorio, para proponer un método de biooxidación de metales en relaves mineros

Paz Jonathan G¹, Rejano Claudia B¹, Puchoc Geraldine Y¹, Tito Gina M¹. ⁽¹⁾Lima, Ingeniería y Arquitectura, Universidad Peruana Unión, Lima, PE.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar las propiedades oxidantes de las bacterias sulfato-reductoras (BRS) aisladas de una columna de Winogradsky a escala de laboratorio, para proponer un método de biooxidación de metales en relaves mineros. Para ello se crearon seis ecosistemas microbianos a partir de materia orgánica y sales; ubicando a tres de ellos en un medio Aerobio y otros tres en un medio Anaerobio ajustando el pH a 7, con una temperatura ambiente de 20 °C, cada cambio fue evaluado durante cuatro semanas, después se tomó una columna de cada ambiente para realizar el respectivo aislamiento de BRS y la observación de consorcios bacterianos formados en cada nivel del sistema microbiano, las columnas restantes fueron cambiadas de ambiente por un mes para observar los trastornos ocurridos en cada una. Se tomaron muestras de la zona anaerobia, donde se formaron colonias negruzcas de BRS las cuales se aislaron en medio líquido Lactato de sodio modificado durante catorce días. Transcurrido este tiempo se realizaron repiques de los aislados en medio de cultivo Postgate B modificado, el cual posee lactato como fuente de carbono, se colocó en cada cultivo alambres de hierro acidificado, para asegurar la eficiencia de estas bacterias en la degradación de metales. La aparición de BRS se pudo evidenciar gracias a la formación de biopelículas de color negro en las paredes de los tubos inoculados y por los precipitados de sulfuro de hierro (FeS) presentes en la base. Este suceso demostró que dichas bacterias a condiciones de temperatura moderada, en rangos de pH 6.0 a 9.0 y con el alimento indicado oxidan metales al punto de precipitarlos. Se concluye que las BRS son muy eficientes en el proceso de sulfato-reducción ya que ayudan a que las aguas aumenten su pH gracias a la producción de alcalinidad al momento de sedimentar restos minerales presentes en el medio.

Financiamiento Peronal



MI197

Wintertime river plumes shape coastal microbial community structure and activity on the central Oregon shelf

Brandon Kieft¹, Angelicque White², Byron Crump², Miguel Goñi², Ryan Mueller¹. ⁽¹⁾ Microbiology, Oregon State University, Corvallis, US. ⁽²⁾ College of Earth, Ocean, and Atmospheric Sciences, Oregon State University, Corvallis, US.

The coastal margin of Oregon, USA is situated in the northern California Current System, one of the most highly productive eastern boundary systems on the planet. The origin and fate of resources sustaining biological activity in this region are seasonally distinct: summers are characterized by upwelled nutrients, high primary production, and low freshwater inputs, while winter conditions bring downwelling and heavy precipitation that delivers significant riverine inputs to the coastal ocean. Despite evidence of sustained wintertime food web activity, heterotrophic microbes are virtually uncharacterized during the river-dominated winter season on the Oregon shelf. We sampled microbial biomass and measured physical and biogeochemical water-column properties across three river-to-shelf-slope transects during December and January river plume events on the central Oregon coast. We hypothesized that river plumes carry nutrients and non-marine microbes into the coastal ocean (suggesting plumes transport allochthonous substrate to the coastal food web), and that the abundances of specific heterotrophic marine populations are correlated with plume carbon and nutrient concentrations (suggesting they may be involved in integrating plume resources into the coastal microbial loop). We found that river plumes generally carried higher concentrations of inorganic nutrients and particulate organic carbon and nitrogen than samples outside plumes. Many microbial populations within the plumes appeared to originate from the adjacent river or estuary, such as Actinobacteria and Beta-proteobacteria, indicating transport; however, we did not measure their activity or viability in the marine ecosystem. Along the transects, the relative abundances of several taxa were consistently correlated with plume nutrient or carbon concentrations, especially particle-attached Flavobacteriales populations that have previously been shown to utilize particulate resources in the marine ecosystem. Interestingly, respiration rates were highest at the plume-marine interface and were estimated to be 2-5 times higher than concurrent carbon fixation rates, supporting the hypothesis that plumes transport labile substrate that sustain microbial activity. Overall, wintertime microbial communities on the central Oregon coast differed in important ways from the summer, particularly in the ratios of highly abundant groups such as Bacteroidetes, Alpha-, and Gamma-proteobacteria.

National Science Foundation (USA)



MI198

Multiresistance characterization to toxic metals of bacteria isolated from mining tailings of the disaster in Mariana-MG, Brazil

Morais Lilian B¹, Passamani Fabiana R¹, Godinho Carlos A¹, Carvalho Beatriz F¹, Schwan Rosane F¹, **Silva Cristina F¹**.

⁽¹⁾ Biologia, UFLA, Universidade Federal de Lavras, Lavras, BR.

Extraction of iron ore is an extractive practice of high commercial significance that generates huge amounts of rejects with high content of heavy elements. The tailings are stored in containment dams that if ruptured cause environmental disaster with environmental consequences perceived hundreds of kilometers from the origin of the rupture. Because autochthonous microorganisms from contaminated environments are already resistant, their use in bioremediation processes has been highlighted. The aim of this work was to isolate and identify bacteria present in soil sample contaminated with tailings from mining activity of the city of Mariana, Minas Gerais, Brazil, as well as to evaluate the multiresistance of these isolates to four toxic metals (zinc, lead, cadmium and iron). Isolation was performed by the serial dilution technique, followed by surface scattering in the culture media: plate count agar (PCA) and chemically defined with neutral pH (neutral CD) and acid pH (acid CD). Species identification was performed by morphological and biochemical techniques and by their protein profiles through the MALDI-TOF MS technique. The isolates obtained from PCA (17) were identified as belonging to the species *Lysinibacillus sphaericus* (2 isolates), *Pantoea dispersa* (5) and *Bacillus cereus* (6), whose estimated populations were 1.5×10^5 , 1.54×10^5 and 3.6×10^5 CFU / mL, respectively. Of the neutral QD medium, 11 isolates could not be identified. No growth was obtained in the acid CD medium. *P. dispersa* and *L. sphaericus* were tested for their ability to grow in culture medium at different concentrations of the tested metals Zn, Pb, Cd and Fe (0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 2, 3.0, 3.5 and 4.0 mM). *P. dispersa* and *L. sphaericus* grew in the presence of lead, zinc and iron at concentrations of 3.5; 0.5 and 2 mM, respectively. There was no growth in the presence of cadmium. The tested isolates showed growth potential in the presence of metals characteristic of soils contaminated with mining tailings. Further studies on the mechanism of remediation by these microorganisms are needed.

Acknowledgements: CNPq, FAPEMIG and CAPES.

MI199

Biodiversidad de bacterias termófilas y termotolerantes del Sistema hidrotermal de Lirima (Región de Tarapacá, Chile), potencial fuente de producción de nuevos compuestos bioactivos

Johanna Alejandra Cortes¹, Vilma Perez², Cristina Dorador³, Veronica Molina⁴, Wade Jeffrey⁵, Lisa Nigro⁵, Martha Hengst⁶. ⁽¹⁾ Biomedico, Ciencias de la Salud, Universidad De Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Química y Farmacia, Ciencias, Universidad Catolica del Norte, Antofagasta, CL. ⁽³⁾ Biotecnología, Ciencias del mar y recursos biológicos, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽⁴⁾ Biología, Ciencias naturales y exactas, Univercidad de Playa Ancha, Valaparaíso, CL. ⁽⁵⁾ Center for Environmental Diagnostics & Bioremediation, University Parkway, Florida, CL. ⁽⁶⁾ Química y Farmacia, Ciencias, Universidad Catolica de INorte, Antofagasta, CL.

Se ha descrito que las bacterias son una fuente para la producción de compuestos bioactivos los cuales poseen actividades como antimicrobianos, antitumorales, antioxidantes, anticancerígenos entre otros. La síntesis de dichas sustancias no es esencial para el crecimiento del microorganismo, sino mas bien actúan como estrategias de supervivencia. En condiciones naturales los microorganismos poseen habilidades para lidiar con la variabilidad del ambiente generando mecanismos adaptativos, tanto fisiológico como estructurales, destacando la diversidad y versatilidad metabólica permitiendo la proliferación en condiciones ambientales hostiles, a través de un mecanismo denominado “reprogramación metabólica”, el cual actúa como respuesta al estrés. En el altiplano chileno se encuentran ambientes poliextremos como géiseres, pozas y lagunas termales; todos ellos ricos en azufre, con salinidades y pH variables. Estos ecosistemas son favorecidos para el estudio de microorganismos extremófilos, los cuales poseen una alta y novedosa diversidad filogenética; ofrecen una oportunidad para la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos. Las termas de Lirima, constituyen una fuente sustentable de biodiversidad de bacterias, las cuales estarían produciendo una variedad de compuestos bioactivos favoreciendo su supervivencia en sistemas con características extremas para la existencia de la vida. El objetivo de esta investigación fue caracterizar grupos metabólicos relacionados con la síntesis de compuestos bioactivos, desde muestras de tapetes microbianos obtenidos desde una de las pozas (P42) del sistema hidrotermal de Lirima, mediante análisis metagenómicos. Los resultados taxonómicos determinaron la presencia de phylum de bacterias relacionadas a la producción de compuestos bioactivos, tales como Actinobacterias (0,12% con 3 géneros asociados) y Firmicutes (24,2% con 40 géneros asociados). Por otra parte, los análisis funcionales determinó la existencia de genes (5,182%) involucrados en rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios, cofactores, vitaminas, grupos prostéticos y pigmentos, asociado a compuestos con actividad antibacteriana y antitumoral. Por otro lado, en el grupo de proteínas de respuesta a estrés (1,683%), se observó una alta abundancia de proteínas con actividad antioxidante utilizadas como respuesta al estrés oxidativo. Los resultados obtenidos demuestran el alto potencial biotecnológico de producción de nuevas moléculas con capacidad bioactivas obtenidas de microorganismos termófilos de las termas de Lirima, las cuales podrían ser utilizadas en la industria farmacológica.

Proyecto FONDECYT regular: 1181773, 1140179, 1140356 y FB0001.



MI200

Aislamiento e identificación de bacterias desde suelos contaminados con plomo y su efecto en la transferencia de plomo a plantas

Alberto Gómez Treviño¹, Ricardo Lara Guerrero¹, Ulrico López Chuken¹, María Elena Cantú Cárdenas¹. ⁽¹⁾ Microbiología Aplicada, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, MX.

Materiales y Métodos Dada la problemática que ocasiona la contaminación por metales pesados, en este trabajo se caracterizaron suelos de zonas contaminadas con metales pesados debido a actividades mineras y fundición en el estado de Nuevo León, México. Las muestras fueron obtenidas mediante recolección sistemática de rejilla a 0-5 cm (Horizontal) y 20-40 cm (Vertical) de profundidad. Se determinó la concentración de Plomo (Pb) en todas ellas mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica. Por dilución y siembra en placa se aislaron bacterias en presencia de Pb (500, 1000 y 1500 ppm) en Medio Agar Manitol. Se extrajo DNA genómico de las cepas seleccionadas para amplificar el gen del RNA 16S mediante PCR, y se obtuvieron las secuencias nucleotídicas. Se llevaron a cabo bioensayos con plantas acumuladoras de metales en presencia de las cepas aisladas, y se determinó la capacidad de éstas últimas para incrementar la captación de Pb por parte de las plantas. **Resultados** Los suelos analizados revelaron concentraciones comprendidas entre 50 y 2500 ppm de Pb. Se aislaron 12 cepas bacterianas capaces de crecer en presencia de dichas concentraciones de Pb. La secuenciación del RNA 16S determina que las cepas pertenecen al género *Paenibacillus spp.* El cultivo de plantas acumuladoras de metales en presencia de *Paenibacillus spp.* presentan concentraciones de Pb mayores a las cultivadas en ausencia de las mismas. **Conclusión** La captación de Plomo por parte de plantas acumuladoras de metales se incrementa con la presencia de *Paenibacillus spp.*, por lo que dichas cepas pueden ser empleadas en procesos de fito-remediación de suelos contaminados con Plomo.

Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León.

MI201

Vida al límite: Microbioma de un lago de gran altura no descrito (6170 m.s.n.m.) en el Volcán Lullailaco, Chile

Arán Pablo Alberto Sekul¹, Pablo Aguilar^{1,2}, Thomas Bowen³, Matthew Farson⁴, Joseline Tapia⁵, Lara Vimercati⁶, John Darcy⁷, Adam Solon⁶, Dorota Porazinska⁶, Steven Schmidt⁶, Cristina Dorador⁸. ⁽¹⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Lake and Glacier Ecology Research Group, Institute of Ecology, University of Innsbruck, Innsbruck, AT. ⁽³⁾ Department of Anthropology, California State University, Fresno, USA, California, US. ⁽⁴⁾ Emergency Center, Modoc Medical Center, Alturas, California, US. ⁽⁵⁾ Instituto de Ciencias de la Tierra, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽⁶⁾ Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Colorado, Boulder, Colorado, US. ⁽⁷⁾ Department of Botany, University of Hawaii, Manoa, Hawaii, US. ⁽⁸⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Departamento de Biotecnología and CeBiB, Centro de Biotecnología y Bioingeniería, Santiago, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL.

La Zona Volcánica Central (CVZ), comprende alrededor de 34 volcanes activos siendo el volcán Lullailaco el segundo volcán activo más alto del mundo (6723 m.s.n.m) y el sitio arqueológico más alto actualmente conocido. Hasta la fecha, se han descrito solo 3 lagos en CVZ en su cumbre (Licancabur, Ojos del Salado y Simba), los cuales han sido descritos como sistemas altamente extremos principalmente por la alta radiación solar que reciben y las bajas concentraciones de nutrientes en el suelo y agua. Una expedición en el año 1996, dirigida por el antropólogo Tom Bowen, detectó la presencia de un lago en el lado chileno del volcán Lullailaco, en un sitio de extremadamente difícil acceso del cual no había registro. En este estudio, se describe el lago ubicado a 6170 m.a.s.l y las comunidades microbianas asociadas. Hasta la fecha se han realizado dos expediciones más (2013 y 2016) donde se tomaron muestras de agua cuyo microbioma fue analizado mediante secuenciación masiva del gen 16S rRNA (Pirosecuenciación e Illumina) tanto para Bacteria como Archaea. Además, se obtuvieron aislados bacterianos utilizando los medios de cultivo ABM y R2A. En general, este lago presenta una forma similar a un frijol con una extensión de 160 m de longitud y, 52 m y 98 m de ancho. El Lago Lullailaco presentó un pH de 6.8 en su centro. Mediante el análisis de secuenciación del gen 16SrRNA se detectaron un total de 114.524 secuencias y 3.644 OTUs para Bacteria y 134 para Archaea. La comunidad microbiana estuvo dominada por los filos *Proteobacteria*, *Actinobacteria* y *Haloarchaea*, detectándose 13 familias en Bacteria y 7 en Archaea. Se identificaron un total 26 aislados bacterianos psicrófilos correspondiente a los géneros *Subtercola*, *Xylophilus*, *Rhodanobacter*, *Mesorhizobium* y *Pseudomonas*. Este estudio, describe por primera vez un nuevo lago para la CVZ en el volcán Lullailaco, uno de los más altos registrados en la Tierra, donde las comunidades microbianas presentes estarían altamente adaptadas a distintas condiciones extremas, análogas a condiciones en otros planetas.

CeBiB FB0001; FONDECYT 1140179, 1181773

MI202

Cuando lo extremo ya no es extremo: alta diversidad microbiana en el ambiente geotermal Quebrada del Zoquete, Altiplano Chileno

Daniela Meneses^{1,2}, Diego Cornejo^{1,2}, Gonzalo Icaza^{1,2}, Cristina Dorador^{1,2}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Centro de Biotecnología y Bioingeniería, (CeBiB), Santiago, CL.

El campo geotermal del El Tatio es un ambiente poliextremo de gran interés científico por sus características geoquímicas, el cual tiene una extensión de 20 km². Además, los ambientes termales han sido explorados por su potencial para producir energía geotérmica. Al sur de dicho sistema a 4500 msnm se encuentra la Quebrada del Zoquete, la cual presenta una combinación de características fisicoquímicas extremas y diversas, aun no descritas. Se conoce que en estos ambientes dominan las comunidades microbianas altamente adaptadas a las altas temperaturas, y en este caso, a la alta radiación solar y altas concentraciones de minerales (As, Si, B, Li, Fe, Sb). En este estudio se determinó la diversidad y riqueza microbiana presentes en 12 muestras (agua, sedimento y tapetes microbianos) en 5 sitios (QZS0, QZS1, QZS2, QZS3 y QZS4) a lo largo del caudal (335 m de largo) utilizando secuenciación masiva del gen 16S ARNr (Illumina). Las secuencias fueron analizadas con la plataforma Qiime y clasificadas taxonómicamente con SILVA 128. En general, el pH fluctuó entre 2,25 a 8,5, la temperatura máxima registrada fue de 80°C (cerca de fumarolas) y la mínima de 12°C en agua del río. En los sedimentos, las concentraciones de cloruros variaron entre 9,4 y 13,3 g/L y las de sulfato entre 53 y 682 µg/L. Los resultados que se presentan corresponden a las muestras de los sitios con mayor temperatura (QZS2 y QZS3), reflejando una comunidad microbiana rica y diversa. El sitio QZS2 (5 muestras) presentó 19 phyla (1 phyla Archaea) y el sitio QZS3 presentó 9 (2 phyla Archaea). La diversidad bacteriana fue dominada por los phyla Firmicutes > Nitrospira > Proteobacteria > Actinobacteria y en el caso de Archaea por Euryarchaeota y Crenarchaeota. En detalle, se destaca la alta abundancia relativa de las familias Acetobacteriaceae, Nitrospiraceae (género *Leptospirillum*), entre otras. Archaea fue representada por Halobacteraceae (género *Haloarcula*), Sulfobacillaceae, Thermoplasmataceae (género *Thermoplasma*). La alta diversidad microbiana asociada a la gran heterogeneidad espacial configura un ambiente termal distinto a los clásicamente descritos debido a las múltiples variables ambientales extremas que existen en el Altiplano.

FONDEF N°IT16M10041, FONDECYT N°1140179; 1181773

MI203

Purificação de substância antibacteriana produzida por *Shigella sonnei*

Moreira Jaqueline S³, Oliveira Jamil S¹, Dias Maria G M A³, Magalhães Adriana C R², Magalhães Mariana T Q¹, Magalhães Paula P³, **Farias Luiz M**³. ⁽¹⁾ Departamento de Bioquímica e Imunologia, ICB, UFMG, Belo Horizonte, BR. ⁽²⁾ CELAM, ICB, UFMG, Belo Horizonte, BR. ⁽³⁾ Departamento de Microbiologia, ICB, UFMG, Belo Horizonte, BR.

O enteropatógeno *Shigella*, membro da família Enterobacteriaceae, é o agente etiológico da disenteria bacilar, doença diarreica que acomete, anualmente, cerca de 165 milhões de indivíduos em todo o mundo, com taxa de 1,1 milhões de óbitos/ano, sendo, a maioria, crianças com idade inferior a 5 anos que vivem em países menos desenvolvidos. Substâncias antibacterianas são sintetizadas por diversos microrganismos e podem ter papel relevante na patogenicidade ou defesa, dependendo do microrganismo produtor e das interações com o ambiente e com os demais organismos que o compartilham. O objetivo deste estudo foi purificar uma substância antagonista sintetizada por *Shigella sonnei* ativa contra amostra da mesma espécie. As amostras em estudo foram isoladas de espécimes fecais de crianças com doença diarreica aguda, atendidas no Hospital Infantil João Paulo II/FHEMIG, Belo Horizonte, Brazil. A fração proteica intracelular da amostra produtora foi precipitada com 75% p/v de sulfato de amônio e cromatografada em equipamentos *fast protein liquid chromatography* (FPLC), utilizando as colunas de troca iônica MonoQ™ e filtração molecular Superose 12, e *high-performance liquid chromatography* (HPLC), empregando a coluna de fase reversa Microsorb B C18. A triagem das frações obtidas foi realizada pelo perfil cromatográfico e por ensaio de sobrecamada. As frações ativas do último passo cromatográfico foram analisadas por espectrometria de massas MALDI-TOF, empregando as matrizes ácido α -ciano-hidroxicinâmico, ácido sinapínico e 2,5-dihidroxibenzoico. A análise dos espectros de massa demonstrou a presença de uma substância purificada com massa molecular de 9,2 kDa. Para um melhor entendimento do papel da substância nas relações interbacterianas e da sua classificação no grupo de substâncias antagonistas, o composto está sendo identificado por meio de tripsinólise, fragmentação, sequenciamento e comparação em banco de dados. Os dados demonstram que o composto em estudo apresenta ação isoantagonista e é possível hipotetizar que ele auxilie a bactéria produtora no processo de infecção, auxiliando na competição contra amostras suscetíveis.

CAPES, CNPq, FAPEMIG e PRPq/UFMG.

MI204

Metabolite fingerprinting of two strains of *Burkholderia glumae* isolated in Colombia

Ronald David Marentes¹, Carolina Cuellar², Harold Ardila³, Ericsson Coy¹. ⁽¹⁾ Cajicá, Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada, Cajicá. ⁽²⁾ Bogotá, Instituto de Biotecnología Universidad Nacional, Fedearroz-Fna, Bogotá, CO. ⁽³⁾ Bogotá, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, CO.

Rice is an important crop and it has become in staple food for several populations worldwide. Different rice varieties have been developed to increase their yield and resistance to diseases. However, some pathogens have affected various crops limiting their production and cause economic losses. Bacterial panicle blight (BPB) is a disease caused by *Burkholderia glumae* who is a Gram-negative bacterial pathogen. It affects panicles of the rice and its main symptom is causing blighted flowers with aborting grains. This pathogen produces secondary metabolites to carry out the infection being their content different between strains. In Colombia, this disease has caused damages in different zones along the country, so it is quite necessary to focus some efforts in these bacteria to avoid greater losses. Therefore, it is very important to identify the different secondary metabolites synthesized by different kind isolates of *B. glumae* in order to establish the relation between those molecules and their biological activity over the plant. Thus, we studied two isolates of *B. glumae* collected in Colombia; they were cultured in King B and SPG broth at 30°C at 150 rpm. Consequently, aliquots were suspended in 50 mL of methanol, chloroform and acetonitrile and concentrated. After this, all resulting extracts were analyzed, using a standardized concentration at 5 mg mL⁻¹ in methanol, by HPLC-ESI-DAD-MS. It was used for analysis a C-18 standard column (4.6 mm x 150 mm and 3.5 μm) at 0.5 mL min⁻¹, using a mixture of 0.005% TFA and ACN as eluents. Detection was performed at 270 nm and negative and positive ion modes. Finally, the resulting data were examined by descriptive and multivariate statistics using SIMCA. The resulting comparison between metabolic profiles from test strains showed a slight differences among them. Hence, there were compounds recorded as phytotoxics and molecules with antimicrobial activity. Additionally, the mentioned metabolite differences between strains might indicate that the synthesis of different types of metabolites is in agreement to their tolerance to external stimuli promoted by host. This fact can be used in further studies conducted within the development of resistance inductors to protect the plant against this pathogen.

Proyecto CIAS-2293 financiado por la Vicerectoría de Investigaciones de la UMNG, al laboratorio de caracterización molecular del IBUN, Bogotá y a Jorge Beltrán del grupo de área técnica de Fedearroz-FNA



MI205

Represión catabólica en *Xanthophyllomyces dendrorhous* desde la perspectiva OMICA

Martínez Consuelo P¹, Pamela Cordova¹, Dionisia Sepúlveda¹, Salvador Barahona¹, Marcelo Baeza¹, Jennifer Alcaíno¹, Víctor Cifuentes¹. ⁽¹⁾ Ciencias Ecológicas, Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Se ha establecido que la astaxantina, pigmento de interés en biotecnología, es producida por la levadura *Xanthophyllomyces dendrorhous* en respuesta a las condiciones de su hábitat natural, caracterizado principalmente por bajas temperaturas, compuestos antifúngicos y especies reactivas de oxígeno (ROS). Esta levadura es capaz de asimilar diferentes fuentes de carbono por vía oxidativa o fermentativa y además presenta el efecto Crabtree. También se ha observado que produce mayor cantidad de pigmento en condiciones de oxigenación y con fuentes de carbono no fermentables. En este estudio, se realizó un análisis metabólico cuantitativo basado en los datos de proteómica (iTRAQ) y transcriptómica (RNAseq), con el fin de analizar el efecto de la represión catabólica entre la cepa silvestre y cepas mutantes del represor Mig1 y los correpresores Cyc8 y Tup1. De forma general, se observó un moderado efecto a nivel del proteoma cuando se comparan las cepas mutantes con la silvestre. Particularmente, en la mutante del represor Mig1 se observó efecto de represión catabólica a nivel del transcriptoma, lo que nos sugiere la presencia de proteínas o mecanismos alternos de regulación aún no identificados que sobrelapan la función del represor Mig1. En cuanto a la abundancia de proteínas observamos un efecto sinérgico a nivel del proteoma para las mutantes Cyc8 y Tup1. Estos resultados evidencian la complejidad del proceso de represión catabólica en esta levadura, en donde hay diversos tipos y niveles de regulación como cooperación, función sobrelapada y sinergismo entre las proteínas. Con respecto a la carotenogénesis, en el mapeo metabólico comparativo identificamos diversos puntos de regulación: en la glicólisis/gluconeogénesis, ciclo de los ácidos tricarbónicos, vía del glioxilato y vía de las pentosas fosfato. Estas rutas metabólicas determinan la disponibilidad de sustratos para iniciar la síntesis de astaxantina, por lo tanto los blancos metabólicos identificados pueden ser modificados a través de ingeniería genética para optimizar la producción del pigmento.

FONDECYT 1180520



MI206

El sRNA RyhB-2 de *Salmonella Typhimurium* regula negativamente la expresión de factores de virulencia de invasión en células eucariontes

Diego Peñaloza¹, Acuña Lillian G.¹, Mauricio Galaz¹, Barros María José¹, Fernando Gil¹, Fuentes Juan A¹, Calderón Iván L¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genética y Patogénesis Bacteriana, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Salmonella Typhimurium (STm) causa focos de infección aguda limitados al intestino en humanos, provocando gastroenteritis y diarrea, así como también infecciones crónicas asintomáticas en pacientes inmunodeprimidos. Aún existen muchas interrogantes en cuanto a cómo este patógeno regula su virulencia y metabolismo durante una infección aguda y crónica. En el último tiempo se ha identificado a algunos RNAs pequeños no codificantes (sRNAs) como factores de virulencia de STm, los cuales se sabe pueden regular la expresión génica mediante apareamiento de bases con uno o más RNAs mensajeros blanco, modificando así de forma positiva o negativa la traducción y/o la estabilidad del mRNA. En este contexto, se observó previamente que el sRNA RyhB-2, codificado en una isla de patogenicidad de STm, se expresa significativamente en etapas de proliferación dentro de macrófagos, así como también al interior de fibroblastos. Para ahondar más en su rol en virulencia, nuestro grupo demostró previamente en un análisis global de expresión con cultivos extracelulares de STm, que la sobreexpresión de RyhB-2 genera cambios significativos en la expresión de diversos factores de virulencia. En el presente trabajo, a partir de ensayos de infección *in vitro* en macrófagos con las cepas de STm silvestre y mutante deficiente en RyhB-2, se comprobó que este sRNA es requerido en la etapa de proliferación del proceso infeccioso. Mediante análisis de RT-PCR en tiempo real (qRT-PCR) a partir de estos mismos ensayos de infección, se demostró que RyhB-2 regula negativamente la expresión de factores de virulencia tales como *hilA*, *hilD*, *orgA* y *orgB*, relacionados con etapas tempranas de infección (invasión). Estos resultados argumentan a favor de un rol del sRNA RyhB-2 en la virulencia de STm, favoreciendo el proceso infeccioso mediante la modulación negativa de factores prescindibles en etapas posteriores a la invasión.

FONDECYT REGULAR 1171655



MI207

Bactofilins: a versatile group of cytoskeletal elements in bacteria

Manuel Osorio-Valeriano^{3,1}, Lin Lin¹, Lotte Sjøgaard-Andersen², Martin Thanbichler^{3,1}. ⁽¹⁾ Microbiology, Biology, Philipps Universität Marburg, Marburg, DE ⁽²⁾ Ecophysiology, Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Marburg, DE ⁽³⁾ Max Planck Fellow Group “Bacterial Cell Biology”, Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Marburg, DE

Bactofilins are a new class of bacteria-specific cytoskeletal elements that possess a unique β -helical structure and assemble into polymeric bundles or sheets in the absence of nucleotide cofactors *in vitro*. Bactofilins are widespread among bacteria and participate in diverse functions in different bacterial species, such as cell shape maintenance, cell wall stability, and motility. We have recently characterized a new role of the bactofilin cytoskeleton in chromosome segregation in *Myxococcus xanthus*, where bactofilins BacNOP co-assemble into elongated scaffolds at the cell poles that immobilize the ParAB chromosome segregation machinery. The centromere-binding protein ParB associates to the pole-distal ends of these structures, whereas the partitioning ATPase ParA binds along their entire length via the adaptor protein PadC. The integrity of these complexes is critical for proper nucleoid morphology and chromosome segregation.

Max Planck Society, Transregio Collaborative Research Center (TRR 174), International Max Planck Research School for Environmental, Cellular and Molecular Microbiology (IMPRS-Mic).

MI208

El CO₂, un factor que puede inhibir el efecto bactericida de ciprofloxacina en *Escherichia coli*

Viviana Cano Aristizábal^{2,4}, Quinteros Melisa A^{2,5}, Paraje María G^{3,5}, **Paulina Laura Páez**^{4,1}. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. ⁽²⁾ Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, AR. ⁽³⁾ Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, AR. ⁽⁴⁾ UNITEFA, CONICET. ⁽⁵⁾ IMBiV, CONICET.

Los niveles de dióxido de carbono (CO₂) aumentaron de manera alarmante en 2016 convirtiéndose en el más alto en 800.000 años. Las consecuencias de este aumento tienen implicancias a nivel biológico, en organismos aeróbicos, ya que el CO₂ atmosférico debe estar en equilibrio con el CO₂ metabólico. El estrés oxidativo es un desbalance entre las sustancias oxidantes y antioxidantes en favor de las primeras. El objetivo de este trabajo fue determinar las modificaciones que el CO₂ puede generar en el mecanismo de acción de (ciprofloxacina) CIP como generador de estrés oxidativo en *Escherichia coli* ATCC 25922, con el fin de medir las posibles implicancias sobre la salud humana. Para esto se utilizaron concentraciones de CIP de 0; 0,5 y 50 µg/mL tanto en condiciones atmosféricas (ATM) como en atmósferas controladas de CO₂ (50 y 50.000 ppm). Se evaluó la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN) en presencia de secuestrantes como tirón, 2,2-dipiridil y carboxi-PTIO, para detectar cambios en la formación de dichas especies, haciendo uso de técnicas espectrofluorométricas y espectrofotométricas. También se estudió la capacidad antioxidante total a través del ensayo de *ferric reducing antioxidant power* (FRAP) y se determinaron los cambios en el potencial de membrana por medio de un ensayo espectrofluorométrico. Se observó disminución del 40% ERN cuando se empleó carboxi-PTIO en CO₂ 50 ppm y CIP 0,5 µg/mL. En condiciones de CO₂, el tirón y 2,2-dipiridil no presentaron disminución de ERO. En condiciones ATM, el tirón disminuyó 28% y 41%, carboxi-PTIO 53% y 63% para CIP 0,5 y 50 µg/mL, respectivamente, 2,2-dipiridil con CIP 0,5 µg/mL redujo las ERO en un 40%. La capacidad antioxidante total también fue afectada y los cambios en la membrana fueron más marcados en las condiciones de CO₂ con CIP 50 µg/mL que para condiciones ATM. En base a lo expuesto, se puede concluir que el CO₂ modifica el mecanismo de formación de ERO y ERN, además interviene en la activación de las defensas antioxidantes y modifica el potencial de membrana alterando la actividad antimicrobiana de CIP en *E. coli*.

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina (CONICET), Agencia Nacional de Promoción Científica y tecnológica (ANPCyT), Secretaría de Ciencia y Tecnología (SeCyT-UNC).

MI209

Metodologia rápida para detecção de atividade de esporos bacterianos utilizando espectroscopia de infravermelho próximo

Montanholi Henrique Issa¹, Março Paulo Henrique¹, Evandro Bona¹, Gustavo Makimori¹, Luiza Leme¹, Adriele Santos¹, Marques Leila Larisa Medeiros², **Perdoncini Márcia Geraldo**³. ⁽¹⁾ Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, BR. ⁽²⁾ Alimentos, Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, BR. ⁽³⁾ Departamento de Alimentos, Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, BR.

Determinados gêneros bacterianos, quando em situações de ameaça, produzem esporos ou formas de resistência que germinam quando as condições se normalizam. *Geobacillus stearothermophilus* produz esporos resistentes à temperaturas elevadas sendo utilizados como indicadores biológicos para a verificação da eficácia de esterilização em autoclaves, onde após serem submetidos a este processo, seus esporos são colocados em contato com meio de cultura, indicando eficácia se não houver germinação. A metodologia tradicional deste processo pode demorar 24 horas, o que se torna problemático em procedimentos urgentes que necessitam do uso de materiais estéreis. Desta forma, o desenvolvimento de metodologias que verificam a germinação de esporos em tempos mais curtos se torna interessante. A espectroscopia na região do infravermelho próximo ou NIR (Near Infrared) vem ganhando cada vez mais espaço dentre os métodos analíticos na identificação de compostos, por ser rápida, não apresentar a necessidade de pré-tratamento das amostras e ser realizada com analitos em variados estados físicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a germinação de esporos de *Geobacillus stearothermophilus* (Gs) através de espectroscopia na região de infravermelho próximo e análise de componentes principais (PCA). Suspensões de esporos de Gs padronizadas a $1,5 \times 10^5$ esporos.ml⁻¹ foram inoculadas em caldo suplementado, incubadas à 55°C e lidas com NIR em tempos de 0, 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos. Este procedimento foi realizado em três dias, totalizando 60 espectros médios. Houve mudanças amostrais onde a região compreendida 900 e 950 nm foi a mais influente. Foram detectados possíveis grupos aminas e hidroxilas com provável relação ao metabolismo fermentativo de açúcares e proteólise pelo microrganismo. A PCA demonstrou que após 60 minutos da inoculação foi possível diferenciar as amostras. A técnica do NIR associada à PCA forneceu resultados satisfatórios na detecção da germinação dos esporos de Gs levando em média uma hora para indicar mudanças significativas nas amostras testadas, demonstrando que metodologias rápidas podem ser desenvolvidas com espectroscopia em infravermelho próximo.

Universidade Tecnológica Federal do Paraná



MI210

On the track of the adaptation strategies to high hydrostatic pressure of the sulfate-reducing bacteria of the *Desulfovibrio* genus

Nathalie Pradel¹, Amira Amrani¹, Edouard Champaud¹, Manon Bartoli¹, Helene Gaussier¹, Bernard Ollivier¹, Alain Dolla¹. ⁽¹⁾ MIO, UM110, Aix Marseille Université, Marseille, FR.

Hydrostatic pressure is a crucial physical parameter in deep-sea environments. Because high pressure modifies the conformation of molecules and alters their function, the organisms inhabiting these environments have developed strategies to counteract the effect of these extreme conditions. These organisms are called “piezophiles”. They grow optimally at pressures higher than the atmospheric pressure (0.1 MPa). We study the adaptation strategies of piezophilic mesophilic sulfate-reducing bacteria of the *Desulfovibrio* genus to high pressure-life conditions (up to 26 MPa), at the genomic, transcriptomic, and proteomic levels. These analyses reveal that osmolytes transport, biosynthesis and accumulation, may be an important adaptation process developed by these micro-organisms. In addition, our data points out possible pressure-dependent transcriptional regulation mechanisms, which may induce energy and metabolic pressure adapted pathways. This work provides new insights into mechanisms linked to hydrostatic pressure adaptation of sulfate-reducing bacteria and opens the door for future more targeted studies of these mechanisms.



MI211

Estudio del fenómeno de quorum sensing en aislamientos bacterianos marinos identificados como *Stappia indica*

Ripe-Jaime Laura C.¹, Catalina Arévalo-Ferro². ⁽¹⁾ Química, Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, CO.

⁽²⁾ Biología, Ciencias, Universidad Nacional del Colombia, Bogotá, CO.

El *Quorum Sensing* es un fenómeno de interés universal por las implicaciones en la regulación que ejerce en la expresión de fenotipos bacterianos y la comunicación inter-reinos en el cual las bacterias utilizan moléculas de señalización para comunicarse y regular la expresión génica de distintos fenotipos, dependiendo de la densidad poblacional. El papel de las comunidades bacterianas en los estados de salud y enfermedad de un individuo se reconoce actualmente como una pieza clave en la comprensión de un sistema ecológico en equilibrio, y cada una de las especies bacterianas juega un papel importante en estos procesos. A partir de corales sanos y con enfermedad de Banda Negra se identificaron once aislamientos bacterianos como *Stappia indica*, en ensayos preliminares se observó que esta bacteria estaba involucrada en eventos de comunicación bacteriana regulados por *Quorum Sensing*, de esos once aislamientos, seis mostraron evidencia de eventos de comunicación regulados por *Quorum Sensing*, cinco aislamientos provenientes de los corales enfermos y uno proveniente de un coral sano. Este fenómeno no se había reportado en esta especie bacteriana, razón por la cual en este trabajo se evaluó desde aproximaciones experimentales. Se detectó la producción por parte de diferentes aislamientos de *S. indica* de moléculas de señalización del *Quorum Sensing* tipo Acil Homoserín Lactonas (AHLs) por medio de biosensores bacterianos específicos para estas moléculas. Posterior a la detección se realizaron extracciones con solventes orgánicos a partir de las cuales se obtuvieron, se purificaron y se analizaron cualitativamente estas moléculas señal, y se encontró que el tamaño de las AHLs producidas por estos aislamientos oscilaban entre los seis y los diez carbonos. La producción diferencial de moléculas de señalización tipo AHLs entre aislamientos de la misma especie, podría tomarse como indicador de desequilibrios al interior de las comunidades bacterianas cultivables.

MI212

Potential activity of the extract of *Myrcia bella* incorporated in nanostructured lipid system against *Candida glabrata*

Marena Gabriel Davi¹, Saldanha Luiz Leonoardo², Ramos Matheus Aparecido³, Silva Patrícia Bento³, Bosqueiro Anne Lígia², Marlus Chorilli³, Bauab Tais Maria³, Nogueira Flávia Resende¹. ⁽¹⁾ Biotecnologia em Química Medicinal, Uniara, Universidade de Araraquara, Araraquara, BR. ⁽²⁾ Instituto de Biociência, Unesp, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, BR. ⁽³⁾ Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências Farmacêutica, UNESP, Araraquara, BR.

A significant increase in fungal infections in humans has attracted the attention of researchers. Among the main opportunistic fungi, we highlight the genus *Candida* sp and among the species, *C. glabrata* which is commensal of the oral cavity and human intestine, but that currently is involved in cases of hospital admission and resistance to antifungals. Studies have demonstrated an important role of the use of nanotechnology involving the incorporation of plant extracts in the optimization of their biological properties. *Myrcia bella* Cambess, commonly known as “pedra-hume-caá”, is a common plant species in the state of São Paulo and has been used in folk medicine as astringents, anti-hemorrhagic, antihypertensive, antiulcerative and in the treatment of diabetes. Faced with fungal drug resistance and increased incidence of diseases associated with *C. glabrata*, the objective of the present study was to evaluate the antifungal activity of the *M. bella* extract free or incorporated in a nanostructured lipid system (NLS) by microplate dilution technique against *C. glabrata* ATCC 2001. The free extract was diluted in dimethylsulfoxide (20% DMSO), while the incorporated extract was obtained by incorporation into a microemulsion containing 80% aqueous phase (phosphate buffered saline), 10% oil phase (grape seed oil and cholesterol 5:1) and 10% of a surfactant blend (polyoxyethylene 20 cetyl ether and soy phospholipids 2:1). The free or incorporated extracts were tested at concentrations ranging from 1000 to 0.97 µg/mL, in addition to the positive controls amphotericin B (32 µg/mL) and fluconazole (253 µg/mL). The results showed a MIC of 3.91 µg/mL for the free extract and 1.95 µg/mL for the incorporated, demonstrating it is improved antifungal activity. Thus, it can be concluded that the incorporation of the extract of *M. bella* into NLS was able to potentiate its biological activity, emphasizing the importance of the use of nanotechnology as a strategy to control infections caused by *C. glabrata* associated with the use of natural products.

MI213

Study of the transferability of plasmids carrying the *pil* operon in typical EPEC strains

Garcia Bruna G¹, Castro Felipe S¹, Uenishi Lucas T¹, Vieira Mônica A M¹, Girão Dennys M², Dos Santos Luis F³, Hernandez Rodrigo T⁴, Piazza Roxane M⁵, Cergole-Novella Maria C⁶, Gomes Tânia TAT¹. ⁽¹⁾ Microbiologia, Microbiologia e Imunologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, BR. ⁽²⁾ Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽³⁾ Divisão Técnica de Biologia Médica, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, BR. ⁽⁵⁾ Laboratório Bacteriologia, Instituto Butantan, São Paulo, BR. ⁽⁶⁾ Centro de Laboratório Regional de Santo André VIII, Instituto Adolfo Lutz, Santo André, BR.

Typical enteropathogenic *Escherichia coli* (tEPEC) strains promote attaching/effacing lesions in eukaryotic cells and carry the EAF plasmid (EPEC adhesion factor). This plasmid encodes the Bundle-forming pilus (BFP), which mediates localized adherence (LA) pattern formation in eukaryotic cells. Recently, we have identified tEPEC strains (serotype O119:H6) that show LA and an aggregative adherence (AA)-like pattern simultaneously (LA/AA-like+). Remarkably, AA is typically formed by strains of the enteroaggregative *E. coli* (EAEC) pathotype. In one LA/AA-like+ strain (EC404/03), we identified a 80 kb IncI1 plasmid containing the *pil* operon, which encoded a type IV fimbriae named Pil. A similar operon was previously described in EAEC C1096 strain, in which it was associated with AA production and plasmid transfer by conjugation. Although the horizontal transfer of plasmids carrying the *pil* operon could render some tEPEC strains more prone to produce biofilm, thus causing a more persistent or exacerbated diarrheal process, the ability of these plasmids to be transferred to other strains by conjugation and to contribute to the production of the AA-like pattern is unknown. Therefore, we evaluated the capacity of plasmids carrying the *pilEc404* (from strain EC404/03, LA/AA-like+) and *pilC1096* (from strain EAEC C1096, AA+) operons, which were previously identified in tEPEC strains of various serotypes, to be transferred by conjugation. The potential role of the *pil* operon in the establishment of the AA-like phenotype was also investigated. For these purposes, conjugation assays were performed independently between 56 *pil*+ tEPEC (used as donors) and the non-adherent laboratory *E. coli* MA3456 strain (used as recipient strain). The resulting transconjugants were analyzed regarding their plasmid profiles and adherence patterns on HeLa cells. Plasmid transfer was detected in 11 (~23%) of the 42 of *pilEc404*+ tEPEC strains and in 8 (57%) of the 14 *pilC1096*+ tEPEC strains. Regarding their adherence patterns, 7 (63.6%) of the *pilEc404*+ and none of the *pilC1096*+ transconjugants produced the AA-like pattern on HeLa cells. We concluded that although *pilC1096*+ strains were more often able to transfer plasmids carrying the *pil* operon as compared to the *pilEc404*+ strains, plasmids carrying the latter *pil* allele were more likely able to disseminate the AA phenotype.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

MI214

Evaluation of the effect of photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT) on the fungus *Paracoccidioides brasiliensis*

Passos Juliene C S², Carvalho Moisés L², Morais Flavia V¹, Costa Maricilia S². ⁽¹⁾ Laboratório de Biologia Celular e Molecular de Fungos, Instituto de Pesquisa & Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José Dos Campos, BR. ⁽²⁾ Instituto de Pesquisa & Desenvolvimento, Instituto de Pesquisa & Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José Dos Campos, BR.

Paracoccidioides brasiliensis is a dimorphic fungus, etiological agent of Paracoccidioidomycosis (PCM), an endemic systemic mycosis of Latin America. It is a disease dependent on the interaction between the fungus and the immune response of its host to evolve to spontaneous cure or spread through the body causing chronic granulomatosis. It has been shown that its treatment with antifungal is aggressive to the body, occurring most often after the disease has spread and reached the mucous membranes. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT) is a process that combines a photosensitizer (PS) and light, producing reactive oxygen species (ROS) in the presence of oxygen causing the death of treated cells. In this work, we evaluated the effect of PACT on isolate 18 of *Paracoccidioides brasiliensis* (Pb18) under different morphological forms (mycelium and yeast), using toluidine blue (TB) as PS and different energy fluxes. In addition, ROS production after PACT was also evaluated. It was observed that the PACT with TB was able to interfere significantly both in the yeasts and the mycelia fungal forms, depending on the concentration of TB and the density of energy used. An inhibition of ~ 52%, ~ 44% and ~ 75%, respectively, was observed at the highest concentrations of TB (0.005 mg / ml) at the different fluences 20, 30 and 40 J / cm² respectively; while at the lowest PS concentration (0.001 mg / ml) the inhibition was ~ 16%, ~ 32% and ~ 30%, respectively. In addition, was observed the inhibitory effect of PACT in ~ 58% and ~ 91% on viability of mycelia, with TB at concentrations of 0.001 and 0.002 mg / ml respectively, using fluence of 40 J / cm². Our results indicate that PACT, with TB, can be considered a potentially effective antifungal therapy, since it can significantly affect the viability of both cellular forms of *P. brasiliensis*. In addition, an increase in ROS production after PACT was observed in a mode dependent on the concentration of the photosensitizer suggesting that PACT, using TB, is able to inhibit the growth of *P. brasiliensis*, probably by a mechanism related to ROS production.

This work was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

MI215

Evaluation of the *Paracoccidioides brasiliensis* thermal dimorphic transition under lower glucose supply and autophagy modulators

Moreira Fabiana F¹, **Morais Flavia V**². ⁽¹⁾ Laboratório de Biologia Celular e Molecular de Fungos, Faculdade de Educação, Universidade do Vale do Paraíba, São José Dos Campos, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Biologia Celular e Molecular de Fungos, Instituto De Ciências da Saúde, Universidade Paulista - Unip, São José Dos Campos, BR.

Paracoccidioides brasiliensis is a thermal dimorphic fungus, responsible for causing Paracoccidioidomycoses, which infects humans and animals. In its infective form, *P. brasiliensis* mycelia is inhaled and, in the lungs, transits to yeasts triggered by temperature shift. During mycelia to yeast (M-Y) transition the fungus undergoes morphological and metabolic changes by activating mechanisms to allow its adaptation and survival inside the host. Preliminary studies suggest that autophagy, a process recruited by cells under stress conditions, such as starvation, temperature alterations, among others, is one of these mechanisms. Here, we evaluated the autophagy of *P. brasiliensis*, isolate 18 (Pb18), during M-Y transition under lower glucose supply. Moreover, we used the autophagy modulators, 0.2 µg/ml rapamycin, an activator, and 10 mM 3-methyl adenine (3-MA), an inhibitor, to study the role of autophagy in the survival of the fungus during glucose deprivation. After temperature shift, cells were collected (30 min, 24 h, 48 h, 96 h) fixed in 4% paraformaldehyde and photo documented to quantify the hyphae tips structures transition: hyphae showing enlarged tips with buds; hyphae with enlarged tips; and hyphae without enlarged tips, which represents the temporal transition between the two morphological forms of the fungus. Up to 48 h of temperature shift, no significant difference was observed in the quantification of the hyphae tips considering the amount of glucose. However, after 96 h of temperature shift, mycelia cultures containing 2% and 0.2% glucose presented a reduction for hyphae without enlarged tips of 98% and 66%, respectively. The addition of rapamycin in the cultures containing 2% and 0.2% glucose reduced this type of tips in 89% and 99%, respectively. Whereas, in mycelia cultures containing 2% and 0.2% glucose the addition of 3-MA reduced hyphae without enlarged tips of 36% and 31%, respectively. These results suggest that the lower supply of glucose (0.2%) slows the transition of the fungus and that the addition of rapamycin was able to accelerate the mycelia to yeast transition of *P. brasiliensis*.

FAPESP 02138-7



MI216

The humoral immune responses induced by recombinant BCG strains induce a protective immune response against human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus

Nicolás Gálvez¹, Soto Jorge A¹, Rivera Claudia A¹, Palavecino Christian E¹, Céspedes Pablo F¹, Emma Rey-Jurado¹, Bueno Susan M¹, Kalergis Alexis M^{2,1}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Inmunología Molecular Biomédica, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. ⁽²⁾ Departamento de Endocrinología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

Currently, both human Respiratory Syncytial Virus (hRSV) and human Metapneumovirus (hMPV) are considered two major etiological agents for acute lower respiratory tract infections (ALRTIs) in children, elderly and immunocompromised people worldwide, promoting similar symptoms and clinical pathologies. Today, neither safe nor licensed vaccines for either of those viruses has been approved. Our study group developed two different recombinant *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin (BCG) strains as vaccine candidates expressing the hRSV Nucleoprotein (rBCG-N) or the hMPV Phosphoprotein (rBCG-P), respectively. Both vaccines are able to induce cellular protection against each respective virus. Here, we show that humoral immune response induced by both rBCG-P and rBCG-N vaccines were able to protect against the respective viral infection promoting the secretion of specific antibodies against each virus, and several specific proteins through classical linked recognition. Also, we identified that both vaccines promoted the induction of neutralizing antibody *in vitro*, as well as sera transfer protection *in vivo*. Our results support the notion that the use of a recombinant BCG vaccines could be considered as a new platform against these two major respiratory pathogens.

Millennium Institute of Immunology and Immunotherapy. CONICYT BECA N°21151028. FONDECYT 1150862. Biomedical Research Consortium Chile.

MI217

Obesity, arterial hypertension, chronic cardiovascular diseases and early increased expression of IL-6 and IL-8 are associated with severe influenza A virus infection

Tamara García^{1,2,3}, Raveen Rathnasinghe^{1,2}, Aldo Barrera^{1,2}, María José Núñez^{1,2}, Jenniffer Angulo^{2,3}, Claudia Marco^{1,2}, Analía Cuiza^{1,2}, Catalina Infante^{1,2}, Nicole Le Corre², Jorge Dreyse⁴, Karla Tapia^{2,1}, Marcelo López-Lastra^{2,3}, Marcela Ferrés², Rafael Medina^{1,2,3,5}. ⁽¹⁾ Laboratory of Molecular Virology, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. ⁽³⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Pontificia Universidad Católica de Chile. ⁽⁴⁾ Departamento de Medicina Intensiva, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽⁵⁾ Department of Microbiology, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, USA.

Influenza A virus infections cause seasonal epidemics and occasional pandemics and remain a major cause of morbidity and mortality worldwide. Disease severity depends on virological and host factors, mainly due to extreme age, pregnancy, immunosuppression and numerous identified comorbidities; however, it is still unclear what specific molecular factors are at the basis of disease outcome in the general population. To conduct a comprehensive analysis to understanding the host factors that affect clinical outcome, we analyzed clinical metadata from 129 severe and 93 non-severe patients, evaluated the status of the innate and adaptive immune responses by measuring pro- and anti-inflammatory cytokines during the acute phase of infection (days 1-7) using a Multiplex ELISA, and determined seroconversion by hemagglutination inhibition assay at 28 days after infection. We also evaluated immune genetic predisposition by evaluating single nucleotide polymorphisms (SNPs) of Interleukin 28B (*IL28B*; an antiviral cytokine) and the Tumor Necrosis Factor- α (*TNF- α* ; a pro-inflammatory cytokine) genes, which expression level depends on the presence of SNPs rs12979860 (CT/TT/CC) - rs8099917 (TG/GG/TT) and rs1800629 (GA/GG/AA), respectively. Our results show that severe influenza infection is more frequently associated with comorbidities, such as obesity (BMI>30) and chronic cardiovascular diseases (including arterial hypertension) and also with an early increased expression of IL-6 and IL-8. Additionally, severe patients that required ICU, presented a dysregulation in the expression of IL-1b, IL-15 and IL-4, and had a genetic predisposition to express higher amounts of IL-28B. On the other hand, lack of anti-influenza antibodies was not a predictor of severity. Overall these results suggest that innate-immune response play a crucial role in disease outcome, providing potential new targets for therapeutic and prophylactic interventions for those at higher risk.

FONDECYT 1121172, 1161791, and Proyecto Anillo PIA ACT 1408 from CONICYT; ICM del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, grant P09/016-F and NIH-NIAID 1U19AI135972.

MI218

Biogénesis de vesículas de membrana externa en *Campylobacter fetus*

Pablo Farace¹, Julia Sabio Y García³, Claudia Morsella², Catalina Taibo³, Julián Diodati³, Fernando Paolicchi², Silvio Cravero¹, Andrea Gioffré¹. ⁽¹⁾ Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), INTA-CONICET, Laboratorio BC&M, INTA, Buenos Aires, AR. ⁽²⁾ Departamento de producción Animal, Laboratorio de Bacteriología, EEA-INTA Balcarce, Balcarce-Buenos Aires, AR. ⁽³⁾ Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Laboratorio integral de Microscopía, INTA, Buenos Aires, AR.

Campylobacter fetus es un patógeno que produce trastornos intestinales e infecciones sistémicas severas en humanos. En animales, está asociado a infertilidad y abortos en vacunos y ovinos. Las vesículas de membrana externa (OMVs) contienen componentes de la membrana externa y del periplasma y constituyen una interfase hospedador-patógeno multifunción, asociadas a la transferencia de factores de virulencia, comunicación interbacteriana y modulación de la patogénesis, resistencia a componentes antibacterianos, etc. Como parte de un trabajo de caracterización del secretoma, nos planteamos el objetivo de evaluar y caracterizar la formación de OMVs en *C. fetus*. Se trabajó con cultivos de 6 cepas de *C. fetus* bovinas (caldo Brucella, BD y Skirrow, Oxoid). Las OMVs se purificaron a partir del sobrenadante de cultivo por filtración y ultracentrifugación. Se evaluó su presencia y se las caracterizó mediante microscopía electrónica de transmisión (MET) en un JEOL 1200XX a 80Kv. Posteriormente, se realizó un *dot-immunoblot* para determinar la presencia de componentes inmunoreactivos mediante el empleo de un suero policlonal dirigido a proteínas totales de *C. fetus* producido en conejo. Pudimos observar la presencia de OMVs en los cultivos bacterianos de todas las cepas estudiadas. Aunque los niveles de producción resultaron variables, no observamos diferencias en cuanto a la subespecie estudiada. El análisis por MET de OMVs purificadas mostró que presentan una típica “S-layer” y tamaños variables de 24 a 140 nm; con un promedio de $76,58 \pm 11,53$ nm. Si bien las bacterias producen OMVs de forma espontánea, el empleo de antibiótico en los medios de cultivo estimuló su producción. La intensidad de señal obtenida en el ensayo *dot-immunoblot* permitió determinar la presencia de componentes inmunoreactivos en las OMVs de *C. fetus*. Teniendo en cuenta que las proteínas SLPs que constituyen la “S-layer” de la bacteria son inmunoreactivas, podemos hipotetizar que parte de la inmunoreactividad observada podría deberse a este componente. En este estudio, hemos demostrado por primera vez la producción de OMVs en *C. fetus*, con características similares a las de otras bacterias Gram negativas y la presencia de compuestos inmunoreactivos. La profundización en su conocimiento podría ser de importancia en el estudio de la interacción hospedador-patógeno.

ANPCyT-PICT2015-1541, INTA-PNBio1131034

MI219

Contribución del marco de lectura abierto BAB1_0270 en la resistencia de *Brucella abortus* al estrés ácido y oxidativo

Gómez Leonardo A¹, Álvarez Francisco I¹, Coloma Roberto F¹, Oñate Ángel A¹. ⁽¹⁾Laboratorio de Inmunología Molecular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL.

Brucella abortus es una bacteria Gram negativa causante de la brucelosis, una enfermedad zoonótica global que afectan a humanos y bovinos. Es un patógeno intracelular que resiste el estrés oxidativo producido en los fagosomas de macrófagos mediante la expresión de enzimas con actividad antioxidantes y de diversos factores de virulencia que le permiten escapar del fagolisosoma hacia el retículo endoplásmico donde desarrolla su nicho replicativo. El marco de lectura abierto (ORF) BAB1_0270 codifica una metaloproteinasas dependiente de Zinc, un factor importante en la sobrevivencia y replicación intracelular de *B. abortus*. Se ha demostrado que la eliminación de este ORF en *B. abortus* 2308 reduce su capacidad para escapar del fagolisosoma hacia su nicho replicativo. Aunque la función específica del ORF BAB1_0270 para *B. abortus* es desconocida, análisis *in silico* muestran que el producto de este ORF posee homología con proteínas de la familia ImmA/IrrE, las cuales clivan proteínas represoras, permitiendo la transcripción de genes requeridos para la sobrevivencia bacteriana en ambientes adversos. Basado en esta información, se estudió si el ORF BAB1_0270 de *B. abortus* 2308 se encuentra involucrado en la resistencia al estrés oxidativo y ácido, fenómenos a los cuales *B. abortus* se encuentra expuesta durante su tráfico intracelular en macrófagos. Este rol fue cuantificado cultivando una cepa mutante para el ORF BAB1_0270 (*B. abortus* D270) en distintas concentraciones de peróxido de hidrógeno o cultivada en medios con distintos valores de pH. Los resultados mostraron que la cepa mutante *B. abortus* D270 fue significativamente más susceptible al peróxido de hidrógeno que la cepa *B. abortus* 2308. Además, la cepa mutante mostro una susceptibilidad significativamente mayor al pH ácido que la cepa *B. abortus* 2308, especialmente, cuando ambas cepas fueron expuestas a valores de pH 5.5 y 5.0. Por lo tanto, la eliminación del ORF BAB1_0270 desde *B. abortus* 2308 reduce su resistencia al estrés oxidativo y ácido, lo cual estaría directamente relacionado con la reducida capacidad que presenta esta cepa mutante para escapar del fagolisosoma hacia el retículo endoplásmico, y por ende, de sobrevivir y replicarse al interior de los macrófagos.

FONDECYT 1180122



MI220

***Streptococcus pneumoniae* recognition by neutrophils stimulates IL-10 production during pneumococcal pneumonia**

Liliana González¹, Gerladyne Salazar¹, Hernán Peñaloza¹, Susan Bueno¹. ⁽¹⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL.

Introduction. *Streptococcus pneumoniae* is the most prevalent cause of community-acquired pneumonia worldwide. Previous data obtained in our laboratory show a major role of the anti-inflammatory cytokine IL-10 in host survival during pneumococcal pneumonia. Specifically, IL-10 production is important to modulate lung inflammation and neutrophil accumulation in the lung tissue. In addition, several reports have described a major ability of neutrophils to produce IL-10 during inflammation. However, whether these cells produce IL-10 in the lung tissue during *S. pneumoniae* remains unknown. **Hypothesis.** We hypothesized that neutrophils are major IL-10 producing cells during *S. pneumoniae* pneumonia and, therefore, are major modulators of the lung immune response. **Objectives.** 1. To evaluate the ability of neutrophils to produce IL-10 *in vivo*. 2. To evaluate whether bacterial recognition by these cells is enough to trigger its production. **Methodology.** To evaluate the ability of neutrophils to produce IL-10 *in vivo*, IL-10/GFP Vertx mice were intranasally infected with 3×10^7 CFUs and IL-10 production kinetic by neutrophils was followed by flow cytometry during 24 and 48 hours post-infection (hpi). Next, to evaluate whether *S. pneumoniae* molecular patterns trigger IL-10 production in neutrophils, bone marrow isolated neutrophils were exposed to heat killed *S. pneumoniae* for 24 hours and IL-10 was quantified by ELISA in the supernatant. **Results.** As compared to other innate cells, neutrophils showed to be the major IL-10 producing cells after 24 hpi. Moreover, the direct contact of bone marrow derived neutrophils with *S. pneumoniae* induced the production of IL-10. **Conclusions.** In this study we provide strong evidence regarding the ability of neutrophils, but not other immune cells, to produce IL-10 during *S. pneumoniae* in the lung tissue at early time post infection. Moreover, recognition of *S. pneumoniae* molecular patterns by neutrophils is enough to trigger the production of IL-10 by these cells. In summary, our data suggest that neutrophils are major modulators of the immune response during *S. pneumoniae* pneumonia.

FONDECYT 1170964



MI221

Expression of permease periplasmic loops from *E. coli* ABC importers for antibody production and inhibition assays

Gabriel Guerra¹, Pereira Lennon Ramos¹, Moreno Ana Carolina Ramos¹, Andrea Balan¹. ⁽¹⁾ Biomedical Sciences Institute, Microbiology, University of São Paulo (USP), São Paulo, BR.

The transport of molecules inside and outside of the cell is a vital process of the metabolism. The ABC transporters family (ATP Binding Cassette) are among the main protein complexes responsible for the molecules movement against a concentration gradient through the plasmatic membrane. They can be exporters, which the classic example are the drug efflux pumps, or importers, and in this case they need a periplasmic protein to carry the substrate to be transported to the pore formed by the permeases. In the context of the different molecules that need to be transported, the ABC transporters are important in several human pathogenicities like cystic fibrosis, cancer, multiple drug resistance and also related to the pathogenicity and virulence of bacteria. The investigation of ways to inhibit them can be an interesting alternative against these disease scenarios. In this manner, the present project aims to define a inhibition model of this systems based in the production of antibodies against different ABC transporters and this way block the interaction between the permeases and the periplasmic proteins (in importers). For this, we used the RAD display system for the expression of the permease regions exposed to the periplasm and production of antibodies against them. In this system, the target sequences are cloned inside the gene *radA* of *Pyrococcus furiosus* and expressed as fusion proteins, always exposed and soluble. The pRAD-loop proteins were purified using ionic exchange chromatography and later used for antibody production, that were tested using ELISA for neutralization of RadA and after that inactivation assays *in vivo* using mice. It is expected to test a working and specific method for inhibition of ABC transporters and in this manner contribute for the development of possible alternative therapies against diseases related to this type of transporter.

CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brazil), FAPESP (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo, Brazil)

MI222

Adherence to HeLa and HK-2 cells and virulence profile of O157:H7 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from hide and carcass of cattle

Maria Cecilia Cergole-Novella^{1,2}, Kathelin Lascowski², Gonçalves Evanilde M², **Guth Beatriz EC**². ⁽¹⁾ Laboratório de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz, Santo André, São Paulo. ⁽²⁾ Department of Microbiology, Immunology, Parasitology, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, BR.

Introduction: Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) is a food-borne pathogen, being O157:H7 serotype the main cause of outbreaks and sporadic cases of hemolytic uremic syndrome in several countries. Cattle are the principal STEC reservoir, and meat contamination during processing represents an important point of concern. Adherence of STEC to different surfaces and the virulence potential of isolates may be implicated on disease outcome and persistence of isolates on the animal reservoir or environment. **Aims:** Evaluate the ability of O157:H7 STEC strains isolated from hide and carcass of cattle to adhere to HeLa and to human renal proximal tubular epithelial (HK-2) cells, determine the *stx* subtypes and presence of several virulence associated genes. **Methods:** 40 O157:H7 strains isolated in Brazil from hide and carcass of cattle and identified as STEC were studied. Adherence to HeLa and HK-2 cells were performed at 37°C for 6 hs. PCR were carried out for *stx* subtyping and identification of *eae*, *ehx*, *iha*, *toxB*, *lpfO157*, and *stcE* genes. **Results:** A Localized-like adherence (LLA) to HeLa cells was observed in 33 (82.5%) isolates, a very weak LLA pattern occurred in 4 (10%), and an aggregative adherence (AA) was identified in the 3 (7.5%) remaining isolates. When the HK-2 cells were used all the O157:H7 isolates showed AA. The *stx* subtypes 2c, 1a2c, 2a, and 2a2c were detected in 20 (50%), 9 (22.5%), 6 (15%), and 5 (12.5%) of the isolates, respectively. The virulence genes *eae*, *ehx*, *iha*, *toxB*, *lpfO157A1-3* and *lpfO157A2-2* were carried by all O157:H7 isolates, whereas most of them (75%) also presented *stcE*. The three isolates that presented AA both to HeLa and HK-2 cells were positive for *stx2c* and *stcE*. The presence of *aat* and *aggR* genes, molecular markers of enteroaggregative *E. coli* was not detected by PCR in any of the isolates. **Conclusion:** The ability of O157:H7 STEC to adhere to HK-2 cells has not been previously described. The AA phenotype showed by all the O157 isolates from hide and carcass of cattle may reflect their enhance ability to adhere to eukaryotic cells and, thus contribute to their maintenance in the animal reservoir.

MI223

Secretion of antimicrobial peptides and opsonin in *Galleria mellonella* larvae after infection with Adherent Invasive *Escherichia coli* (AIEC)

Daniela Valeska Gutiérrez¹, Carlos Castañeda², Andrea Schäfer³, Anna Lange³, Erwin Aballay², Felipe Del Canto¹, Julia-Stefanie Frick³, Roberto Vidal¹. ⁽¹⁾ Programa de Microbiología y Micología, Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Sanidad Vegetal, Agronomía, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Institute of Medical Microbiology and Hygiene, University of Tübingen, Tübingen, DE.

Adherent Invasive *Escherichia coli* (AIEC) are defined by the *in vitro* capacity of adhere and invade intestinal cells and also to survive and replicate within macrophages. AIEC have been frequently isolated from patients with Crohns disease, a chronic inflammatory bowel disease. *Galleria mellonella* (wax moth) is a simple invertebrate that has been recently used as an alternative experimental model for the study of human pathogens, which offers the advantage that it can be maintained at the human physiological temperature (37°C), at which most of the bacterial virulence factors are expressed. Early results reported so far suggest a correlation with the virulence displayed in mice. The immune response of insects such as *G. mellonella*, as well as that of mammals, has both structural and passive barriers as along with cellular and humoral effectors. The humoral response includes melanization of the hemolymph, secretion of opsonins and secretion of antimicrobial peptides (AMPs). AMPs, the major and best known immune effectors induced by infection, are synthesized by *G. mellonella* fat body, hemocytes and other tissues. On the other hand, opsonins, recognize and bind bacteria in order to eliminate them. **Objectives:** To determine the expression of gloverin (an AMP) and opsonin (a hemolin) in *G. mellonella* larvae after infection with AIEC. **Methods:** The expression of gloverin and opsonin genes was analyzed in *G. mellonella* larvae using quantitative PCR, at different times after force feeding of a non-pathogenic strain (*E. coli* HB101), AIEC strains and, an AIEC deletion mutant for *htrA*, which has a reduced invasion capacity and a lower resistance to phagocytosis compared to the wild type. **Results:** No significant changes were observed in the expression of gloverin or hemolin after infection with *E. coli* HB101, AIEC NRG857c and AIEC 4C01. The expression of gloverin was induced after 4 h of infection with AIEC 4C01 Δ *htrA*, which decreases after 24 h. **Conclusions:** AIEC and *E. coli* HB101 do not induce the expression of gloverin and hemolin. In contrast, an *htrA* mutant AIEC induce the expression of gloverin after 4 h of infection, suggesting that AIEC might have mechanisms to evade humoral innate immune response.

CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2014-21140522. FONDECYT Iniciación 2015 N° 11150966. FONDECYT Regular 2016 N° 1161161

MI224

Análisis de la respuesta transcripcional de *Piscirickettsia salmonis* frente a variaciones en la disponibilidad de Fe y Cu

Khantati Hauyon¹, Pablo Orestes¹, Pamela Aravena¹, Rodrigo Pulgar¹, Mauricio González^{1,2}, Verónica Cambiazo^{1,2}.

⁽¹⁾ Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Centro de Regulación del Genoma (CRG), Universidad de Chile, Santiago, CL.

Piscirickettsia salmonis es una bacteria Gram negativa, intracelular facultativa y agente etiológico de la enfermedad denominada piscirickettsiosis que afecta principalmente a especies salmónidas. En el contexto de la interacción patógeno-hospedero la batalla por micronutrientes esenciales, como hierro y cobre, involucra cambios en la expresión de componentes del metabolismo de estos metales. Así, frente a una infección, el hospedero es capaz de limitar el acceso a Fe por parte del patógeno y de utilizar el Cu como bactericida. Debido a ello, los patógenos han desarrollado mecanismos de captura de Fe necesarios para su proliferación durante la infección, junto con la optimización de sistemas de resistencia a Cu. En este trabajo, nuestro objetivo es caracterizar el patrón de expresión de genes que codifican proteínas implicadas en la respuesta de *P. salmonis* al exceso o déficit de Fe y Cu, en dos condiciones de crecimiento: al interior de macrófagos de *S. salar* y en un medio libre de células. Ensayos de viabilidad revelaron una alta tolerancia a Fe por parte de *P. salmonis* junto con un aumento en su proliferación. A diferencia del Fe, la exposición a bajas concentraciones de Cu tiene un efecto inhibitorio sobre la proliferación de *P. salmonis*. Para los experimentos de expresión génica se seleccionaron concentraciones extracelulares a Fe (1,5 mM), Cu (50 μ M), DPD (50 μ M) o batocupreina (100 μ M) capaces de generar cambios significativos en el contenido intracelular del metal sin afectar la proliferación. La respuesta transcripcional de *P. salmonis* frente a un exceso o déficit de Fe, medida mediante qPCR, indicó cambios en la expresión de genes asociados a la adquisición de Fe, incluyendo el regulador transcripcional Fur. Por otra parte, ensayos de hibridación en microarreglos revelaron que durante la infección en macrófagos de *S. salar* pre-cargados con Fe o deficientes en este metal, los procesos biológicos de biogénesis de pared celular y membrana plasmática son relevantes para la adaptación de *P. salmonis* a la disponibilidad diferencial de Fe. En experimentos en curso estamos analizando la respuesta transcripcional de *P. salmonis* frente a fluctuaciones en la disponibilidad de Cu.

FONDECYT Regular 1160802, FONDECYT de Iniciación 11161083, FONDECYT Regular 1151384 y Proyecto Fondap N°15090007



MI225

Caracterización de la respuesta inmune contra quistes fértiles e infértiles de *Echinococcus granulosus* en bovinos y ovinos

Christian Andrés Hidalgo¹, Caroll Stooore¹, Mauricio Jiménez¹, Felipe Correa¹, Ismael Pereira¹, Rodolfo Paredes¹.

⁽¹⁾ Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andrés Bello.

La hidatidosis es una enfermedad parasitaria causada por el metacestodo de *Echinococcus granulosus* y afecta a mamíferos como bovinos, ovinos y seres humanos. El metacestodo está compuesto por un sincitio celular llamado capa germinal, encargado de secretar una matriz extracelular llamada capa laminar y por procesos de diferenciación celular generar la próxima fase del ciclo parasitario denominado protoescólice. Rodeando al parásito, el hospedero forma una tercera capa denominada capa adventicia. Este parásito puede sobrevivir años en las vísceras de su hospedero intermediario y esto se debe en parte a su capacidad de modular la respuesta inmune y evitar ser destruido. En ovinos, se observa que la mayoría de los quistes (más del 70%) al ser examinados son fértiles (poseen protoescólices), sin embargo, en bovinos, se observan una gran cantidad (más del 90%) de quistes hidatídicos que en su interior no poseen protoescólices y por lo tanto se consideran como infértiles. Las causas moleculares responsables de este fenómeno no están claras, pero se ha postulado la respuesta inmune del hospedero como la responsable. Para comprender mejor la relación de las células del sistema inmune con el metacestodo, se realizó el muestreo de animales en 6 ciudades correspondientes a 5 Regiones diferentes de Chile desde donde se lograron obtener 234 quistes hidatídicos, 146 desde bovinos y 88 de ovinos. Se observa que la capa adventicia de quistes fértiles e infértiles difiere completamente en su composición celular. Los quistes hidatídicos fértiles poseen una capa adventicia compuesta principalmente por colágeno y fibroblastos mientras que los quistes infértiles poseen una capa adventicia con un infiltrado inflamatorio compuesto por macrófagos espumantes, células gigantes multinucleadas y centros germinales de linfocitos en contacto directo con la capa laminar del parásito. Existen diferencias en la organización de la capa adventicia entre quistes hidatídicos infértiles en bovinos y ovinos. En diversos cortes histológicos, se puede observar una desorganización de la capa laminar en conjunto con células del hospedero dentro del quiste. Estos resultados apoyan la propuesta de que los quistes hidatídicos infértiles son el resultado de una respuesta inmune efectora contra el parásito.

FONDECYT 1161475



MI226

miRNAs expression during the immune response of bone marrow-derived dendritic cells to *Cryptococcus neoformans* infection

Fabián Andrés Hurtado Erazo¹, Raffael Araujo De Castro², Lorena Derengowski², Ildinete Silva-Pereira². ⁽¹⁾ Patologia Molecular, Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, BR. ⁽²⁾ Biologia Celular, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Brasília, BR.

The pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans* is one of the etiological agents of cryptococcosis, an invasive fungal infection that can spread to the central nervous system, and mainly affects immunocompromised patients. The host immune response to microbial infection involves genetic reprogramming, which is precisely controlled to contain or effectively eliminate pathogen without causing excessive damage to the host. Micro-RNAs (miRNAs) are small regulatory RNAs involved in gene regulation mechanisms related to variation in gene expression, observed in a wide range of physiological and pathological processes by controlling either mRNA stability or translation. Therefore, these molecules have been identified as a crucial component in gene regulation machinery, affecting production and function of proteins in health and disease. This study focused on characterizing the profile of miRNAs expressed in primary bone marrow-derived dendritic cells (BMDCs) from BALB/c mice in response to infection with virulent B3501 strain and non-virulent mutant cap67 strain of *C. neoformans*. For this purpose, BMDCs were co-cultured with B3501 and cap67 strains for 4 and 24 hours, after which the RNA was extracted for analysis of miRNA expression by *RT-qPCR*. The phagocytosis ability of 4 hours incubated BMDCs was analyzed to confirm the infection. The phenotype of BMDCs was confirmed with the expression of cell surface markers CD11b, MHC-II and DC11c by flow cytometry. The percent of phagocytosis and phagocytosis index were increase in BMDCs co-cultured with cap67 strain compare to B3501 strain infection. The expression levels of miR-132, miR-146a and miR-155 were modulated in the infected BMDCs. Furthermore, the transcripts levels of these miRNAs were increased in the interaction of BMDCs with cap67 strain than B3501 strain at 24 hours post-infection. These results are pioneer in the analysis of miRNAs participation in the dendritic cells response to *C. neoformans* infection. After analysis of the expression pattern of its potential targets, a better understanding of the host innate immune response against this important human pathogen will probably be achieved. This work along with evaluation of molecular pathways involved in the miRNA gene regulations are under investigation.

CNPq, FAP-DF, Decanato de Pesquisa e Pós-Graduação (DPP), Universidade de Brasília, Molecular Pathology Post-Graduation Program

MI227

Identificación y caracterización de Eukaryotic Like Proteins en el genoma y proteoma de *Piscirickettsia salmonis* expresadas durante infección en condiciones *in-vitro*

Adolfo Isla^{1,3}, Fernando Lagos¹, Guillermo Nourdin-Galindo¹, Mauricio Hernandez², Jaime Figueroa^{1,3}. ⁽¹⁾ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽²⁾ Austral-OMICS, Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽³⁾ Interdisciplinary Center for Aquaculture Research, Centro FONDAP-INCAR, Valdivia, CL.

Piscirickettsia salmonis es el agente etiológico de la Piscirickettsiosis, en salmónidos de cultivo y líneas celulares derivadas de peces. La literatura describe que este patógeno posee la capacidad de replicar en el interior de vacuolas en macrófagos funcionales, implicando la expresión de diversas proteínas relevantes en la sobrevivencia del patógeno en diversos hospederos en condiciones *in-vitro*. Sin embargo, se desconocen diversos aspectos relacionados con este proceso. Trabajos realizados en patógenos intracelulares relacionados filogenéticamente con *P. salmonis*, indican la expresión de diversas proteínas del microorganismo las cuales presentan dominios o secuencias tipo eucariontes (*Eukaryotic Like Proteins* o ELPs), y estas proteínas podrían estar involucradas en interferir funciones celulares eucariontes normales y constituir factores de virulencia. Las primeras ELPs identificadas en el genoma de un microorganismo fueron lpg1905 y lpg0971 en *L. pneumophila*, las cuales comparten homología con un miembro de la familia *ecto-nucleoside triphosphate diphosphohydrolases* (NTPDase), una proteína exclusiva de organismos eucariontes. Esta permite la replicación del patógeno en diversos modelos *in-vitro* e *in-vivo*. El objetivo del trabajo es identificar y caracterizar la secuencia codificante completa de diversas ELP derivada del análisis del genoma y proteoma de *P. salmonis* utilizando espectroscopia de masa, las que podrían estar implicadas en la sobrevivencia del patógeno en el interior de células SHK-1 (*Salmon Head Kinsey-1*). La metodología involucra identificar bioinformáticamente ELPs en el genoma de *P. salmonis*, posteriormente identificarlas en el proteoma del patógeno durante una infección *in-vitro* y finalmente evaluar la expresión durante la infección en línea celular. Los resultados permitieron la identificación bioinformática de 503 ELPs en el genoma de *P. salmonis*, los cuales fueron comparados con el proteoma del patógeno durante la infección *in-vitro*. Una de las secuencias identificadas corresponde a una proteína homóloga a NTPDase y los resultados muestran un aumento significativo en la expresión del gen durante la infección *in-vitro*, similar al modelo reportado en *L. pneumophila*, indicando que esta proteína estaría relacionada con la sobrevivencia del microorganismo en el hospedero.

Beca Conicyt-Doctorado Nacional 21151459, Fondap 15110027, DID-UACH-D-2016-08,



MI228

Evaluation of the role of AMPk during respiratory syncytial virus (RSV) infection in the BeWo cell line

Moises Leon Juarez¹, Gonzalez Garcia Luis Didier¹, Velazquez Cervantes Manuel Adrian¹, Macario Martinez Castillo¹, Arturo Flores Pliego¹, Julio Garcia Cordero², Helguera Repetto Cecilia Addy¹, Ibañez Hernandez Miguel Angel³.

⁽¹⁾ Inmunobioquímica, Instituto Nacional de Perinatología, CDMX, MX. ⁽²⁾ Biomedicina Molecular, CINVESTAV, CDMX, MX. ⁽³⁾ Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, CDMX, CL.

AMP-activated kinase (AMPk) is a key factor in lipid metabolism and several studies indicate that some viruses can modify their activity to promote lipogenesis. However, it has not yet been established that RSV can induce metabolic reprogramming in cells of the placenta cells. The aim of this study was to demonstrate the effect that RSV infection has on the lipid metabolism in placental cells culture. We evaluated the active form of AMP and some metabolic targets in BeWo and HEp-2 cells which were infected with RSV. We confirm that the phosphorylation of AMPK is drastically reduced in infected cells. In addition, the targets of AMPk such as FAS and HMGCR were overexpressed on infected cells. Likewise, the inactive form of ACCA1 was decreased in BeWo infected cells. On the other hand, the lipid droplets co-localize with VSR nucleoprotein in a perinuclear pattern. Finally, using an AMP analog, AICAR, significantly reduced the viral expression of the M-2 protein in a dose dependent manner. Therefore, RSV can induce AMPk-dependent metabolic changes in cells and the use of agonists of the AMPk reduces the expression of viral proteins so it is suggested as a possible antiviral strategy to study in the future.

INPER number: 212250-3210-21007-03-15 and CONACYT number: CB-CONACYT-255007

MI229

Análise da infecção por *Zika virus* no sistema genital masculino de Camundongo

Lima Maria Letícia Duarte¹, Calmon Marília De Freitas², Cintia Bittar², Falleiros-Junior Luiz Roberto², Guerra Luiz Henrique Alves², Carneiro Bruno Moreira³, Ferreira Luis Carlos De Souza⁴, Nogueira Maurício Lacerda⁵, Taboga Sebastião Roberto², Paula Rahal². ⁽¹⁾ Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, BR. ⁽²⁾ Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, SP, BR. ⁽³⁾ Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal de Mato Grosso, Rondonópolis, MT, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Microbiologia - ICB, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, BR. ⁽⁵⁾ Departamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, SP, BR.

O *Zika virus*, arbovírus pertencente à família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus*, teve seu primeiro caso de transmissão autóctone relatado no Brasil em 2015. Sua rápida dispersão, não só pelo Brasil, mas por diversos países do mundo, tem trazido diversas preocupações, principalmente por sua infecção estar relacionada com diversos casos de síndrome congênita do Zika em fetos de gestantes infectadas, assim como o aumento do número de casos da síndrome de Guillain-Barré. Além da transmissão por vetores artrópodes, casos de transmissão sexual foram relatados e verificou-se altos títulos virais no sêmen, mesmo após o fim da viremia. Um estudo detectou o vírus no sêmen por 62 dias, após o fim dos sintomas, enquanto outro verificou por quase seis meses a presença do vírus nesse mesmo fluido. Para melhor esclarecer a infecção por ZIKV no sistema genital masculino, seus efeitos e em quais órgãos desse sistema o vírus se replica, modelos animais vêm sendo utilizado para tal, dentre eles o camundongo AG129. Este projeto tem como objetivo estudar a infecção por ZIKV^{BR} em células e órgãos do sistema genital masculino desses camundongos. Estão sendo avaliados: testículos, epidídimo e complexo prostático (vesícula seminal e próstata) dois dias após a infecção com o vírus. Para isso, foram utilizados 14 camundongos AG129, divididos em 3 grupos por metodologia: 5 para PCR em tempo real, 6 para imuno-histoquímica e 3 para microscopia eletrônica. Utilizamos o sangue e cérebro como controle positivo e um camundongo não-infectado em cada metodologia com controle negativo. Até o presente, detectamos, através de qPCR, a presença do vírus em todos os órgãos analisados e obtivemos a seguinte média de títulos virais (em cópias de RNA) em cada: $6,76 \times 10^8$ no cérebro; $7,6 \times 10^8$ nos testículos; $6,13 \times 10^8$ nos epidídimos; $4,41 \times 10^8$ no complexo prostático e $9,41 \times 10^8$ no soro. As imuno-histoquímicas estão sendo processadas para corroborar os achados da qPCR e análise ultraestrutural do ZIKV nos órgãos será feita por meio de microscopia eletrônica. Portanto, os resultados obtidos demonstram que o ZIKV é capaz de infectar todos os órgãos analisados no modelo utilizado.

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior; CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico



MI230

Role of indicative bacterial taxa associated to diarrheagenic *Escherichia coli* infections in the STEC and EAEC infections to intestinal cells

Joaquín López¹, Mariana Izquierdo¹, Pablo Gallardo¹, Roberto Vidal², Mauricio Farfán¹. ⁽¹⁾ Departamento de Pediatría y Cirugía infantil, Campus Oriente-Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Background. Diarrheagenic *E. coli* (DEC) pathogenicity relies on the interaction of bacteria with the host's resident gut microbiota. We have identified resident indicative bacterial taxa in DEC-positive diarrhea stool samples of children under 5 years of age. In this work, we evaluated the role of two indicative species, *Citrobacter werkmanii* (*C. werkmanii*) and *Escherichia albertii* (*E. albertii*), in the adherence and inflammatory response induction of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) and Enteroaggregative *E. coli* (EAEC) on intestinal epithelial cells. **Methods.** STEC reference strain (strain 86-24) and EAEC reference strain (strain 042) were co-incubated with *C. werkmanii* and *E. albertii* reference strains and the adherence on intestinal epithelial cells, as well as the induction of secretion of pro-inflammatory cytokines was evaluated. Similar experiments were done in the presence of supernatant obtained from culture of indicative species. **Results.** Co-incubation experiments showed that STEC and EAEC adherence to T84 cells was significantly reduce in the presence of *C. werkmanii* and *E. albertii*. Incubation of EAEC with supernatant obtained from *C. werkmanii* induces a decrease of adherence to cells; the incubation of STEC with supernatant obtained from indicative species has no effect in the adherence to cells. Interestingly, we found that supernatant from *E. albertii* and *C. werkmanii* induces an increase the amount of IL-8, VEGF and GRO secreted by cells infected with STEC and EAEC. **Conclusion.** Our results suggest that indicative species of DEC infection might modulate STEC and EAEC virulence on intestinal cells, which may prove relevant in advancing our understanding of the relationship between resident gut microbiota and DEC infection.

FONDECYT N° 1160426, Dr. Mauricio J. Farfán.

MI231

Efecto de la microbiota en la interacción de *Listeria monocytogenes*-hospedero en modelo pez cebra (*Danio rerio*)

Aldo Maddaleno¹, Mario Caruffo¹, María Soledad Gutiérrez¹, Paulina López¹, Diego Landaeta¹, Karla Paéz¹, José Ruiz¹, Angélica Reyes-Jara¹, Paola Navarrete¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Listeria monocytogenes (*Lm*) es un patógeno transmitido por los alimentos causante de listeriosis, enfermedad que puede ser mortal en grupos de población vulnerables. La capacidad infectante de *Lm* es dependiente de la cepa, de las condiciones fisiológicas y de la microbiota intestinal del huésped. Variados estudios se han llevado a cabo en modelos murinos axénicos y gnotobióticos, los que son costosos, laboriosos de obtener y cada vez más cuestionados desde el punto de vista bioético. Por estos motivos, se han desarrollado modelos no-mamíferos, como el pez cebra (*Danio rerio*), para estudiar la interacción hospedero-patógeno. El objetivo de este trabajo fue estudiar la interacción de diferentes cepas de *Lm* con el pez cebra. Se determinó: i) los perfiles de colonización de seis cepas de *Lm*, ii) el efecto de la microbiota en la capacidad de colonización de las cepas, y iii) la capacidad de las cepas de activar la respuesta inmune innata del pez (inflamación). Se inocularon peces Tab5 *wild type* de 5 días post-fertilización (dpf), con (convencionales, n=20,) y sin microbiota (axénicos, n=20), los que fueron inoculados por inmersión con 6 cepas de *Lm* (10^9 UFC/mL). Se determinó el recuento de *Lm* (\log_{10} UFC/larva) durante 5 días post-inoculación (dpi) en medio selectivo CHROMagar™ *Listeria*. Se observaron diferencias en la capacidad de colonización entre las cepas en ambos modelos axénico y convencional (ANOVA; $p=0,0001$ y $0,007$, respectivamente). Los recuentos de las cepas al 5 dpi fue mayor en larvas axénicas ($3,75 \pm 0,66$) comparadas con larvas convencionales ($2,62 \pm 0,64$) (T-test, $p < 0,0001$). La capacidad inflamatoria de cada cepa se determinó mediante el recuento de neutrófilos, en el intestino medio, de larvas convencionales Tg (*BACmpo:GFP*), con neutrófilos fluorescentemente marcados con GFP, a las 24 h post inoculación (hpi). Todas las cepas activaron la respuesta inmune innata del hospedero con respecto al control no inoculado, evidenciándose un incremento significativo en los recuentos de neutrófilos a las 24 hpi ($12,24 \pm 3,92$) (ANOVA, $p < 0,0001$). Los resultados indican que hay diferencias en la capacidad de colonización entre diferentes cepas *Lm* y que la presencia de microbiota intestinal reduce la colonización del patógeno.

FONDECYT 1171575 y 1181499, Beca CONICYT 21151089



MI232

Induction of mucosal immunity by an oral administration of a recombinant *Bacillus Calmette-Guérin* expressing the nucleoprotein of the human respiratory syncytial virus

Miguel A. Mansilla¹, Jorge Soto¹, Karen Bohmwald¹, Emma Rey-Jurado¹, Alexis Kalergis^{1,2}. ⁽¹⁾ Millennium Institute of Immunology and Immunotherapy, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Endocrinología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

The human respiratory syncytial virus (hRSV) is the main cause of low respiratory tract infections in infants and young children worldwide. Currently, no licensed vaccines against hRSV are available. The recombinant *Bacillus Calmette-Guérin* (rBCG) expressing the hRSV N (rBCG-N-hRSV) protein administered via subcutaneously has been previously shown to prevent hRSV infection in murine model and to be safe in human subjects. The benefits of oral mucosal immunization including easy administration and higher titer of mucosal antibodies with prolonged immunological protection encouraged us to evaluate the immune response and the safety of rBCG-N-hRSV as an oral immunization. To evaluate the safety and effectiveness of the oral rBCG-N-hRSV vaccine, mice were immunized intragastrically with a single dose of 2×10^8 CFU of rBCG-N-hRSV or BCG-WT and challenged with 1×10^6 PFUs of hRSV at 21 days post-immunization. Seven days post-infection, body weight monitoring, the count of CFU in the organs and hRSV-associated disease parameters were evaluated. Importantly, no significant body weight loss and no systemic dissemination in spleen, liver, lung and blood samples from immunized rBCG-N-hRSV mice were found as compared with the BCG-WT group. A significant decrease of infiltration of neutrophil cells in bronchoalveolar lavage (BALF), and viral load in the lungs were found in the immunized rBCG-N-hRSV as compared to unimmunized mice. In addition, a significant increase in the infiltration of CD4⁺ T cells and production of total IgG from sera samples against hRSV were found in the rBCG-N-hRSV immunized as compared to unimmunized controls. In conclusion, the oral administration of the rBCG-N-hRSV vaccine is safe, promotes a cellular and humoral response and prevents from hRSV infection in mice.

This work was supported by the Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy from Chile (P09/016-F for AMK).



MI233

A new platform to visualise the effects of host proteins on HIV-1 capsid uncoating at the single-particle level

Chantal Márquez¹, Stuart Turville², Till Boecking¹. ⁽¹⁾ EMBL Australia Node in Single Molecule Science and ARC Centre of Excellence in Advanced Molecular Imaging, School of Medical Science, UNSW Sydney. ⁽²⁾ Kirby Institute, UNSW Sydney, Sydney, AU.

A key step in the HIV-1 infection cycle is the disassembly of the capsid shell that protects the viral genome, a process referred to as “uncoating”. Recent studies have shown that different host cell factors with competing functions are involved in the uncoating process, but the complete molecular machinery and its mechanism remain unclear. The fragility of the capsids has so far hindered the development of methods sensitive enough to differentiate different phenotypes among a heterogeneous population, to detect single steps in the process and to analyse protein-protein interactions. Here, we have developed a novel fluorescence microscopy method to follow the real-time uncoating kinetics of individual HIV capsids to study the binding of proteins and assess their effect on uncoating. GFP-loaded viral particles are permeabilised with a pore forming protein to allow access to the capsid. Using total internal reflection fluorescence microscopy (TIRFM), we can pinpoint the first defect of the core (i.e. capsid opening) by detecting the release of the GFP molecules as well as follow the kinetics of uncoating of the remainder of the lattice by the addition of a fluorescent marker to “paint” the capsid lattice. Furthermore, we can visualise the dynamic interactions of labeled CA-binding proteins with the core to extract kinetic and thermodynamic parameters. Our results show that spontaneous HIV-1 uncoating is initiated very soon after permeabilisation of the viral envelope. Also, we found that opening of the first defect in the lattice is the rate-limiting step of uncoating, which is followed by rapid, catastrophic collapse. Addition of the known capsid-binding inhibitor PF74 accelerates capsid opening but stabilises the remaining lattice, while the binding of different molecules that bind to the conserved central pore of the CA hexamer, strongly delays core opening but does not prevent lattice disassembly after the first defect has occurred. Our observations suggest that HIV-1 capsid uncoating can be dissected in two steps, capsid opening and lattice disassembly and that they can be controlled independently by different capsid-binding regulators. These results allow us to understand the intrinsic capsid disassembly pathway and how it can be modulated in real time.

MI234

***In vivo* Infection with Herpes Simplex Virus Type 1 alter the expression of KLK6 in the mouse brain**

Cynthia Mella¹, Pamela Ehrenfeld², Evelyn Mancilla¹, Carlos Figueroa², Carola Otth¹. ⁽¹⁾ Laboratory of Molecular Virology, Institute of Clinical Microbiology, Medicine, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽²⁾ Institute of Anatomy, Histology and Pathology, Medicine, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL.

Neuroinflammation is coordinated by the activation of glial cells, production of cytokines, permeabilization of the blood-brain barrier, and degradation of extracellular matrix components (ECM) by certain serine proteases such as kallikreins-related peptidases (KLKs). KLK6, play a fundamental role in physiological maintain of the brain. In this context, neurotropic pathogens, such as Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV-1), can reach the brain and trigger these local events. HSV-1 is characterized by establishing a persistent latent infection in neurons of their hosts for life. Also, it can generate acute encephalitis in immunocompromised and older adults, a product of the decay of the immune system, an aging effect. Due to its ability to establish latency in neurons, many studies suggest that reiterative viral reactivations at this level could generate accumulative cellular damage, which leads to recurrent neuroinflammatory processes in which KLK6 might contribute. Despite its effect under normal conditions, it has been reported that its prolonged overexpression may contribute to neurodegeneration. The present study analyzes if persistent neurotropic HSV-1 infection modulates the expression of KLK6 in the brain. Our results shown that in, *in vivo* model of HSV-1 infection, KLK6 expression are altered. Specifically, KLK6 mRNA expression decrease at 15 days post-infection (dpi) in infected mice compare to the mock infected ones, interestingly at 60dpi KLK6 mRNA increase in infected mice. In an Immunohistochemistry analysis of mid-sagittal brain sections of this model, KLK6 shown positive reaction in the whole brain, with a high reaction on cerebral cortex cells (~80%), in control and infected animals. Interestingly, the intensity of the immunoreaction increases significantly in brains of infected animals at 15dpi and is less apparent at 60dpi compare to the control animals. This phenomenon is also observed in cerebellum, hippocampal neurons and other brain regions. Therefore, our results suggest that this protease may change its basal expression by injury events during neurological infectious, contributing with the inflammatory process. Furthermore, KLK6 could be a useful marker in the study of neuroinflammatory processes, associated with damage caused by neurotrophic pathogens that generate a persistent infection in individuals, causing periodic reactivations, such as Herpes Simplex Virus type 1.

FONDECYT 1180936, FICR 2017, CONICYT 21160113

MI235

La inducción farmacológica de la enfermedad de Niemann-Pick se asocia a resistencia de macrófagos de salmón a la infección de *Piscirickettsia salmonis*

Liliana Montt¹, Ignacio Chávez¹, Madelaine Mejías¹, Francisca Vera¹, Javiera Pérez¹, Verónica Cambiazo², Dinka Mandakovic¹, Rodrigo Pulgar¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genómica y Genética de Interacciones Biológicas, INTA, Universidad de Chile. ⁽²⁾ Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL.

La Septicemia Rickettsial Salmonídea (SRS) es una enfermedad infecciosa que afecta a las especies salmónidas causada por la bacteria *Piscirickettsia salmonis*, y que causa pérdidas de millones de dólares en la industria salmonera chilena. Desde su detección, se han utilizado distintas estrategias para controlarla, incluyendo medidas profilácticas como las vacunas y tratamientos basados en antibióticos. Sin embargo, se siguen reportando nuevos brotes de la enfermedad, lo que demuestra que las medidas existentes son insuficientes y que es necesario el desarrollo de nuevas estrategias para controlar esta enfermedad. Se ha descrito que algunas alteraciones genéticas lisosomales, como la enfermedad de Niemann-Pick, correlacionan con resistencias naturales a infecciones con algunas bacterias intracelulares y virus. Esta información permite sugerir que una nueva aproximación terapéutica puede ser enfocarse en perturbar rutas metabólicas y procesos biológicos del hospedero, que afecte la relación con el patógeno y no en este último para evitar la infección. Con este propósito, macrófagos de salmón (línea celular SHK-1) fueron sometidos a concentraciones no citotóxicas de la molécula U18666A, un clásico imitador farmacológico de la enfermedad de Niemann-Pick, las cuales fueron capaces de recapitular el fenotipo de la enfermedad medido por la acumulación de esteroides en el lisosoma celular. La selección de una concentración no antibiótica del compuesto para *Piscirickettsia salmonis* fue seleccionada para someter a los macrófagos a infecciones *in vitro* con la bacteria en presencia del fármaco. Los resultados indican que en presencia del compuesto la bacteria fue incapaz de infectar a los macrófagos, lo cual se evaluó mediante microscopía de fluorescencia registrando la inhibición de los efectos citopáticos (ECP) clásicos de la infección (vacuolización), como también a través de la cuantificación molecular (qPCR) de las bacterias viables intracelulares, ambos fenotipos prácticamente nulos luego de 5 días de infección. Futuros resultados permitirán evaluar los efectos del uso de esta molécula a nivel sistémico de los peces, como también, el potencial que tienen estos datos de convertirse en terapias farmacológicas para contribuir al combate de la SRS y a la sustentabilidad de la industria salmonera nacional.

Proyecto FONDECYT N° 11161083, Proyecto FONDECYT N°1160802, Proyecto FONDECYT N°1151384, Proyecto Fondap N°15090007, Proyecto Postdoctoral N°3170523.

MI236

Sugar differences in the intestinal microbiota drive *Citrobacter rodentium* virulence

Karine Melchior¹, Vanessa Sperandio², **Cristiano Moreira**³. ⁽¹⁾ Ciências Biológicas, UNESP, Araraquara, BR.

⁽²⁾ Microbiology, Professor of Microbiology and Biochemistry, UT Southwestern Medical Center, Dallas, US. ⁽³⁾ Ciências Biológicas, Assistant Professor of Microbiology, UNESP, Araraquara, BR.

Enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* are gastrointestinal human pathogens, and they do not have a broad animal model. Both albeit in their genome the Locus of Enterocyte Effacement (LEE) pathogenicity island, responsible to encode important virulence factors. The histidine sensor kinase QseC regulate directly LEE in these pathogens. *Citrobacter rodentium* is a natural murine pathogen, which exhibit homology of 67% their genes with these human pathogens, including LEE, and becomes an alternative model to *in vivo* studies as bacteria carrying LEE island. Studies have shown that commensal bacteria beneficial to the microbiota such as *Bacterioides thetaiotaomicron*, can antagonistically increase the expression of virulence genes in pathogenic bacteria such as enterohemorrhagic *Escherichia coli*. This modulation occurs through the change of the metabolic scenario. This study aimed the characterization of chemical signaling by phenotypic assays between *B. tethaiotaomicron* and *C. rodentium* wild type (Wt) and $\Delta qseC$, isogenic sensor kinase mutants, through epithelial cells adhesion in different concentration of glucose. The bacterial strains were grown in aerobic and anaerobic conditions in Luria-Bertani medium (LB) broth or agar, at 37°C. The HeLa cells were seeded 24 wells plates during 24 hours to 80% confluence. Next, the cells were washed, and the assay was performed the bacterial cell adhesion in semi-confluent cell monolayers in co-culture with *B. tethaiotaomicron* in D-MEM high (4,5g/l) or low glucose (1,0g/L), during 6 hours of bacteria-epithelial cell interaction. Strikingly, the *qseC* mutant exhibits lower adhesion in the presence of *B. tethaiotaomicron* at low glucose levels when measured by direct CFU counting (0.5 order of magnitude). Conversely in the presence of *B. tethaiotaomicron* an increase in adhesion was observed, when compared to its absence at high glucose levels, an 1.0 order of magnitude increase. Our preliminary data have shown this important microbiota member inco-culture with *C. rodentium* directly affects HeLa cells initial adhesion, an essential step during colonic hiperplasia caused by *Citrobacter* in rodents. Importantly, the *B. tethaiotaomicron* presence changes the *C. rodentium* response in the presence of different sugar levels via the QseC sensor kinase.

FAPESP 2014/06779-2

MI237

Rol del efector SseJ en la internalización y supervivencia intracelular de *Salmonella* Typhimurium en la ameba *Dictyostelium discoideum*

Constanza Morgado¹, Jaime Ortega¹, Andrea Sabag¹, Camila Valenzuela¹, Álvarez Sergio A¹, Santiviago Carlos A¹.

⁽¹⁾ Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Salmonella Typhimurium es una bacteria Gram negativo que provoca cuadros de enterocolitis en el ser humano. La patogenicidad de esta bacteria está dada, en parte, por la presencia de las islas de patogenicidad SPI-1 y SPI-2, que codifican sistemas de secreción de tipo 3 (T3SS-1 y T3SS-2, respectivamente) y múltiples efectores. SseJ es un efector secretado por el T3SS-2 que presenta múltiples actividades enzimáticas relacionadas con el metabolismo de lípidos del hospedero y la maduración de la "vacuola contenedora de *Salmonella*" (SCV). De hecho, se ha reportado que una mutante Δ sseJ de *S. Typhimurium* presenta defectos en la replicación intracelular en macrófagos murinos y es atenuada en ratones. Por otra parte, *Salmonella* debe sobrevivir a la depredación por protozoos ambientales y nuestro grupo ha reportado recientemente que *S. Typhimurium* requiere el T3SS-2 para sobrevivir al interior de la ameba *Dictyostelium discoideum*, por lo que efectores como SseJ podrían estar involucrados en este proceso. Para evaluar el rol de SseJ en la interacción de *S. Typhimurium* y *D. discoideum*, se realizaron ensayos de infección en los que se evaluó la capacidad de una mutante Δ sseJ de ser internalizada y sobrevivir intracelularmente en la ameba a distintos tiempos en comparación a la cepa silvestre. Observamos que la cepa Δ sseJ presenta un menor porcentaje de internalización con respecto a la cepa silvestre. Sin embargo, no se observaron diferencias en la supervivencia intracelular de ambas cepas luego de 6 h de infección. Estos resultados sugieren que el efector SseJ estaría involucrado en la interacción inicial de la bacteria con la ameba, pero no en la supervivencia intracelular en los tiempos ensayados. Actualmente estamos evaluando la supervivencia intracelular de esta mutante en la ameba a tiempos posteriores a 6 h dado que los fenotipos presentados por las mutantes Δ sseJ en otras líneas celulares se observan a tiempos tardíos de infección. Además, nos encontramos evaluando el posible rol de este efector en el metabolismo de los lípidos del hospedero en este modelo de infección.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1171844 y Beca CONICYT 21140615.

MI238

Prevalencia de tuberculosis latente en población humana relacionada con animales destinados a la producción de leche y carne en Antioquia, Colombia

Catalina Muñoz Vahos¹, Johana Rueda Flórez¹, Luz Elena Botero Palacio², Gloria Isabel Mejía Mesa¹, Ximena Cardona Lopera³, Jaime Robledo Restrepo². ⁽¹⁾ Antioquia, Bacteriología y Micobacterias, Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, CO. ⁽²⁾ Antioquia, Bacteriología y Micobacterias, Corporación para Investigaciones Biológicas-Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, CO. ⁽³⁾ Antioquia, Asistencia Técnica, Cooperativa Colanta, Medellín, CO.

Introducción: La tuberculosis bovina representa un riesgo para la salud pública en Colombia dado su potencial zoonótico que involucra trabajadores en contacto con animales infectados, aquellas personas que hacen parte de la cadena productiva y los consumidores finales de la misma. **Objetivo:** Determinar la prevalencia de tuberculosis latente en población humana relacionada con animales destinados a la producción de leche y carne en Antioquia. **Métodos:** Estudio descriptivo transversal analítico realizado entre 2017 y 2018. Se visitaron fincas en Antioquia inscritas al Programa “Hatos libres de brucelosis y tuberculosis bovina” del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). De igual manera se visitó una planta de beneficio y varias instituciones encargadas de producir productos cárnicos y lácteos y de avalar la calidad de estos. Las personas que aceptaron participar, firmaron consentimiento informado, respondieron una encuesta clínico-epidemiológica, se les aplicó tuberculina y se les tomó una muestra de sangre para la prueba de QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus). Se evalúa la concordancia entre la tuberculina y el QFT-Plus; índice Kappa. **Resultados:** Se incluyeron 675 personas, se han analizado 399 de ellas con tuberculina e IGRAs. El 80% fueron hombres, con edades entre 18 y 83 años. El 68% de los participantes pertenecían a Región Norte, 8% Bajo Cauca, 8% Urabá, 6% Magdalena Medio, 7% Oriente y 3% Occidente Antioqueño. Según nivel de exposición al ganado, 74% de las personas se clasificaron con nivel alto, 22% medio y 4% bajo. Al comparar el nivel de exposición al ganado y los resultados de la prueba de tuberculina o QFT-Plus, se encontró que la mayor positividad coincidía con el mayor grado de exposición, donde el 21% de las pruebas positivas eran personas con alto riesgo, el 6% medio y el 1% bajo. La prevalencia de tuberculosis latente fue del 35%. La concordancia entre la tuberculina y el QFT-Plus fue de 0,2853 kappa. **Conclusiones:** Existe alta prevalencia de tuberculosis latente en personas expuestas al ganado. Las pruebas pueden ser discordantes, ya que la tuberculina puede reaccionar con Micobacterias ambientales y en pacientes vacunados con la BCG, mientras que el QFT-Plus detecta ESAT-6 y CFP-10 presentes en bacterias del complejo y sólo tres Micobacterias ambientales.

Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación (Colciencias) Código: 221374456733

MI239

Comparação de quatro termolisinas (LIC_10715, LIC_13320, LIC_13321 e LIC_13322) presentes no genoma de *Leptospira interrogans* sorovar Copenhageni por análises *in silico*

Nunes Kamila Oliveira¹, Chambi Rosa Chura², Da Silva Ludmila Bezerra³, Dias Ligia Morganti², Barbosa Angela Silva⁴.

⁽¹⁾ Laboratório de Bacteriologia, Universidade de São Paulo / Instituto Butantan, São Paulo, BR. ⁽²⁾ IPEN, Universidade de São Paulo, São Paulo, BR. ⁽³⁾ Centro de ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, BR.

⁽⁴⁾ Bacteriologia, Instituto Butantan, São Paulo, BR.

Bactérias pertencentes ao gênero *Leptospira* foram isoladas e identificadas como agentes causais da síndrome de Weil há cerca de 100 anos e, desde então, vêm sendo isoladas de quase todas as espécies de mamíferos, sendo a leptospirose a zoonose mais difundida no mundo. Leptospiras produzem diversas proteases potencialmente capazes de produzir danos nos tecidos, sendo este fenômeno visto somente nas espécies patogênicas. A análise do genoma de *Leptospira interrogans* sorovar Copenhageni nos levou à identificação de uma classe de quatro termolisinas, codificadas pelos genes LIC_13320, LIC_13321, LIC_13322 e LIC_10715, que apresentam alto grau de similaridade com metaloproteinases da classe de termolisinas de *Enterococcus faecalis* e *Clostridium perfringens*, conhecidas por hidrolisar diversos substratos, incluindo colágenos, fibrinogênio, insulina e moléculas do sistema complemento. Análises anteriores indicam que pelo menos uma das termolisinas de *Leptospira* (LIC_13322-*nprT*), é secretada para o meio extracelular. Essa protease apresenta atividade proteolítica sobre o fibrinogênio, os componentes C3 e C6 da cascata do complemento, e a proteoglicana decorina. Análises *in silico* demonstraram que termolisinas de *Leptospira* possuem uma sequência sinal para secreção, os pró-domínios FTP e os domínios catalíticos Peptidase_M4 e Peptidase_M4_C. A região anterior aos domínios catalíticos é chamada de pró-peptídeo, sendo constituída pelos domínios FTP e PepSY, presentes somente na termolisina codificada por LIC_10715. Os domínios catalíticos desta protease pertencem à família M4 das metaloproteinases, as quais requerem um cátion divalente, geralmente o zinco, para a catálise. Por meio de análises computacionais foi possível verificar que o grau de identidade e similaridade entre as 4 termolisinas presentes no genoma varia de 57 a 82% e 69 a 89% respectivamente, sendo, portanto, elevado. Em seguida foi realizada a predição de estrutura tridimensional das termolisinas onde foi possível observar a estrutura e localização espacial do domínio catalítico de cada uma delas, sendo a estrutura e posição bastante similares entre si. Tendo em vista a similaridade observada entre estas proteínas nos perguntamos se há alguma diferença funcional entre elas e, para isto, as proteínas estão sendo produzidas na forma de recombinantes e análises funcionais estão em andamento.

Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP

MI240

Contribución de los efectores SipA, SseF y SseG en la supervivencia intracelular de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium en *Dictyostelium discoideum*

Jaime Ortega¹, Andrea Sabag¹, Constanza Morgado¹, Camila Valenzuela¹, Álvarez Sergio A.¹, Santiviago Carlos A.¹.

⁽¹⁾ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL.

El género *Salmonella* corresponde a un conjunto de bacterias Gram-negativo. Dentro de este género se encuentra la especie *Salmonella enterica*, cuyos serovares son responsables de la mayoría de los casos de salmonelosis a nivel mundial, causando patologías como la fiebre tifoidea y enterocolitis. La patogenicidad de esta bacteria está determinada por la existencia de islas de patogenicidad en su genoma, en las cuales están codificados diferentes factores de virulencia, tales como los sistemas de secreción de tipo 3 (T3SS) y sus proteínas efectoras. Dentro de estas proteínas se encuentran SipA, SseF y SseG, las cuales participan en la supervivencia intracelular de esta bacteria contribuyendo al correcto desarrollo de la “vacuola contenedora de *Salmonella*” (SCV). Nuestro grupo reportó recientemente que *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) es capaz de sobrevivir dentro de la ameba *Dictyostelium discoideum* y que los T3SS son necesarios para este proceso. En el presente estudio nos propusimos investigar el rol que cumplen los efectores SipA, SseF y SseG en la supervivencia intracelular de *S. Typhimurium* en la ameba *D. discoideum*. Para esto, se construyeron las cepas mutantes $\Delta sipA$, $\Delta sseF$, $\Delta sseG$ y $\Delta sseFG$ derivadas de *S. Typhimurium* 14028s mediante el método de recombinación “Red swap”. La supervivencia intracelular de cada cepa en *D. discoideum* se determinó mediante un ensayo que consistió en infectar la ameba durante 1 hora y luego determinar el título de bacterias intracelulares a distintos tiempos post infección. Nuestros resultados mostraron que las cuatro cepas mutantes estudiadas presentan defectos en su supervivencia intracelular a diferentes tiempos de infección. En particular, la mutante $\Delta sipA$ presenta defectos a 1h, $\Delta sseF$ al tiempo 3h, $\Delta sseG$ a 6h y la doble mutante $\Delta sseFG$ a los tiempos 3h y 6h. Adicionalmente las cepas $\Delta sseF$ y $\Delta sseFG$ presentan una mayor internalización en comparación a la cepa silvestre. En conjunto, nuestras observaciones indican que los efectores SipA, SseF y SseG contribuyen a la supervivencia de *S. Typhimurium* en *D. discoideum* de manera diferencial durante el transcurso de la infección.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1171844 y Beca CONICYT 21140615.

MI241

Association of human papillomavirus with esophageal and gastric tumors

Paes Francisco L. A.¹, **Albuquerque Giwellington S.**², Quixabeira Dafne C. A.³, Nascimento Kamylla C.G.⁴, Junior Elias T.⁴, Silva André F.V.P.⁵, Sobrinho Verônica Do C.¹, Neto Jacinto Da C.S.³. ⁽¹⁾ Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Oncoematologia Pediátrica do Hospital Universitário Oswaldo Cruz, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco, Recife, BR. ⁽³⁾ Departamento de Histologia e Embriologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽⁵⁾ Departamento de Patologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR.

Some studies have demonstrated the presence of DNA-HPV as well as the expression of virus oncoproteins in esophageal and gastric tumors. However, the role of human papillomavirus (HPV) in these tumors remains controversial. Thus, the present work aimed to verify the presence of HPV in samples of esophageal and gastric tumors, as well as to detect the expression of p16INK4a and E6 proteins through immunohistochemistry. In this study, 89 paraffin-shaped biopsies were obtained from the HC-UFPE.Pathology Anatomy Laboratory. DNA-HPV detection was performed by the polymerase chain reaction (PCR) technique with consensus primers MY09 / MY11 and analysis of the expression of the E6 viral oncoprotein and the p16 protein was performed by immunohistochemistry. Viral DNA was detected in 92.85% of benign lesions, 95% of malignant esophageal lesions, 86.7% of benign lesions and 75% of malignant lesions of the stomach. By means of immunohistochemistry, the present study verified the expression of HPV E6 oncoprotein in 14.28% of benign lesions and 25% of malignant lesions in esophageal specimens, as well as 6.7% of benign lesions and 25% of malignant lesions on stomach specimens. Expression of the p16 protein by immunohistochemistry was detected in 50% of esophageal tumors and 77% in the stomach. Although the present study has shown the presence of HPV in esophageal and gastric lesions, it does not ensure that the virus acts as a carcinogenic factor of these lesions, however, studies that prove the presence of viral DNA in the cellular genome may be an initial step to seek to understand their role in these injuries.

MI242

Biocontrol de *Gaeumannomyces graminis* en trigo mediante el uso de bacterias aisladas de suelos supresivos

Isabel Méndez¹, Camila Fernandez¹, Daniela Tapia², Sharon Viscardi², Paola Durán². ⁽¹⁾ Estudiante Bioquímica, Universidad de La Frontera Temuco, Temuco, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Investigación en Biocontrol, Nucleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Universidad de La Frontera, Temuco, CL.

La pudrición radical o “mal del pie” causada por el hongo patógeno *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Ggt) es la enfermedad fúngica más importante que afecta a trigo a nivel mundial. Esta importancia se debe a la alta capacidad de subsistencia del hongo en suelo y restos de cultivo mediante estructuras de sobrevivencias llamadas apotecios. Sumados a esto las medidas de control son ineficientes y se reducen a control cultural mediante el uso de rotaciones de cultivo. En la zona sur de Chile, es donde más daños se han identificado debido a las condiciones agroclimáticas caracterizadas por altas precipitaciones durante toda la temporada. Debido a lo anterior, la siguiente investigación desarrolla un método de biocontrol mediante la aplicación de 3 bacterias endófitas (cepa A, cepa B y cepa C, en proceso de patentamiento) aisladas de suelos supresivos para esta enfermedad. Las bacterias fueron seleccionadas en base a su capacidad de inhibir el crecimiento del fitopatógeno bajo condiciones “*in vitro*” y luego verificadas bajo condiciones de invernadero. En el ensayo de invernadero se aplicó una concentración de 10^9 la cepa A, 10^9 la cepa B y 10^9 las cepas A, B y C. Al cabo de 40 días (estado fenológico de macolla) se cuantificó el % de raíces necróticas, la producción de biomasa y la producción de fenazinas (el principal antibiótico involucrado en la supresión de mal del pie). Esta última actividad fue evaluada mediante el uso de los partidores PRND1 y PRN2. De acuerdo a los resultados podemos determinar que de todos los tratamientos evaluados en este estudio, el consorcio formado por las cepas A+B+C fue más eficiente en disminuir la necrosis radical causada por Ggt en más de un 80% y aumentar la biomasa radical en un 73% y aérea en un 20% de las plantas de trigo inoculadas. De acuerdo a lo anterior destacamos la viabilidad de el consorcio de las cepas A+B+C como biocontroladoras del principal factor biótico que afecta la producción de trigo a nivel mundial.

Financiado (parcialmente) por la Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera y el proyecto CONICYT-FONDECYT de Iniciación 11150540

MI243

Evaluación de la respuesta inmune generada por dos formulaciones de vacuna contra la mastitis producida por *Staphylococcus aureus*, en modelo murino

Marcela Molina¹, Vidal Sonia T¹, Siel Daniela R¹, Quiroga John A¹, Leonardo Saenz¹. ⁽¹⁾ Ciencias Biológicas, Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Mastitis es la enfermedad más importante en el ganado lechero debido a las pérdidas económicas que produce. *Staphylococcus aureus* es uno de los principales agentes etiológicos, el cual posee factores de virulencia que le otorgan la capacidad de evadir la respuesta inmune del hospedero, además de colonizar e invadir el epitelio de la glándula mamaria. Una vacunación cuyo objetivo sea estimular inmunidad específica en los animales, potenciando una respuesta inmune de tipo humoral estimulada por linfocitos T CD4+ Th1 y que otorgue protección efectiva contra esta bacteria, se ha planteado como una alternativa para su control, sin embargo, las vacunas existentes no han sido eficaces. En este estudio se evaluó la inmunidad generada por dos vacunas diferentes contra *S. aureus* basadas en 2 antígenos; proteoliposomas y un extracto purificado de polisacárido capsular conjugado con OVA, usando hidróxido de aluminio como adyuvante. Dos grupos de ratones hembras Balb/c se inmunizaron con las vacunas (día 1 y 21), más un grupo control (solo con adyuvante). Al día 33 se realizó el desafío de las vacunas mediante la inoculación de *S. aureus* al interior del tejido mamario y al día 36 se eutanasiaron. A través de ELISA se determinó que los animales vacunados aumentaron significativamente los niveles de anticuerpos (IgG, IgG1 e IgG2) contra *S. aureus* en suero y glándula mamaria respecto al grupo control, esta diferencia fue mayor en los animales inmunizados con proteoliposomas. Además, éstos anticuerpos lograron evidenciarse *in situ* en el tejido mediante inmunohistoquímica. Se determinó la expresión de citoquinas (IFN- γ) por PCR cuantitativo y se encontraron diferencias significativas en el grupo inmunizado con proteoliposomas, respecto al grupo control. A la evaluación clínica, los animales vacunados con proteoliposomas obtuvieron una mejor evaluación respecto al protocolo de supervisión establecido, sin embargo, los recuentos bacterianos en ambos grupos de animales inmunizados no mostraron diferencias significativas respecto al control. Finalmente, a pesar de la estimulación de una respuesta inmune (anticuerpos) en los grupos de animales inmunizados y una mayor expresión de IFN- γ en animales vacunados con proteoliposomas, esto no logro generar una mayor capacidad de resistencia a la infección.

FIA PYT-2012-0055, FONDEF idea IT15I10006

MI244

Isolamento de *Cryptococcus* spp. a partir de excretas de *Columba livia* em ambientes públicos de São Luís, Maranhão, Brasil

Pinheiro Edilene De Araújo Diniz¹, Alves Dos Santos Julliana Ribeiro¹, Gonçalves Mendes Amanda Graziela¹.

⁽¹⁾ Maranhão, Universidade Ceuma, Universidade Ceuma, São Luís, BR.

A criptococose é uma micose invasiva desencadeada por um complexo de fungos patogênicos presentes em vários nichos ambientais. *Cryptococcus neoformans* e *gattii* são os causadores da doença podendo ser encontrados em excretas envelhecidas de *Columba livia*, disseminadoras naturais do patógeno. A proliferação de pombos em centros urbanos, é um fator que reacende a preocupação com a disseminação desses fungos no ambiente. Em São Luís, tem-se observado o aumento populacional considerável dos pombos, inclusive em áreas externas de hospitais e clínicas da cidade. O objetivo dessa pesquisa foi evidenciar a presença de *Cryptococcus* spp. em excretas de *Columba livia* em ambientes públicos de São Luís, MA levando em consideração o aumento dos pombos em diversas áreas públicas da cidade. Foram coletadas 11 amostras de excretas secas, identificadas, processadas, dispensadas em tubos cônicos, acrescida solução salina e cloranfenicol, homogeneizadas e postas em repouso. Logo após, foram distribuídas nas diluições de 10 µL, 100 µL, 200 µL, 500µL em placas de Ágar Níger e Sabouraud contendo cloranfenicol e incubadas a temperatura ambiente. Foi realizado exame macromorfológico que mostrou colônias leveduriformes de consistência mucoide, brilhantes e isoladas, compatíveis com *Cryptococcus* spp. No exame micromorfológico, as leveduras foram dispostas em lâminas, coradas com tinta da china onde evidenciou a presença de células com cápsula espessa e mucopolissacarídeo ao redor de blastoconídios arredondados típico de fungos do gênero *Cryptococcus* spp. para 5 (equivalentes a 45,45%) das 11 amostras processadas. O isolamento ambiental desse fungo em áreas públicas constitui importância para saúde pública, haja vista o crescimento populacional de *Columba livia* em São Luís apontando risco de exposição e infecções pelos propágulos, forma infectante do microrganismo dispersos nesses ambientes.

Financiamento: UniCEUMA, FAPEMA, MS, DECIT, CNPq, SES.

MI245

Transcriptome of *Trichophyton rubrum* reveals the induction of leucine aminopeptidases Lap 2 in HaCat human keratinocyte cell line co-culture and keratin-containing medium

Petrucelli Monise Fazolin³, Bitencourt Tamires Aparecida¹, Franco Matheus Eloy², Mozart Marins³, **Fachin Ana Lucia**³.

⁽¹⁾ Departamento de Genetica, FMRP, Universidade de Sao Paulo, Ribeirao Preto, BR. ⁽²⁾ Computacao, Instituto Federal do Sul de Minas, Machado, BR. ⁽³⁾ Unidade de Biotecnologia, Unidade de Biotecnologia, Unaerp, Ribeirao Preto, BR.

The dermatophyte *Trichophyton rubrum* is the major fungal pathogen of skin, hair and nails that uses keratinized substrates as the primary nutrients during infection. Nowadays, these superficial infections can become invasive and lead to disease in immunocompromised and diabetic patients. Although the clinic importance of infections promoted by *T. rubrum* little is know about the molecular aspects involved in host-pathogen relationship. Furthermore, few strategies are available that would permit a better understanding of the molecular mechanisms involved in the interaction of *T. rubrum* with the host because of the limitations of models mimicking this interaction. In this work, we compared the *T. rubrum* conidia transcriptome growth for 24, 36 and 72 h in keratin-containing medium by microarray custom slide containing 6,091 sequences, and transcriptional profile of genes of *T. rubrum* co-cultured for 24h with a human keratinocyte cell line (HaCat) using the RNAseq. The microarray transcripts showed the modulation of 142 transcripts in the presence of keratin. Regarding to protease activity, the growth of *T. rubrum* conidia on keratin induced six protease genes that encoded respectively: leucine aminopeptidases Lap 1(log₂ fold change, 6.62) and Lap 2 (log₂ fold change, 10.74); subtilisin-like proteins Sub 1 (log₂ fold change, 13.73), Sub3 (log₂ fold change, 9.66) and Sub 6 (log₂ fold change, 12.45); and metalloproteinases Mep3 (log₂ fold change, 5.81). The results of dual RNA-seq showed the modulation of 70 genes and induction of TERG_12606 (log₂ fold change: 2.16) and TERG_08405 (log₂ fold change: 1.29), which encode exoproteases (dipeptidyl peptidase V and leucine aminopeptidase 2, respectively). The secretion of endo- and exoproteases by dermatophytes is the one important virulence factor and is of fundamental for invasion and dissemination of the fungus through the stratum corneum of the host. In conclusion, the identification of the keratinolytic proteases involved in the host fungus relationship, like Lap2, that is crucial for infection process, can be an important target for antifungal drug development.

Fapesp Process 2016/ 22701-9



MI246

Efeito da preservação do material vegetal na qualidade do DNA na diagnose da clorose variegada do citrus

Saia Thainá Fernanda F¹, Coraini Nathalia Fadel¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Genética Molecular, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos, Araras, BR.

A Clorose Variegada do Citrus (CVC) é uma das principais doenças da cultura, causada pela bactéria *Xylella fastidiosa*. A correta diagnose da doença necessita de técnicas moleculares, devido à característica fastidiosa do patógeno. Dessa forma a qualidade do DNA extraído é fundamental para a correta diagnose da doença. No entanto, a extração do DNA pode ser interrompida em alguma etapa do processo, devido ao influxo de grande quantidade de amostras. Assim o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da conservação da amostra na qualidade do DNA extraído e confiabilidade da diagnose por PCR. Os pecíolos das folhas foram preservados a -20°C por 0, 2, 5 e 7 dias. Em cada uma das datas, realizou-se a extração do DNA pelo método CTAB e posteriormente empregado na diagnose molecular de CVC, com os primers RST31 e RST33, CVC-1 e 272-2int. A qualidade do DNA foi examinado em NanoDrop®2000 onde a quantidade (ng/μl) e a absorbância(A260/280). Os dados obtidos mostraram que o DNA extraído de material preservado até o quinto dia não apresentou diferença significativa em relação ao DNA de material fresco nos dois parâmetros avaliados; na diagnose molecular, os DNAs extraídos do sétimo dia não apresentaram diferença na performance quando comparados aos frescos. Portanto, o presente trabalho mostrou que os materiais recebidos para diagnose podem ter o processo de extração do DNA iniciado e ser, posteriormente, interrompido e preservado a -20°C por até sete dias, sem comprometer o exame diagnóstico do CVC.

MI247

Estudo do reparo de Fotoprodutos por um novo cassete gênico em *Caulobacter crescentus*

Frank Sydney Fernández Silva¹, Raquel Merino Urteaga¹, Ticiane Ribeiro Rodrigues¹, Carlos Frederico Martins Menck¹, Rodrigo Da Silva Galhardo¹. ⁽¹⁾ Instituto de Ciências Biomédicas, Microbiologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, BR.

Introdução: Em esporos bacterianos, a liase de fotoprodutos de esporos (SP liase) realiza a reversão direta de um fotoproduto específico e distinto, o chamado SP, em duas bases de pirimidina, de maneira independente da luz. A SP liase pertence à superfamília de enzimas S-adenosil-L-metionina (SAM) radical e, portanto, contém um cluster [4Fe-4S] e um cofator SAM diretamente envolvido em catálise. Em *Caulobacter crescentus*, trabalhos prévios identificaram dois genes (CCNA_02417 e CCNA_02418) que fazem parte do regulon SOS. A resposta SOS é um regulon bacteriano universal envolvido na resposta celular ao dano do DNA e outras formas de estresse. O gene CCNA_02417 codifica uma proteína da superfamília “Radical SAM” e é parte de um operon com o gene CCNA_02418, que codifica uma proteína com dois domínios distintos. Um domínio de função desconhecida (DUF4130) e outro domínio com similaridade com as uracila-DNA glicosilases. **Objetivo:** Verificar a existência de um sistema de reparo de fotoprodutos mediado pelo operon CCNA_02417/CCNA_02418. **Métodos:** A cepa mutante para o gene CCNA_02417 foi construída pelo método de deleção em fase, utilizando-se o vetor pNPTS138 no background da cepa selvagem e da cepa deficiente do gene *uvrA*, deficiente do reparo da excisão de nucleotídeos (NER), para realizar ensaios de sobrevivência após a exposição à radiação UV e de mutagênese usando o gene marcador *rpoB* (Rif^R). **Resultados:** O mutante CCNA_02417 apresenta uma sensibilidade a UV 8 vezes maior do que a linhagem selvagem, e o duplo mutante *uvrA*/CCNA_02417 apresenta uma sensibilidade 130 vezes maior do que o mutante *uvrA*. A mutagênese induzida por UV é diminuída na ausência de CCNA_02417. **Conclusão:** Os resultados mostram pela primeira vez que o produto do gene bacteriano amplamente conservado CCNA_02417 atua no reparo de danos causados por UV. Desta forma, acreditamos que operon CCNA_02417/CCNA_02418 codifica um sistema de reparo de fotoprodutos mediado por CCNA_02417, que possui um mecanismo associado para prevenir mutagênese induzida por desaminação de citosina, mediada pela atividade da uracila-DNA-glicosilase de CCNA_02418.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)



MI248

Role of the cellular m6A machinery on gene expression and replication of human respiratory syncytial virus

Fabian Figueroa A.¹, Alonso Vega G.¹, Ricardo Soto¹, Mónica Acevedo¹. ⁽¹⁾ Programa Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

N6-methyladenosine (m6A) is the most abundant internal chemical modification described so far in Eukaryotic mRNAs. This modification plays a central role in mRNA metabolism by regulating splicing, nuclear export, stability or translation. Methylation of mRNA is regulated by methyltransferases METTL3 and METTL14 and can be reversed by the RNA demethylases FTO and ALKBH5. m6A is mainly recognized by members of the YTH family and are responsible of exert the function of this modification. In the last few years m6A has been reported to regulate viral gene expression and replication of different viruses including HIV-1, influenza A virus, HCV, Zika virus amongst others. In this work we analyzed the impact of different components of the m6A machinery on gene expression and replication of human respiratory syncytial virus (hRSV). Our results show that overexpression of METTL3/14 results in a decrease of mRNA, genomic RNA and F protein expression. In contrast, overexpression of FTO and ALKBH5 has the opposite effect indicating a negative effect of m6A on viral gene expression and replication. We also observed that YTHDF1-3 bind to the RSV mRNA and genomic RNA and their overexpression increases F protein expression. Together, our findings suggest an important role of the m6A modification and its associated machinery on gene expression and replication of hRSV. These results will help to better understand the hRSV life cycle and how its replication is regulated at the epitranscriptomic level.

FONDECYT 1160176 and Anillo ACT-1408 to RSR



MI249

Counter-silencing of horizontally acquired genes by NusG depletion in *Salmonella*

Lionello Bossi¹, Nara Figueroa-Bossi¹. ⁽¹⁾ Institute for Integrative Biology of the Cell, I2BC, CNRS, Gif-sur-Yvette, FR.

NusG is a protein conserved in all three domains of life, which associates with RNA polymerase during transcription elongation and increases polymerase processivity. In *Salmonella*, the essentiality of NusG for cell viability poses challenges in the *in vivo* study of NusG function by mutational analysis. To circumvent this problem, we have engineered a strain carrying the unique chromosomal copy of the *nusG* gene under the control of an arabinose-inducible repressor. This strain allows NusG depletion, within a controlled time frame, by simply adding arabinose to a growing culture. We have used this strain for two types of experiments: *i*) search for random *lacZ* gene fusions differentially expressed in the presence or absence of arabinose; *ii*) RNA-seq analysis under the same conditions. Results have converged toward a single coherent conclusion: loss of NusG leads to a massive increase in the expression of a specific class of genes, namely genes that originate from horizontal transfer (including all major *Salmonella* pathogenicity islands) and that are known to be silenced by H-NS protein or members of its family. These findings corroborate the involvement of a transcription elongation step - and a key role of NusG - in the mechanism(s) of H-NS-mediated gene silencing. Data supporting this conclusion will be presented and discussed.

This work was funded by the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) and by the Agence Nationale de la Recherche (ANR3BSV30005).

MI250

Genotipificación con 24 loci MIRU-VNTR de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* de Ecuador

Daniel Garzon¹, Franco Greta Sotomayor², Juan Carlos Granda³, Carlos Mora⁴, Ana Aguilar⁵, García Miguel Angel Bereguian^{6,1}, Gabriel Trueba¹, Jacobus De Waard^{8,7}. ⁽¹⁾ Microbiología, Ciencias Biológicas, Universidad San Francisco de Quito. EC. ⁽²⁾ Laboratorio de ciencias omicas, Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública, Guayaquil, EC. ⁽³⁾ Laboratorio de referencia en Micobacterias, Instituto de Investigación en Salud Publica, Guayaquil, EC. ⁽⁴⁾ microbiología, escuela politecnica del litoral, Guayaquil, EC. ⁽⁵⁾ Microbiología, Medicina, Universidad San Francisco de Quito, Quito, EC. ⁽⁶⁾ Ciencias Biológicas, Yachay TECH, Urququi, Ibarra, EC. ⁽⁷⁾ Instituto de Biomedicina, Univesidad Central de Venezuela, Caracas, VE. ⁽⁸⁾ Microbiologia, Universidad San Francisco de Quito, Quito, EC.

Introducción: El presente es el primer estudio en Ecuador que utiliza genotipificación de *Mycobacterium tuberculosis* para identificar las vías de la transmisión de la tuberculosis (TB) y para conocer los genotipos más importantes circulando en el país. **Métodos:** Se usaron cepas de TB de los años 2015-2017 de casos de tuberculosis pulmonar aplicándose un muestreo aleatorio estratificado por procedencia geográfica, para asegurar representación estadística de la totalidad del país. Las cepas fueron tipificadas con 24-loci MIRU-VNTR. Los datos fueron analizados para la elaboración de un dendrograma y un “minimun spanning tree” utilizando el software online disponible en la página <https://www.miru-vntrplus.org>. **Resultados:** Se obtuvo el patrón de MIRU-VNTR de 314 muestras provenientes 23 de las 24 provincias del Ecuador. Las familias más representativas fueron LAM (n=159, 51.6%, MDR-TB n=42, 26.4%), Harlem (n=90, 28,7%, MDR-TB n=12, 13.3%), S (n=20, 6.4% MDRT-TB n=3, 15%), Beijing (n=4,1.3%), Ghana (n=3, 0,95%), West African (n=3, 0.32%), Uganda (n=1, 0.32%), x (n=1,0.32%) y un clado no identificado (n=33, 7%). Las cepas se agruparon en 18 clados, no existe una asociación en localización geográfica y la presencia de una determinada familia. Eventos de pacientes infectados por la misma cepa bacteriana fueron identificados en Guayaquil (LAM n=2, LAM n=3, Haarlem n= 3), Quito (Desconocido n=2), Esmeraldas y Guayaquil (Haarlem =2), Riobamba, Nueva Loja, Machala (LAM=3). **Conclusiones:** Se demostró la presencia de 9 familias de *Mycobacterium tuberculosis* en el Ecuador, la familia más numerosa pertenece a LAM, seguida de Harlem, S y cepas de las familias Uganda y X. La distribución es similar a la encontrada en Perú con la excepción de la alta prevalencia encontrada del grupo S y la ausencia del grupo T. La presencia las familias más prevalentes en todas las provincias del país sugiere que TB presenta facilidad para su dispersión en el territorio ecuatoriano. Presente información servirá de línea base para el desarrollo de estrategias para controlar brotes.

Escuela de medicina grant, HUBI 5553

MI251

Evaluación del estado de activación del factor de transcripción Sre1 a su forma Sre1-N por la proteasa Stp1 de la vía SREBP en las cepas mutantes de la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous*

Melissa Gómez¹, González Ana M¹, Gutiérrez María S¹, Dionisia Sepúlveda¹, Salvador Barahona¹, Marcelo Baeza¹, Víctor Cifuentes¹, Jennifer Alcaíno¹. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

En *Xanthophyllomyces dendrorhous* los niveles de esteroides probablemente se encuentran regulados a través de la vía SREBP (*Sterol Regulatory Element Binding Protein*), ya que se han identificado posibles genes que codificarían proteínas que forman parte de esta vía, siendo éstos identificados como *SRE1* y *STP1*. El gen *SRE1* codificaría al factor de transcripción Sre1, y *STP1* a la proteasa activadora de Sre1 (Stp1), la cual genera la forma soluble Sre1-N, que activa la expresión de genes blancos a través del reconocimiento de los elementos de respuesta a esteroides "SREs" (**S**terol **R**esponse **E**lements) presentes en la región promotora. Entre los genes blanco se encontrarían genes estructurales de la ruta de biosíntesis de ergosterol, principal esteroide en hongos. Interesantemente, los niveles de esteroides celulares estarían involucrados en la regulación de otras vías de biosíntesis, principalmente la ruta carotenogénica de *X. dendrorhous*. Por ejemplo, se ha visto que en mutantes que no producen ergosterol (CBS*scyp61*⁻) aumentan los niveles relativos de diversos transcritos y se favorece la producción total de carotenoides, los que retornan a un nivel silvestre cuando los genes *SRE1* y *STP1* se encuentran mutados. En este trabajo se generaron cepas mutantes *SRE1-tagged* a partir de la cepa silvestre CBS.6938 y CBS*scyp61*⁻ de *X. dendrorhous*, las cuales expresan al péptido antigénico DYKDDDDK fusionado al factor de transcripción Sre1 por su extremo N-terminal. Se detectó la forma activa de Sre1 (Sre1-N) mediante western blot en la cepa que no produce ergosterol (CBS*scyp61*⁻), comparándola con una cepa mutante que sólo expresa la forma activa Sre1-N (CBS. *SRE1N-tagged*). Estos resultados sugieren que efectivamente la levadura *X. dendrorhous* posee una vía SREBP funcional que se encuentra activa en mutantes que no producen ergosterol favoreciendo la producción de carotenoides.

FONDECYT 1160202, CONICYT Doctorado Nacional 21170613

MI252

Generación del mutante CBS Dap1-3xFLAG en *Xanthophyllomyces dendrorhous* mediante la técnica de *DNA assembler*

González Ana María¹, Gómez Melissa Katherine¹, Gutiérrez María Soledad¹, Dionisia Sepúlveda¹, Barahona Salvador Karim¹, Baeza Marcelo Enrique¹, Cifuentes Víctor Hugo¹, Alcaíno Jennifer Cecilia¹. ⁽¹⁾ Ciencias Ecológicas, Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

En la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous* (microorganismo que produce el carotenoide de interés comercial astaxantina) se han estudiado funcionalmente tres genes de enzimas P450s: dos involucradas en la biosíntesis de esteroides, Cyp51 y Cyp61, y una involucrada en la biosíntesis de carotenoides, CrtS. En *Schizosaccharomyces pombe* se describió un regulador positivo de P450s denominado Dap1 (*Damage activated protein 1*), cuya participación en la síntesis de esteroides ha sido demostrada. En *X. dendrorhous* se identificó un posible gen *DAP1* cuya delección afecta la síntesis de carotenoides y esteroides. Mediante co-inmunoprecipitación (Co-iP), se pretende evaluar si la proteína codificada por este gen es capaz de interactuar con P450s presentes en esta levadura. Para ello, la proteína Dap1 se fusionó al epítipo FLAG, ya que no existen anticuerpos específicos para Dap1. La proteína de fusión en *X. dendrorhous* fue generada mediante la técnica de *DNA assembler*, donde 8 fragmentos de DNA obtenidos mediante PCR fueron utilizados para transformar *S. cerevisiae*. Los fragmentos poseen alrededor de 80 pb de superposición entre ellos para generar un vector de aproximadamente 9600 pb. Se seleccionaron 5 clones transformantes de esta levadura cuyo DNA se utilizó para transformar *E. coli* mediante electroporación, recuperándose los plásmidos generados en un paso posterior. Los plásmidos obtenidos poseen la secuencia génica de Dap1 seguida de la secuencia que codifica al epítipo FLAG (generando una proteína de fusión), junto con un módulo que otorga resistencia al antibiótico Higromicina B. Una vez analizados los transformantes y verificado el correcto ensamblaje de las secuencias, el plásmido se utilizó para transformar *X. dendrorhous*, generándose una cepa mutante que no posee diferencias en pigmentación al compararla con la cepa silvestre. Para evaluar la correcta generación de la proteína, se analizaron transcritos DAP1-FLAG; además de analizar mediante western-blot la presencia de la proteína marcada en los extractos proteicos de esta cepa. De esta manera, se logró la generación de un mutante de *X. dendrorhous* que posee la proteína de fusión Dap1-FLAG, la cual puede ser reconocida correctamente por el anticuerpo respectivo.

FONDECYT 1160202



MI253

Cambios en el uso de codones sinónimos alteran la función de la chaperona de RNA Hfq de *E.coli*

Daniela Gonzalez¹, Assaf Katz¹, Omar Orellana¹. ⁽¹⁾ Biología Molecular y Celular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

El código genético es redundante, lo que implica que más de un codón pueden codificar el mismo aminoácido (denominados codones sinónimos). La elección de los codones sinónimos presentes en cada gen no es al azar, ya que puede afectar la eficiencia de la traducción, el plegamiento y los niveles de las proteínas codificadas, siendo esto una presión de selección. En bacterias la traducción se regula en parte por la interacción sRNA-mRNA en la que participa la chaperona de RNA Hfq en procesos como el metabolismo celular, virulencia, adaptación a estrés, entre otros. Con el objeto de estudiar la relación entre el uso de codones sinónimos y la regulación de la traducción por RNA pequeños en bacterias, en este trabajo se evaluó el efecto del reemplazo de codones sinónimos en la función de la chaperona de RNA Hfq. Se realizaron cambios en el uso de codones sinónimos en dos regiones del gen *hfq* con el fin de evaluar el efecto sobre la traducción y el plegamiento de la proteína. Mediante recombinación homóloga se generaron dos genotecas de *hfq* en las que se introdujo modificaciones al azar de codones sinónimos. Los resultados sugieren que las alteraciones de los codones sinónimos en la región amino terminal afectan el crecimiento celular y la respuesta a estrés. Además se observó una alteración en los niveles de los mRNAs regulados por Hfq. Actualmente estamos estudiando los posibles efectos de las mutaciones sinónimas en la traducción y el plegamiento de la proteína.

FONDECYT 1150834

MI254

Análisis transcriptómico en mutantes del gen *SRE1* revela el rol de Sterol Regulatory Element Binding Protein (Sre1) en la producción de esteroides y carotenoides en *Xanthophyllomyces dendrorhous*

María Soledad Gutiérrez¹, González Ana M¹, Melissa Gómez¹, Salvador Barahona¹, Dionisia Sepúlveda¹, Marcelo Baeza¹, Víctor Cifuentes¹, Jennifer Alcaino¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genética, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

La vía SREBP (*Sterol Regulatory Element Binding Protein*) es un mecanismo de regulación de transcripción génica mediada por los niveles de esteroides y oxígeno en hongos. La funcionalidad de **Sre1**, el regulador transcripcional, requiere de la liberación del dominio de activación de la transcripción N-terminal (Sre1N) desde la membrana del Aparato de Golgi. Esta vía es ampliamente conservada en mamíferos y recientemente se han identificado homólogos en hongos. En las levaduras *S. pombe* y *C. neoformans* se demostró que Sre1 regula la biosíntesis de esteroides, y es esencial para el crecimiento en condiciones de hipoxia y en presencia de inhibidores de la biosíntesis de ergosterol (azoles). El objetivo de este trabajo fue analizar el transcriptoma de cepas mutantes de delección y de expresión del dominio activación transcripcional del gen *SRE1* en la levadura carotenogénica *X. dendrorhous*. Las cepas estudiadas fueron: CBS6938 (silvestre), CBS-*sre1*⁻, CBS-*cyp61*⁻ (no produce ergosterol y sobre-produce carotenoides), CBS-*cyp61*/*sre1*⁻ y CBSg*SRE1N* (sobre-produce carotenoides). La extracción de RNA se realizó con TriReagent desde cultivos en fase exponencial, la construcción de las librerías fue por TruSeq Stranded mRNA y la secuenciación masiva fue mediante la plataforma Illumina HiSeq2000 PE.75 pb, cada una de las cepas fue secuenciada por triplicado y el análisis bioinformático se realizó con CLC Genomics Workbench v10 y DESeq2; cada comparativa fue respecto a la cepa silvestre. En la cepa CBS-*sre1*⁻, 17 genes se encuentran diferencialmente expresados de los cuales 13 disminuyen su expresión 4 aumentan. En las cepas CBS-*cyp61*⁻ y CBSg*SRE1N*, más de 50 genes aumentan su expresión y dentro de estos, genes de la biosíntesis de esteroides y carotenoides como *HMG5*, *CYP61*, *ERG2*, *ERG24* y *crtR* se sobreexpresan mas de 5 veces. Estos resultados sugieren por un lado que el factor de transcripción Sre1 se encontraría basalmente activado en la cepa silvestre bajo las condiciones estudiadas y sería responsable del fenotipo sobreproductor de carotenoides en CBS-*cyp61*⁻ y CBSg*SRE1N* dado el aumento en los niveles de transcritos de genes claves en la carotenogenesis.

FONDECYT 1160202 y Beca CONICYT 21130708.

MI255

YqgF regulates the expression of genes involved in the pathogenicity of *Salmonella* Typhimurium

Gutiérrez Nuria C¹, Hidalgo Mara B¹, Mora Aracely Y¹, Hidalgo Alejandro A¹. ⁽¹⁾Laboratorio de patogénesis molecular y antimicrobianos, Medicina, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Salmonella Typhimurium debe superar diversas barreras antes de colonizar el intestino y generar una enfermedad sistémica en el ratón, para lograrlo posee una serie de factores de virulencia, muchos codificados en islas de patogenicidad. La expresión de estos genes es finamente regulada a nivel de terminación de la transcripción para evitar la transcripción de genes vecinos y evitar la expresión de genes foráneos perjudiciales. Uno de los mecanismos de terminación de la transcripción es el Rho dependiente. Rho es un factor esencial en enterobacterias. Un nuevo factor involucrado con Rho es YqgF. Su función no está totalmente estudiada, pero se ha encontrado que es esencial en *S. Typhi* y *E. coli*. Recientemente, se ha descrito que YqgF está involucrado en la anti-terminación Rho dependiente y participaría en el procesamiento de ARNr pre-16S, produciendo ribosomas defectuosos, los cuales se unirían fuertemente a secuencias tipo Shine-Dalgarno (SD), causando pausas en traducción y desacoplamiento de la transcripción de genes con alto contenido (≥ 6) de secuencias tipo SD. En *Salmonella* Typhimurium, el papel de YqgF no está descrito, estudios preliminares indican ser esencial y afectar el crecimiento. Teniendo en cuenta que Rho desempeña un papel clave en la regulación de los genes de las islas SPI-1 y SPI-2, implicados en la patogenicidad bacteriana y que varios de estos genes contienen ≥ 6 secuencias tipo SD, analizamos su expresión en función de la expresión de *yqgF*. Para regular la expresión de *yqgF*, utilizamos la cepa *S. Typhimurium yqgF^{TD}* (dependiente de tetraciclina) y *S. Typhimurium yqgF^{RA}* (reprimible por arabinosa). Encontramos que *yqgF* modula la expresión de genes con un alto contenido de secuencias tipo SD y de genes con terminadores intragénicos Rho dependientes. Luego, se realizó una búsqueda de genes mediante la transposición con transposón ptn5-lac, que genera fusiones transcripcionales con el gen *lacZ* en la cepa *yqgF^{RA}* y se encontraron tres genes regulados por YqgF: *ydiP*, *ompW* y *STM1864*, que se confirmaron mediante qPCR. Finalmente, se infectó ratones con *S. Typhimurium* mutantes en estos genes para analizar la virulencia. Concluimos que YqgF podría estar actuando sobre la terminación de genes implicados en patogenicidad afectando la virulencia.

MI256

Caracterización de dos variantes de la proteína chaperona de RNA, Hfq del patógeno *Piscirickettsia salmonis*

Henríquez Fabián A.¹, Gómez Fernando A.¹, Patricio Flores-Herrera¹, Marshall Sergio H.¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso, Valparaíso, CL.

Introducción: La bacteria *Piscirickettsia salmonis* es el agente etiológico de la Piscirickettsiosis, enfermedad que afecta seriamente a la salmicultura en Chile desde fines de los 80. A pesar de la secuenciación de su genoma y de que existen reportes que describen genes asociados a sistemas de secreción y virulencia, aspectos relevantes de la biología y patogénesis de la bacteria se mantienen desconocidos. Nuestro grupo ha identificado, en cepas tanto LF89-Like como EM-90like, dos variantes de la proteína Hfq (chaperona de sRNA). Hfq es una de las primeras representantes de las chaperonas de RNA, descrita primeramente en *E. coli*, la tiene un rol regulatorio y polifuncional en la traducción bacteriana, formando complejos sRNA-mRNA afectando la síntesis proteica. En este trabajo se realizó una caracterización de ambas variantes de la proteína Hfq de la cepa *P. salmonis* EM-90. **Métodos:** Las secuencias aminoacídicas de Hfq-A y Hfq-B de *P. salmonis* EM-90 (Genbank ID: WP_016209846.1 y WP_017375815.1, respectivamente) fueron sometidas a una identificación de epítopes, con la finalidad de seleccionar antígenos para la producción de anticuerpos, para lo cual usó el servidor RankPeP (<http://imed.med.ucm.es/Tools/rankpep.html>). Utilizando los servidores Phyre2, e I-TASSER se realizó el modelamiento por homología para seleccionar aquellos epítopes que se encontraran expuestos, los que fueron sometidos a síntesis química en fase sólida (estrategia F-moc). Los péptidos fueron utilizados para inmunizar conejos y generar anticuerpos policlonales contra cada una de las variantes de Hfq de *P. salmonis*. Finalmente Hfq-A y Hfq-B fueron caracterizadas mediante SDS-PAGE, 2D SDS-PAGE. Se determinó la expresión de ambas Hfq por Western blot en diferentes condiciones de cultivo (infección *in vitro*, estrés y condiciones óptimas de crecimiento). **Resultados:** Nuestros resultados confirman que *P. salmonis* es capaz de expresar ambas proteínas Hfq en diferentes condiciones de crecimiento. Adicionalmente, mediante 2D-SDS PAGE y Western blot se pudo determinar pero molecular y punto isoeléctrico de cada proteína, los que concuerda con el predicho *in silico*. **Conclusión:** Se demostró empíricamente la expresión de ambas variantes de Hfq en *P. salmonis*, lo que podría indicar que ambas proteínas podrían tener un rol importante en la regulación de la expresión de genes en *P. salmonis*.

FONDECYT 1170342

MI257

The *Citrobacter rodentium* *ecp* fimbrial operon is positively regulated by the putative phosphodiesterase CreR

Isidro Maria I¹, Martinez Veronica I², Andres Escalera³, Abraham Medrano¹, Gustavo Caballero⁴, Alejandra Vazquez¹, Puente Jose L¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, MX. ⁽²⁾ Microbiología, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo, MX. ⁽³⁾ Department of Regulation in Infection Biology, Max Planck Unit for the Science of Pathogens, Max Planck Institute, Berlin, DE. ⁽⁴⁾ Department of Pathology and Comprehensive Cancer Center, Medical School, University of Michigan, Ann Arbor, US.

Citrobacter rodentium is a bacterium that causes colitis and transmissible murine crypt hyperplasia, which shares 67% of its genes with enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), both causal agents of diarrheal diseases around the world. These pathogens produce the A/E (attaching and effacing) lesion on the surface of enterocytes, which is mediated by the gene products encoded within the locus of enterocyte effacement (LEE). In addition, adherence to host epithelial cells is often mediated by fimbriae or pili. The *E. coli* common pilus (ECP), present in commensal and pathogenic *E. coli*, and also found in *C. rodentium*, has been shown to play a role in pathogenic *E. coli* interactions with environmental reservoirs or host epithelial cells. **Aim:** to study the transcriptional regulation of *ecp* fimbrial operon of *C. rodentium*. **Methodology:** *ecp* expression was analyzed in single and double mutants carrying the *ecp-cat* fusion plus complementing plasmids to study the interplay between several regulators on *ecp* regulation. Further characterization of the DRE element was performed by constructing additional *ecp-cat* regulatory deletions and site-directed mutagenesis. **Results:** As for *E. coli*, the *C. rodentium* *ecp* operon is a cluster of five genes (*ecpABCDE*) encoding proteins involved in the assembly of the fimbria, which expression is favored in static DMEM cultures at 26°C. Interestingly, while EcpR, the positive regulator of *ecp* in EPEC does not seem to be expressed nor have a role in *ecp* regulation in *C. rodentium*, we found that *creR*, encoding a putative phosphodiesterase, is essential for *ecp* activation. We found that the global regulators IHF and H-NS regulate, as in EPEC and EHEC, *C. rodentium* *ecp* expression in a positive and negative manner, respectively, and that CreR and IHF were still needed even in absence of H-NS. Moreover, we have identified a regulatory sequence, named Distal Regulatory Element (DRE) that is essential for CreR-mediated activation of *ecp* expression and perhaps the binding site of a positive regulatory protein responding to cyclic di-GMP levels. Moreover, CreR is not a key regulator for biofilm formation but its overexpression exerts a negative effect.

This work was supported by DGAPA IN213516 and CONACyT CB-239659 and FC-2015-2/950 to JLP and 405034 to MIIC.



MI258

Regulation of translation elongation under oxidative stress

Leiva Lorenzo E³, Joaquín Rojas³, Andrea Pincheira³, Sara Elgama¹, Orellana Omar³, Michael Ibba², **Assaf Katz**³.

⁽¹⁾ Department of Microbiology, The Ohio State University, Columbus, OH, US. ⁽²⁾ Department of Microbiology, Ohio State University, Columbus, OH, US. ⁽³⁾ Programa de Biología Celular y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Similar to other organisms, bacteria require to adapt their proteome to environmental variations. Much has been studied about the role of regulation of transcripts level in the response to oxidative stress, but there is little information regarding the role that translation regulation plays in the response to this stress. Based on an aminoacylation screening we have found a decreased level of tRNA^{Gly} in *Escherichia coli* cultured under stress conditions, while tRNA for other 9 amino acids are unaltered. Northern experiments indicate that the levels of tRNA^{Gly} remain stable under oxidative stress indication our observation corresponds to tRNA^{Gly} inactivation, not to its degradation. Over-production of any of the tRNA^{Gly} isotypes alters the bacterial response to oxidative stress supporting a role of tRNA^{Gly} inactivation in regulating the oxidative stress response. Using fusions of diverse codons to GFP, we have found that translation of Gly codons is altered under oxidative stress, supporting the idea that modulation of translation elongation has a role in modulating the oxidative stress response. To determine if other enterobacteria similarly modulate translation elongation, we searched for codon patterns which are enriched in genes previously found to be differentially expressed under oxidative stress. We tested 4 of the patterns correlated to changes in protein levels. After introducing these patterns in *gfp* sequence, we were able to confirm that 2 of them alter its expression levels under oxidative stress. Altogether, our data indicates a role for regulation of translation elongation in the response to oxidative stress.



MI259

Phenotyping of TORC1 signaling pathway activation by glutamine in a recombinant population of *Saccharomyces cerevisiae*

Ei Kessi-Perez¹, F Salinas^{3,4}, LF Larrondo^{3,2}, C Martínez^{1,4}. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Santiago de Chile (USACH), Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, CL. ⁽³⁾ Millennium Institute for Integrative Systems and Synthetic Biology (MISSB), Santiago, Chile ⁽⁴⁾ Centro de Estudio en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CECTA), Universidad de Santiago de Chile (USACH)

Saccharomyces cerevisiae is the main species responsible for the alcoholic fermentation in the production wine, being one of the main problems the deficiency of nitrogen in the must, which can lead to stuck or sluggish fermentations. A major challenge is to identify the genetic basis underlying the phenotypic variability in nitrogen consumption and metabolism, with emphasis on the study of TORC1 signaling pathway, given its central role in responding to nitrogen availability and influencing growth and cell metabolism. However, the mechanism by which different nitrogen sources activates TORC1 is not completely understood, with the study of allelic diversity appearing as an alternative to identify genes involved in this process. Using a recently developed microculture method, which uses the luciferase gene under the endogenous promoter of *RPL26A* gene as a reporter, representative strains of clean lineages described in *S. cerevisiae* (North American 'NA', Sake 'SA', West African 'WA' and Wine/European 'WE') were phenotyped. Among them, strains SA and WE showed the greatest phenotypic differences. Subsequently, a recombinant population composed of 96 segregants derived from these two strains was phenotyped using the same microculture method. Currently, the phenotypic data obtained is being used to carry out a linkage analysis, whose preliminary results show the existence of several genomic regions involved in the phenotype under study. Subsequent analysis of these regions will allow obtaining candidate genes, which will be validated by reciprocal hemizyosity analysis.

CONICYT/FONDECYT [grants 1150522 and 11170158], CONICYT/Beca Doctorado Nacional [grant 21150700] and MISSB Iniciativa Científica Milenio-MINECON.

MI260

Diversidad genética de *Mycobacterium tuberculosis* multi-drogo resistente en Chile

Jaime Lagos¹, Angelica Scappaticcio², Kohan Karla², Tamara Leiva², Fabiola Arias², Hormazabal Juan Carlos², Jorge Fernandez¹. ⁽¹⁾ Biomédico Nacional y de Referencia, Subdpto Genética Molecular, Instituto de Salud Pública de Chile.

⁽²⁾ Biomédico Nacional y de Referencia, Instituto de Salud Pública de Chile., Santiago, CL.

Introducción La tuberculosis es una enfermedad causada por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*. Es una enfermedad re-emergente a nivel mundial debido al aumento en la prevalencia de cepas multi-drogo resistente (MDR). En Chile (2016) la incidencia de tuberculosis fue de 13.2 casos por cada 100.000 habitantes, reportando 13 casos nuevos de tuberculosis MDR. La epidemiología molecular es de gran ayuda para mejorar los esfuerzos en la erradicación de la enfermedad. Técnicas moleculares como spoligotyping y MIRU-VNTR 24 LOCI permiten establecer relaciones genéticas entre cepas, determinando el linaje al cual pertenecen. Se estudiaron 37 cepas MDR recolectadas de distintos centros médicos del país y confirmadas por el Instituto de Salud Pública de Chile. Éstas fueron recolectadas entre los años 2009 y 2011, entre ellas 1 cepa extremadamente drogo-resistente (XDR). **Métodos** Se extrajo el ADN de las cepas mediante CTAB, se realizó la técnica de spoligotyping y MIRU-VNTR 24 LOCI. Los análisis bioinformáticos se realizaron en el software Bionumerics V 6.6 y en la base datos internacional SITVIT WEB http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT_ONLINE/index.jsp **Resultados** Mediante la técnica de spoligotyping se identificaron 18 espoligotipos distintos, de los cuales 6 fueron huérfanos (nuevos). Los linajes predominantes fueron Linaje T (12; 32,43%) y LAM (11; 29,73%), los que han sido previamente reportados como predominantes en Chile y Sudamérica. Entre las muestras estudiadas se identificó sólo una cepa linaje Beijing, el que se encuentra relacionado a cepas MDR en Asia. La cepa XDR correspondió a linaje T, específicamente al SIT 53. Mediante la técnica MIRU-VNTR 24 LOCI se identificaron 35 mirutipos distintos en las 37 muestras estudiadas, 3 cepas compartieron el mismo mirutipo, no así, su perfil de resistencia ni su procedencia geográfica. **Conclusión** Las cepas MDR analizadas mantienen la predominancia de los linajes LAM y T, tal como ha sido previamente descrito en Chile y Sudamérica en cepas sensibles a antibióticos. Dentro del linaje T destaca la presencia de la cepa XDR. Se evidenció una baja prevalencia del linaje Beijing. Los perfiles de resistencia no tendrían relación con un linaje en particular, sino más bien, estarían involucrados otros factores, tales como, tratamientos erráticos o el abandono del mismo.



MI261

The role of Fur in the transcriptional and iron homeostatic response of *Enterococcus faecalis*

Mauricio Latorre^{1,2,3}, Daniela Quenti², Murray Barbara E.⁴, Alejandro Maass³, Verónica Cambiazo². ⁽¹⁾ Bioingeniería, Ingeniería, Universidad de O'Higgins, Rancagua, CL. ⁽²⁾ LBEG, INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Mathomics, Ingeniería, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Division of Infectious Diseases, UTH, University of Texas, Houston, US.

The Ferric Uptake Regulator (Fur) is the principal transcription factor controlling iron homeostasis genes in bacterial organisms. In this work, we fully characterized the capacity of Fur to reconfigure the global transcriptional network and influence iron homeostasis in *Enterococcus faecalis*. Unlike other species, the characterization of the Fur regulon from *E. faecalis* indicated that this protein is only controlling the expression of genes involved in iron uptake systems, conferring to the system a high level of efficiency and specificity to respond under different iron exposure conditions. An RNAseq assay coupled with a systems biology approach allowed us to identify the first global transcriptional network activated by different iron treatments (excess and limited), with and without the presence of the regulator Fur. The model illustrated that in addition to the mechanism directly involved in metal homeostasis, *E. faecalis* activated a complex network of transcriptional factors under different iron treatments, highlighting global (LysR, ArgR, GalRS) and local (LexA and CopY) regulators also induced by copper and zinc treatments. The deletion of *fur* principally impacts the expression of genes involved in energy production and ABC transporter, optimizing detoxification and iron uptake under iron excess and limitation, respectively. Finally, considering the close relationship between iron homeostasis and pathogenesis, our data showed that the absence of Fur increased the internal concentration of iron in the bacterium, also affecting its ability to produce biofilms. These results open new alternatives in the field of infection mechanisms of *E. faecalis*.

FONDECYT N°11150679 and N°1160802, Center for Genome Regulation FONDAP 15090007, Basal grant of the Center for Mathematical Modeling UMI2807 UCHILE-CNRS N° PFB03 project, Formación de Redes Internacionales para Investigadores(as) en Etapa Inicial N° REDI170193.



MI262

Assessment of the restriction-methylation systems as an advantage in the transformation of *Lysinibacillus sphaericus* III(3)7

Diana Carolina León Castro¹, Jenny Dussán Garzón¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigaciones Microbiológicas (CIMIC), Departamento de Ciencias Biológicas, Ciencias, Universidad de Los Andes, BOGOTA D.C., CO.

Lysinibacillus sphaericus is a gram positive bacteria widely studied for its entomopathogenic properties and its tolerance to different heavy metals. However, due to its high genomic conservation and to the arduous horizontal transfer of foreign DNA, genetic manipulation of *Lysinibacillus sphaericus* strains with significant environmental features has represented a great challenge. Recently, the presence of different restriction-methylation systems was observed in the entomopathogenic strain *L. sphaericus* C3-41 that would be involved in the entry regulation of external genetic material into the cell and could act as a barrier that ensures bacterial identity. Due to the evolutionary relatedness between toxic strains, this study assessed the restriction-methylation systems of the entomopathogenic Colombian strain *L. sphaericus* III(3)7 as an advantage in the transformation of *L. sphaericus* with the plasmid pMK4-ampR and pMK4-mRFP. Subsequently, the entomopathogenic activity of transformed *L. sphaericus* III(3)7 was determined using *Aedes* sp larvae. Finally, it was found that the methylation patterns of the cell-free extracts (CFE) of *L. sphaericus* III(3)7 were similar to the commercial methylase M.CviPI, this was established by agarose gel electrophoresis which showed bands of 5-6 kb. The plasmid (pMK4-ampR or pMK4-mRFP) methylated by *L. sphaericus* III(3)7 or by M.CviPI was successfully inserted into *L. sphaericus* III(3)7, its presence was confirmed by analyzing, through agarose gel electrophoresis, the restriction patterns of the extracted and the original plasmid.

The acknowledgements are to Dr. Jenny Dussán Garzón for her support along all the project, this study could not have been carried out without her guidance and funding.



MI263

La proteína lectora de m⁶A YTHDC2 se asocia con el ARNm completo de VIH-1 para regular su expresión

Felipe León-Díaz¹, Daniela Toro-Ascuy¹, Fernando Valiente-Echeverría¹, Ricardo Soto-Rifo¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Virología Molecular y Celular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

La regulación de la expresión génica a nivel de ARNm es un excelente punto de control y es sabido que los ARNm pueden sufrir cientos de modificaciones químicas, de las cuales la N6-metiladenosina (m⁶A) es la modificación interna más abundante en los ARNm eucariontes. Esta modificación es dinámica y regulada por proteínas escritoras, borradoras y lectoras de m⁶A. Las proteínas lectoras reconocen y dan la funcionalidad a m⁶A, y corresponden principalmente a los miembros de la familia YTH: YTHDF1-3, YTHDC1 e YTHDC2. Cuando el genoma de VIH-1 se integra en un cromosoma celular, se genera un transcrito único de 9-kb (ARNm completo), el que es procesado por corte y empalme para generar los transcritos de 2-kb (completamente procesados) y luego los de 4-kb (parcialmente procesados). El ARNm completo es, además, utilizado para la síntesis de las poliproteínas Gag y Gag-Pol. Recientemente se reportó la presencia de m⁶A en el ARNm completo de VIH-1 sugiriendo una fina regulación de la expresión génica viral a través de la modificación química en este transcrito. De las lectoras, YTHDC1 e YTHDC2 no poseen un rol conocido en el ciclo replicativo de VIH-1 y en este trabajo analizamos su rol en la síntesis de Gag. Nuestros datos preliminares muestran que el ARNm completo de VIH-1 se asocia con YTHDC1 en núcleo y con YTHDC2 en el citoplasma, pero sólo ésta última promueve la síntesis de Gag. Actualmente nos encontramos caracterizando el mecanismo molecular por el cual YTHDC2 se asocia al ARNm completo y promueve la síntesis de Gag.

FONDECYT 1160176 y Anillo ACT-1408

MI264

Análise comparativa de espécies patogênicas e não patogênicas de *Corynebacterium* spp

Alyne Lima², Carlos Araujo ², Edson Folador³, Vasco Azevedo¹, Rafael Baraúna¹, Artur Silva¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Genética Celular e Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR.

⁽²⁾ Laboratório de Genômica e Bioinformática, Centro de Genômica e Biologia de Sistemas, Universidade Federal do Pará, Belém, BR. ⁽³⁾ Centro de Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, BR.

O gênero de *Corynebacterium* pertence ao filo de Actinobactéria e apresenta diversas espécies de grande interesse médico, biotecnológico e veterinário. As corinebactérias compartilham características como alto conteúdo G+C, composição da parede celular, incluindo espessura, presença de ácidos micólicos, peptidoglicano, além de arabinogalactano e ácidos graxos saturados e insaturados. Atualmente, abrange espécies não patogênicas, como *Corynebacterium glutamicum*, e patogênicas, como *Corynebacterium pseudotuberculosis* e *Corynebacterium diphtheriae*. O aumento da disponibilidade de sequências genômicas completas tem fornecido uma gama de dados e informações para estudos de genômica comparativa dentro deste gênero. Desta maneira, objetivou-se identificar os genes ortólogos e únicos de espécies patogênicas e não patogênicas de *Corynebacterium* a fim de inferir quais possíveis mudanças adaptativas ocorreram ao longo do processo evolutivo. Foram utilizados os genomas de *C. pseudotuberculosis*, *C. diphtheriae* e *C. glutamicum*, disponíveis no NCBI. Para a identificação dos genes ortólogos e únicos foi adotado o software PGAP, através de *e-value* 0.00001, identidade de 60% e cobertura de 50%. Os SNPs preditos no genoma central foram usados para a construção de uma árvore baseada em máxima verossimilhança, visualizada no programa SplitsTree4. O genes identificados foram submetidos a plataforma Blast2go para a predição do componentes celulares e processos biológicos envolvidos. Após a obtenção das sequências dos três genomas, observamos tamanhos de genoma médio de 2,6 Mb, com o menor sendo observado em *C. pseudotuberculosis* com 2,3 Mb, seguido de *C. diphtheriae* 2,5 e o maior sendo de *C. glutamicum* com 3,5 Mb. Os genomas utilizados compartilham 755 genes de cópia única, com 310, 379 e 1065 pertencentes exclusivamente a *C. pseudotuberculosis*, *C. diphtheriae* e *C. glutamicum*, respectivamente. Foi possível observar ainda, que grande parte dos genes exclusivos de *C. pseudotuberculosis* e *C. glutamicum* são de membrana celular e associados à oxi-redução, transporte transmembrana e regulação e transcrição do DNA, indicando que a sobrevivência destas espécies, propensas ao estresse ambiental e de adaptação ao hospedeiro, foi um dos principais critérios de diferenciação. Os genomas das espécies patogênicas apresentam menor diversidade gênica do que os de espécies não patogênicas.

MI265

Transcriptional study of the RsmZ-sRNAs and their relationship to the biosynthesis of alginate and alkylresorcinols in *Azotobacter vinelandii*

Liliana Lopez¹, Nuñez Cinthia López², Castañeda Miguel Lucio². ⁽¹⁾ Instituto de Microbiología, Genética Molecular Microbiana, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, MX. ⁽²⁾ Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, MX.

The alginate and alkylresorcinols are secondary metabolites with biotechnological interest produced by *Azotobacter vinelandii*. These compounds are controlled by the Gac/Rsm system through noncoding small RNA (sRNAs) belonging to the Rsm system. These sRNAs are able to bind and counteract RsmA protein function. RsmA is a post-transcriptional repressor that controls the expression of the transcripts of *algD* and *arpR* genes. These genes are involved in alginate and alkylresorcinols synthesis respectively. In Pseudomonadacea the Rsm-sRNAs are divided into three families: RsmX, RsmY and RsmZ. *A. vinelandii* has the highest number of Rsm-sRNAs until now described, possesses seven belonging to RsmZ family and one of RsmY family. **Objective:** In this work we studied the effect of carbon source over the expression of the *rsmZ1-7* genes and the relationship between the expression of these genes with the production of alginate and ARs. **Methodology and results** In order to study the *A. vinelandii rsmZ1-7* transcriptional regulation, we constructed a series of PrsmZ1-7-gusA transcriptional fusions into the integrative vector pUMATcgusAT. The strains that carried the transcriptional fusions were cultivated in minimal medium and the expression promoter profile was determined, although all the *rsmZ* alleles showed a similar transcriptional pattern through the growth curve, reached its maximal expression at stationary growth phase, the magnitude of the promotor activity of each one *rsmZ* gene was very variable. Furthermore, we explored the effect of different types of carbon sources on the expression of the *A. vinelandii rsmZ*-sRNAs. To this end, the strains carrying *rsmZ1-7-gusA* transcriptional fusions were grown in Burk's minimal medium amended with glucose or fructose, as glycolytic carbon sources, or with succinate, as a gluconeogenic carbon source. Interestingly, expression of all the *rsmZ* genes was higher in the presence of succinate than in the glycolytic condition. Single deletion mutants of the *rsmZ*-sRNAs family were constructed, the alginate and alkylresorcinols production were measured in the same carbon sources where the *rsmZ*-sRNAs expression was established, and we found that the expression levels do not correlate with the secondary metabolites production suggesting the existence of additional factors involved in the regulatory function of the RsmZ-sRNAs.

MI266

Occurrence, persistence and molecular characterization of beta-haemolytic streptococci recovered from oropharynx

Fernanda Luiz¹, Karen Alves¹, Rosana Barros¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Cocos Gram Positivos, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense.

Streptococcus pyogenes (group A *Streptococcus* – GAS) is the main bacterial cause of pharyngitis. *Streptococcus dysgalactiae* subsp *equisimilis* (SDSE – groups C and G) is also related to this infection. The aims of this study were to evaluate the occurrence and persistence of beta-haemolytic streptococci carriage in 121 children and 127 young adults, symptomatic or not, as well as antimicrobial susceptibility and genetic diversity of recovered isolates. Oropharynx secretions were cultured and colonized subjects were submitted to quarterly screening, up to 12 months, while beta-haemolytic streptococcus was recovered. Isolates were identified by phenotypic and serological tests. Antimicrobial susceptibility testing was performed by agar diffusion method. Erythromycin resistant isolates were submitted to investigation of resistance phenotype and genotype and minimal inhibitory concentration (MIC). GAS and SDSE isolates were submitted to *emm* typing and *Streptococcus agalactiae* (GBS) to capsular typing by PCR, followed by *emm* gene sequencing. Initially, 34 isolates were recovered. Seventeen isolates from children were identified as GAS. Seventeen isolates from young adults were identified as GAS (3), GBS (4) and SDSE (10). During persistence evaluation, 10 GAS isolates were recovered from children in six months of screening. Twenty-one isolates were recovered from young adults, during one year, identified as GAS (2), GBS (2) and SDSE (17). Exchange of species (GAS/SDSE e SDSE/GBS) and of serological group in SDSE isolates was observed in four subjects during the period of colonization. Isolates were susceptible to ceftriaxone, levofloxacin, penicilin and vancomycin. Seven isolates, from three young adults, were resistant to erythromycin. The following phenotypes and genotypes were found: *M/mefA/E* (5) and *iMLSB/ermA* (2). The erythromycin MIC varied from 8-16 µg/ml. Types *emm87* and *emm89* were the most frequent among GAS isolates, while *stC1400* and *stG480* were prevalent among SDSE. GBS capsular types were Ia (2), Ib (2) and III (2). Young adults were colonized persistently for longer periods than children and isolates resistant to macrolides were found. Isolates of the three species were recovered from symptomatic subjects, showing their potential to cause pharyngitis. The variety of resistance genetic determinants and epidemiological markers reveals the polyclonal origin of the isolates.

FAPERJ, PROPPi



MI267

The co-regulatory network of *Trichoderma harzianum* CBMAI-0179 indicating important genes under biomass degradation conditions

Déborah Aires Almeida¹, Horta Maria Augusta Crivelente¹, Ferreira Filho Jaire Alves¹, Souza Anete Pereira². ⁽¹⁾ CBMEG, Institute of Biology, University of Campinas, Campinas, BR. ⁽²⁾ Department of Plant Biology, Institute of Biology, University of Campinas, Campinas, BR.

Species in the filamentous ascomycete genus *Trichoderma* have a great biotechnological relevance because they are a well-known biocontrol agent effective against phytopathogenic fungi and they also have the ability to hydrolyze and metabolize the cellulose present in plant biomass efficiently. They are frequently found in soils, vegetable matter, growing on bark, wood and other substrates. *Trichoderma harzianum* has a small genome size of approximately 40Mb however, it shows high production of biomass-degrading enzymes that includes cellulases and hemicellulases. Through the transcriptional analysis of the strain *T. harzianum* CBMAI-0179 under cellulose and glucose growth conditions, some important genes for biomass degradation can be identified based on the CAZy (Carbohydrate-Active Enzymes) database. The goal of this project is to identify and analyze the global transcriptional profile that is related to the degradation of cellulose and glucose by the fungus *T. harzianum* CBMAI-0179 aiming on the CAZymes genes, compare with other species of the same genus with high potential of biomass degradation and to reveal its co-regulatory network. The RNA-seq was performed and the reads were mapped and aligned using public genomes of each specie as reference. Data analysis was performed on the software CLC Genomics WB. Analyses of expression levels and upregulated genes under both conditions were determined. Venn diagrams were constructed based on the similarities between the classified genes from all species. Functional annotation was obtained based on the Gene Ontology terms using the software Blast2GO and several genes were found with hydrolytic activity. In-depth studies were conducted identifying 56 CAZymes genes that were classified under both conditions for *T. harzianum* CBMAI-0179. Genes related to the hydrolysis of cellulose and hemicellulose were found in this strain. Besides that, the co-regulatory RNA-seq network were assembled indicating genes with differential expression on cellulose and on glucose showing the co-regulated CAZymes genes and their relationships with the secreted and detected proteins distributed in the network. The data generated in this work can be used as a basis for more studies of the regulation between genes in the co-regulatory network of this strain.

FAPESP; CAPES; CNPq.

MI268

Epidemiología genómica de aislados de *Clostridium difficile* BI/NAP1/027/ST1 en América Latina

Enzo Guerrero-Araya¹, Claudio Meneses², Eduardo Castro-Nallar³, Daniel Paredes-Sabja¹. ⁽¹⁾ Microbiota-Host Interactions and Clostridia Research Group, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽²⁾ Centro de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽³⁾ Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Clostridium difficile es un patógeno bacilo, Gram positivo, anaerobio estricto, toxigénico y formador de esporas que es capaz de colonizar y proliferar en el intestino humano debido a cambios en la microbiota normal (disbiosis) generando el cuadro clínico de la infección por *C. difficile* (ICD). El clon epidémico *C. difficile* BI/NAP1/027/ST1 resistente a la fluoroquinolona (FQR) es la variante más común que causa las ICD en toda América del Norte y también se encuentra en Europa. En trabajos previos, se han determinado dos linajes epidémicos distintos, FQR1 y FQR2, los cuales están presentes a lo largo de todo el mundo. Sin embargo, en la actualidad, no está claro si los dos linajes transcontinentalmente dispersos se encuentran también en la región de América Latina. En el presente estudio, con el objetivo de analizar la dispersión del clon epidémico *C. difficile* BI/NAP1/027/ST1 en América Latina, se secuenciaron 25 cepas aisladas del ribotipo 027 de *C. difficile* de Chile (5), Costa Rica (16), Honduras (3) y México (1), las cuales se compararon contra 141 aislados mundiales usando filogenética bayesiana para investigar la dinámica de la dispersión espacial de *C. difficile* a lo largo de América Latina y también se analizó el resistoma de todas las cepas incluidas en el estudio. En este trabajo mostramos que, en América Latina ambos linajes epidémicos se encuentran presentes, el linaje FQR2 es el más predominante (92% de los aislados), solamente un aislado de Honduras y México pertenecen al linaje FQR1, las cepas de Costa Rica forman un clado monofilético entre sí por lo que se deduce una sola introducción de *C. difficile* BI/NAP1/027/ST1 en el país, en Chile y Honduras se ven 2 introducciones de distintos orígenes, por otro lado un aislado chileno pertenece a un clado netamente Europeo. Además, análisis *in silico* de los resistomas de los 166 genomas incluidos en el estudio mostró que 4 aislados clínicos de Chile y 2 de Honduras tienen un gen de resistencia adicional que codifica para una putativa Cfr rRNA metiltransferasa, la cual está presente solamente en uno de los genomas de aislados del resto del mundo analizados.

FONDECYT Regular 1151025

MI269

Caracterización epidemiológico-genómica de tuberculosis resistente a fármacos en Veracruz, México

Jiménez-Ruano Ana C, Jaime Morales-Romero¹, Carlos Madrazo-Moya², Iñaki Comas³, Roberto Zenteno-Cuevas².

⁽¹⁾ Laboratorio de Ecología y Salud, Instituto de Salud Pública., Universidad Veracruzana., Xalapa, MX. ⁽²⁾ Laboratorio de Ecología y Salud, Instituto de Salud Pública., Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Veracruzana., Xalapa, MX.

⁽³⁾ Unidad de Genómica de la Tuberculosis., Instituto de Biomedicina de Valencia. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia, España., Valencia, ES.

Antecedentes. La tuberculosis (TB) se mantiene como un problema de salud pública global. México, en el 2015, se posicionó dentro de los tres primeros países en América con mayor número de casos nuevos de TB y Veracruz se mantiene como uno de los estados con mayor incidencia. La secuenciación genómica completa (WGS) como herramienta de genotipado ha demostrado ser superior en muchos aspectos a las técnicas tradicionalmente empleadas, a pesar de ello, no se ha evaluado su utilidad para realizar estudios de epidemiología-genómica en aislados de TB resistente a fármacos circulantes en México. **OBJETIVO.** Realizar una caracterización epidemiológico-genómica de aislados de TB resistente a fármacos presentes en población veracruzana. **Metodología.** Se recuperaron 73 aislados de TB con un perfil de resistencia a fármacos de primera línea, así como diversas variables sociodemográficas. La WGS se realizó en un secuenciador HiSeq, y el análisis bioinformático para la identificación de linajes se realizó mediante un pipeline establecido dentro del grupo de trabajo, la construcción del árbol filogenético se generó mediante MEGA. Finalmente se buscaron asociaciones entre las variables recuperadas y los linajes identificados. **Resultados.** Dentro de la población de estudio predominaron hombres (58.2%) y el 55% de los casos fueron multirresistentes. El 89% (65) de los aislados se ubicó dentro del linaje 4 Euro-Americano, el 5.5% (4) en el linaje 2 Este Asia (Beijing), 2.7% (2) linaje 1 Indo-Oceánico y 2.7% (2) linaje 3 Este África-India. Dentro de los aislados pertenecientes al linaje 4 se encontraron 13 sublinajes, el predominante fue 4.1.1.3 (tipos X, X3;X1) con el 29% (19/65) de los aislados. Se encontraron 19 aislados agrupados en 4 clusters de transmisión, destacando uno conteniendo 11 aislados pertenecientes al linaje 4.1.1.3 (tipo X), todos con multirresistencia. **En conclusión**, fue posible realizar la identificación de los linajes presentes en la población de estudio, se observó una importante diversidad de linajes, confirmando la utilidad de la WGS para realizar estudios de epidemiología-genómica en México.

Ana C. Jiménez-Ruano y Carlos Madrazo-Moya son becarios CONACYT No. 626883/ 850592 y 772310 de la Maestría en Ciencias de la Salud. Este proyecto se financió parcialmente por CONACYT-PN, No. 213712.

MI270

Biofilm production by clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and structural changes in LasR protein of isolates non biofilm-producing

Jailton Lima¹, Alves Lilian R¹, Paula Jacomé¹, João Bezerra Neto², Maciel Maria Amélia Vieira¹, Morais Marcia Maria Camargo³. ⁽¹⁾ Medicina Tropical, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco ⁽²⁾ Genética, Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, CL. ⁽³⁾ Laboratório de Resistência Microbiana, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco, Recife, CL.

Introduction: Biofilm production is an important mechanism for the survival of *Pseudomonas aeruginosa* and its relationship with antimicrobial resistance represents a challenge for patient therapeutics. *P. aeruginosa* is an opportunistic pathogen frequently associated to nosocomial infections, especially in immunocompromised hosts. **Objectives:** Analyze the phenotypic biofilm production in *P. aeruginosa* isolates, describe clonal profiles, and analyze quorum sensing (QS) genes and the occurrence of mutations in the LasR protein of non-biofilm producing isolates. **Methods:** Isolates were tested for biofilm production by measuring cells adherence to the microtiter plates. Clonal profile analysis was carried out through ERIC-PCR, QS genes were by specific PCR. The occurrence of mutations in the LasR protein of non-biofilm producing isolates was carried out through bioinformatics programs. **Results:** The results showed that 77.5% of the isolates were considered biofilm producers. The results of genotyping showed 38 distinct genetic profiles. As for the occurrence of the genes, 100% of the isolates presented the *lasR*, *rhlI* and *rhlR* genes, and 97.5%, presented the *lasI* gene. In this study nine isolates were not biofilm producers. However, all presented the QS genes. Amplicons related to genes were sequenced in three of the nine non-biofilm-producing isolates (all presenting different genetic similarity profile) and aligned to the sequences of those genes in *P. aeruginosa* strain PAO1 (standard biofilm-producing strain). Alignment analysis showed an insertion of three nucleotides (T, C and G) causing the addition of an amino acid valine in the sequence of the LasR protein, in position 53. **Conclusion:** The high biofilm production detected in this study is an action that hinders the action of antimicrobial treatment. In addition, the three-dimensional models were satisfactory in the evaluation of the effect of the mutation found in non-biofilm producers isolates, which presented the QS genes, thus showing a good tool for the analysis of proteins related to biofilm formation.

CAPES e CNPq

MI271

La adquisición de islas de patogenicidad favorece la emergencia y potencial de virulencia de *Escherichia coli* productor de Shiga toxina (STEC) LEE-negativo

David A. Montero¹, Felipe Del Canto¹, Juan C. Salazar¹, Juliana Velasco², Rocío Collelo³, Nora L. Padola³, Angel Oñate⁴, Jose L. Puente⁵, Roberto Vidal^{7,6}. ⁽¹⁾ Programa de Microbiología y Micología. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Servicio de Urgencia Infantil, Hospital Clínico de la Universidad de Chile “Dr. José Joaquín Aguirre”, Santiago, CL. ⁽³⁾ Centro de Investigación Veterinaria Tandil, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, AR. ⁽⁴⁾ Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL. ⁽⁵⁾ Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, MX. ⁽⁶⁾ Programa de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁷⁾ Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

STEC causa diarrea, disentería y síndrome hemolítico urémico (SHU). La Shiga toxina es el principal factor de virulencia de STEC, pero la capacidad de la bacteria para adherirse y colonizar el intestino humano es fundamental para causar enfermedad. La Isla de Patogenicidad (PAI) “Locus of Enterocyte Effacement” (LEE) contiene genes que median el fenotipo de adhesión de un grupo de cepas STEC (LEE-positivo) que son clínicamente relevantes debido a su asociación con SHU. No obstante, cepas STEC que carecen de LEE (LEE-negativo) también han sido aisladas de casos de SHU, indicando que factores de virulencia adicionales están involucrados en la patogenicidad de estas bacterias. De hecho, tres PAIs, denominadas como “Locus of Proteolysis Activity”, “Subtilase-Encoding Pathogenicity Island” y el “Locus of Adhesion and Autoaggregation” (LAA), han sido reportadas como exclusivamente presentes en STEC LEE-negativo. Sin embargo, se desconocen los mecanismos de patogénesis mediados por estas PAIs. Recientemente, la incidencia de gastroenteritis causada por cepas STEC LEE-negativo ha aumentado en varios países. Por lo tanto, en este estudio investigamos la base genética para su emergencia y realizamos un análisis de genómica comparativa utilizando 367 genomas de cepas STEC LEE-negativo aisladas a nivel mundial. Como resultado, identificamos tres nuevos elementos genéticos, incluyendo dos PAIs y un Elemento Integrativo y Conjugativo. Además, encontramos que LAA fue la PAI más frecuente, sugiriendo que juega un papel importante en la biología de STEC. En consecuencia, LAA fue eliminada del cromosoma de la cepa STEC E045 mediante reemplazo alélico. Posteriormente, se realizaron ensayos *in vitro* e *in vivo* para determinar si la delección de LAA afecta la capacidad de adhesión, colonización y virulencia de la cepa E045. Se presenta evidencia en apoyo a la participación de LAA en la colonización intestinal de un modelo murino de infección por STEC. Finalmente, análisis filogenéticos indicaron que clados en los que se agrupan cepas con dos o más PAIs están geográficamente más diseminados en comparación con clados filogenéticamente cercanos en los que se agrupan cepas que carecen o contienen una sola PAI. Este estudio es un paso adelante en el conocimiento de la evolución y virulencia de STEC.

FONDECYT 1161161 adjudicado a R. Vidal. CONICYT-PCHA/2014- 63140238 - Beca doctoral adjudicada a D. Montero

MI272

Caracterización fisiológica y genómica de *Shewanella* sp. aislados de un efluente textil de Lima - Perú, con actividad degradadora de colorantes azo

Ivette Fuentes¹, Robert Ccorahua¹, Carlo Mormontoy¹, Wendy Lizárraga¹, Pablo Ramírez¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, PE.

La industria textil libera al medio ambiente grandes cantidades de aguas residuales que entre otros varios contaminantes contienen colorantes azo en su composición, los cuales son compuestos tóxicos, carcinogénicos y mutagénicos que afectan negativamente la vida acuática y la calidad del agua. El presente estudio tuvo por objetivo caracterizar a nivel fisiológico y genómico cepas nativas con potencial de degradación de colorantes azo obtenidas de un efluente de industria textil de Lima, Perú. Se aplicó el método de la microplaca a doce aislados bacterianos para su selección en base a su respuesta positiva a la decoloración de tres colorantes azo: Azul Directo, Rojo Remazol y Amarillo Remazol. La actividad decolorante de las cepas seleccionadas fue evaluada mediante espectrofotometría UV-Visible en medio ZZ con el colorante respectivo a 100 ppm y en condiciones de microaerofilia durante 24 horas. El secuenciamiento de los genomas se realizó utilizando la tecnología HiSeq 2500 de Illumina, el ensamblaje de novo con el software SPAdes, la extensión de los contigs y reparación de gaps a través de los programas ABACAS e IMAGE y la anotación con Prokka. Las dos cepas con mejor eficiencia de degradación correspondieron a *Shewanella* sp. LC-2 y *Shewanella* sp. LC-6, ambas identificadas mediante análisis filogenómico resultando muy cercanas al grupo filogenético de *Shewanella* sp. FDAARGOS_354. Las cepas mostraron una actividad decolorante frente a Azul Directo, Rojo Remazol y Amarillo Remazol con porcentajes de 94.42, 94.79, 91.67 para *Shewanella* sp. LC-2 y 94.37, 94.92, 83.24 para *Shewanella* sp. LC-6 a las 24 h. Asimismo, los genomas de *Shewanella* sp. LC-2 y LC-6 revelaron la presencia de los genes *azoR* y *azr* que codifican azoreductasas dependientes de NADH y NADPH respectivamente, como también genes implicados en la reducción de metales pesados y nitratos, reflejando su versatilidad catabólica, con potencial de aplicación en la biorremediación de aguas residuales textiles.

Financiado por el Vicerrectorado de investigación y posgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (VRIP B17100191 y B17100024b)



MI273

Integrative genomics insights into the evolution of the deeply rooted, extreme acidophiles of the *Verrucomicrobia* phylum

Gonzalo Neira^{1,2}, Carolina González¹, Eva Vergara¹, David Holmes^{3,1}. ⁽¹⁾ Center for Bioinformatics and Genome Biology, Fundación Ciencia & Vida. ⁽²⁾ Departamento Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmaceuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, CL.

Verrucomicrobia are gram negative bacteria that root near the base of the Tree of Life and are assumed to be an ancient phylum. One clade within the phylum inhabits extremely acidic environments (pH < 2). This clade consists of two separate lineages, one that is mesophilic and one that is thermophilic and both lineages represent the only known organisms capable of oxidizing methane in acidic environments. Despite the importance of the clade in deciphering early evolution, previous studies have focused only on their methanotrophic properties and not on their ability to live in acidic mesophilic and thermophilic environments. Our work addresses this hiatus. Multiple sequence-based and non-sequence-based phylogenetic and phylogenomic tools were used to build a robust phylogeny of the *Verrucomicrobia* allowing the prediction of the evolution of this group and the inference of the last common ancestor. Comparative genomics tools were used to predict pan-genomes, cores and ancillary genes of both the mesophilic and thermophilic branches of the acidophile clade and these were compared with other branches of the *Verrucomicrobia*. It is shown that the inferred ancestors of the acidophilic clade were mesophilic, neutrophiles. Further, it is proposed that the thermophilic acidophiles evolved before the mesophilic acidophiles and gave rise to them. The gain/loss of genes involved in the acquisition of acidophilic properties via horizontal gene transfer, gene duplication and mutation were identified. It is concluded that the ability of a clade of the *Verrucomicrobia* to live in extremely acidic environments evolved by the gain and loss of specific genes from an ancestral mesophilic neutrophile. Whether the gain of the ability to live in thermophilic conditions was a necessary prerequisite to becoming an acidophile is under investigation. None of the bioinformatic inferences could be made without the prior creation of a robust phylogenetic analysis.

BASAL AFB170004 and FONDECYT 1181717

MI274

Rol de los bacteriófagos líticos en la diversificación de *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*

Camila Puebla¹, Roberto Bastías¹, Marcela León¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL.

Pseudomonas syringae pv. *actinidiae* (Psa) es una bacteria fitopatógena, causante del cancro bacteriano del kiwi que ha provocado millonarias pérdidas económicas a nivel mundial. A la fecha se han identificado 5 biovares de esta bacteria, los cuales se diferencian a nivel genotípico, fenotípico y en su grado de virulencia. Sin embargo, se sabe poco sobre los mecanismos asociados a la diversificación de esta especie. Los bacteriófagos líticos pueden cumplir un rol fundamental en la evolución de sus bacterias hospedero al ejercer una presión selectiva sobre ellas. Debido a esto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el rol de los bacteriófagos en la diversificación fenotípica de Psa. Para esto utilizó la cepa Chilena de Psa 185889, para aislar cepas resistentes a los fagos *f21* y *f7*, y se compararon sus características fenotípicas con respecto a distintos clones de la cepa parental wt. Los resultados mostraron que las cepas resistentes a ambos fagos presentan morfologías distintas a la cepa wt, donde se pudo distinguir dos morfologías distintas entre las cepas resistentes de cada fago. Por otro lado, las cepas resistentes al fago *f21* mostraron una velocidad de crecimiento superior a la cepa wt de Psa, mientras que las cepas resistentes al fago *f7* tuvieron un crecimiento menor a la cepa wt. Asimismo, las cepas resistentes al fago *f21* mostraron una motilidad mayor a la cepa wt tanto en swimming como en swarming. Mientras que las cepas resistentes al fago *f7* presentaron una leve disminución en la motilidad tipo swimming, pero no presentó diferencias en el swarming. La producción de índoles se vio disminuida en las cepas resistentes al fago *f21*, mientras que un grupo de las cepas resistentes al fago *f7* presentó un aumento en la producción de este compuesto. Finalmente ninguna de las cepas resistentes presentó alteraciones en su capacidad de producir biopelículas. Estos resultados sugieren que los bacteriófagos pueden seleccionar cepas resistentes con distintos fenotipos favoreciendo la diversificación. Por otro lado, cada fago genera cepas resistentes con distintos fenotipos, sugiriendo distintos mecanismos para este fenómeno. Este trabajo contribuye a entender cómo pudieron generarse los distintos biovares observados en Psa.

FONDEF ID15I10032

MI275

Genomic diversity of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle feces in Chile

Leonela Diaz¹, Jianghong Meng^{3,2}, Andrea Moreno Switt⁴, Herve Luis Pablo⁵, Christopher Hamilton-West⁶, Angélica Reyes-Jara¹, **Magaly Toro**¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Department of Nutrition and Food Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Maryland, College Park, US. ⁽³⁾ Joint Institute for Nutrition and Food Safety, University of Maryland, College Park, CL. ⁽⁴⁾ Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andres Bello, Santiago, CL. ⁽⁵⁾ Depto Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁶⁾ Depto Medicina Preventiva Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) are bacterial pathogens of public health importance. It can cause sporadic cases or outbreaks of foodborne diarrhea, which can evolve to severe complications such as the hemolytic uremic syndrome (HUS). Cattle are the main reservoir of STEC, and meat and meat products have been frequently linked to human cases. Direct contact with farm animals have also been linked to the disease. STEC have been isolated from cattle in Chile; however, little is known about the genomic diversity of these bacteria in Chile. Our aim was to characterize the genomic diversity of non-O157 STEC isolated from cattle from Chile, and to study their genetic relatedness. We sequenced the genomes of 30 STEC obtained from fecal bovine samples from Central and Southern Chile in 2016. Genomic diversity was characterized by determining genomic features such as sequence types (ST), serotype prediction, presence of virulence genes, antimicrobial resistance genes, and plasmids using tools available at the Center for Genomic Epidemiology from the Technical University of Denmark (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/>). Phylogenetic reconstruction was performed through a whole genome MLST (wgMLST) using the Ridom SeqSphere+ software, and a Neighbour-joining tree was crafted. Analyzed genomes (30) belonged to 16 ST and 17 serotypes. Serotypes most frequently detected were O116:H21 (n=4) and O168:H8 (n=4), and the serotype O26:H11 was also found (n=1). Likewise, ST58 (n=4) and ST718 (n=4) were the most frequently found. Shiga toxin gene *stx2* was identified in 90% of the genomes while *stx1* was less prevalent (26.7%). Virulence gene *eae* was present in 13.3% of isolates, and *exhA* was carried by 80% of isolates. Every genome carried plasmids, but only one carried antimicrobial resistance genes. Phylogenetic reconstruction showed 15 clusters. Seven clusters were formed by a single isolate, and those formed by more than one genome (9) grouped based on ST independently from the geographic area where they originated. We conclude that non-O157 STEC isolated in Chile displayed a wide diversity. Also, some of the isolate's virulence profile suggest that cattle raised in Chile could be a source of pathogenic STEC; therefore, measures should be taken to prevent their spread to humans.

FONDECYT 11150491



MI276

Development of a bioinformatic pipeline for accurate reconstruction of metagenomes from complex microbial consortia

Farkas Carlos Carlos¹, Danilo Pérez-Pantoja¹. ⁽¹⁾ Programa Institucional de Fomento a la I+D+i (PIDi), Universidad Tecnológica Metropolitana, Santiago de Chile, CL.

The utilization of microbial consortia derived by enrichment in complex mixtures of lignocellulose substrates has been gaining relevance for biotechnological initiatives focuses in lignin valorization. We aimed to unravel members and metabolic functions of complex microbial consortia derived from activated sludge of kraft-pulp mill effluents by enrichment in mixtures of ten lignin monomers as a carbon source. To reconstruct the genomes from such communities and effectively characterize them at the gene-level, we performed metagenome sequencing using an Illumina Miseq platform. Two different paired-end libraries composed of 2X100 bp and 2X150 bp long reads were obtained for each consortium. For an accurate assembly of analyzed metagenomes, we tested the efficiency of several assemblers (i.e. Megahit, IDBA-UD, SPAdes, MetaSPAdes, Ray-meta) with libraries merged or separated. The results were variable according to each metagenome, but in general terms the simultaneous utilization of both libraries was not translated in a much higher N50 statistic, revealing that fragmentation of assemblies is not always directly related with the amount of raw data. On the contrary, the size of each metagenome increases significantly with the sum of both libraries. We also tested several post-assembly tools for polishing of contigs and for lowering the fragmentation of metagenomes, whose efficiency was clearly dependent on the quality of raw data and input assemblies. Finally, we evaluated several phylogenetic assessment methods, revealing clear differences among the approaches used by each tool. We propose an effective pipeline for accurate metagenomic reconstruction and we discuss the incompatibilities of some existing tools for this kind of projects, in terms of computational resources, availability and current maintenance. In conclusion, we provide a reliable pipeline for accurate metagenome reconstruction based on existing genomic tools.

FONDECYT Grant N° 1161750 and CONICYT Research Ring N° ACT172128 from Chilean Government

MI277

Secuenciación de tercera generación, herramienta rápida y conveniente de potencial aplicación en vigilancia epidemiológica. Estudio de caso de un aislado clínico de tuberculosis de Manizales, Colombia

Sebastián Hernández-Botero¹, Olga Tovar-Aguirre⁴, Mónica Díaz-Sánchez², Narmer Galeano-Vanegas³, **Fernando Siller-López**⁴. ⁽¹⁾ Grupo de Resistencia Antibiótica de Manizales, Programa de Medicina, Universidad de Manizales, Manizales, CO. ⁽²⁾ Grupo de Microbiología y Micobacterias, Laboratorio de Salud Pública, Dirección Territorial de Salud de Caldas, Manizales, CO. ⁽³⁾ Grupo de Investigaciones Biológicas, Instituto de investigación en Microbiología y Biotecnología Agroindustrial, Universidad Católica de Manizales, Manizales, CO. ⁽⁴⁾ Grupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Programa de Bacteriología, Universidad Católica de Manizales, Manizales, CO.

La tuberculosis (TB) es una enfermedad de preocupación mundial por su alta morbi-mortalidad y presencia de cepas multi-drogo resistentes. La tecnología de secuenciación de tercera generación MinION Oxford Nanopore es una valiosa herramienta para el diagnóstico y manejo clínico de la TB. En el presente trabajo se ha propuesto la secuenciación completa del genoma como parte de un programa de vigilancia epidemiológica de TB que analice las características genéticas de los aislados clínicos circulantes en el Departamento de Caldas, Colombia. Se realizó la secuenciación de un aislado de *M. tuberculosis* proveniente de un cultivo de un paciente adulto VIH positivo, en situación de calle, con diagnóstico *de novo* de TB sin evidencia de enfermedad extrapulmonar e identificado por antibiograma como sensible a rifampicina e isoniacida. Se extrajo DNA de una colonia bacteriana crecida en medio Ogawa-Kudoh para la creación de librerías y posterior secuenciación genómica en el dispositivo MinION Oxford Nanopore. El tiempo de corrida de la secuenciación fue de 4 horas. Las lecturas resultantes fueron analizadas en la plataforma bioinformática PATRIC. El ensamblaje contra el genoma de referencia de TB H37Rv generó 33 contigs con un N50 de 189 kb y un cubrimiento de 25X para un tamaño total de ensamblaje de 4.14 Mb. El análisis del genoma completo del aislado de TB no identificó mutaciones asociadas a resistencia a rifampicina e isoniacida evidenciando concordancia con el ensayo fenotípico; sin embargo, identificó a los genes de bombas de eflujo de drogas Rv1747 y Rv1877 asociados a la resistencia de medicamentos de segunda línea, los cuales no se evalúan por antibiograma rutinario. El presente trabajo describe al primer paciente de TB secuenciado en la región del Eje Cafetero Colombiano, lo que brinda una promesa considerable en la lucha contra la epidemia de la región al aplicar esta rápida y conveniente herramienta genómica para el diagnóstico y manejo clínico de la TB. Se considera la realización de un mayor número de análisis genómicos de aislados de TB de la región y la presentación de resultados en un formato amigable para su aplicación expedita en la clínica.

Universidad Católica de Manizales. Manizales, Colombia

MI278

Análise retrospectiva da resistência antimicrobiana de cepas de *Serratia spp.* isoladas de pacientes com infecção hospitalar

Bezerra Rodrigo Ferreira¹, Lima Liliana Semionato¹, Andrade Mariléia Chaves¹.⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia, Faculdade de Medicina de Itajubá, Itajubá, BR.

Introdução: *Serratia* é um gênero de bactéria Gram negativa, anaeróbica facultativa que pertence à família *Enterobacteriaceae*. A família das enterobactérias possuem como *habitat* primário o intestino de animais vertebrados, incluindo o homem. As principais espécies patogênicas são: *S. marcescens*, *S. plymuthica*, *S. liquefaciens*, *S. rubidaea*, *S. odorifera* e *S. fonticola*. Segundo dados, tais espécies são causadoras de diversos quadros de infecção nosocomial, sendo a *S. marcescens* a principal envolvida. Portanto, frente a grande relação com infecções nosocomiais, faz-se necessário o estudo do perfil de resistência de cepas deste gênero. **Materiais e métodos:** Trata-se de um estudo realizado com 39 cepas de *Serratia spp* coletadas nos anos de 2001 a 2007 no Laboratório de Microbiologia de um Hospital Escola. As amostras foram reavivadas em Meio de Cultura Agar Nutriente e posteriormente incubadas em estufa microbiológica à 37°C por 48 horas. Após este procedimento, as amostras foram transferidas para solução salina estéril (NaCl 0,85%) ajustando-se a suspensão do inóculo até se obter uma turbidez correspondente a 0,5 da escala Mac Farland. Em seguida, as soluções foram novamente plaqueadas em Meio de Cultura Agar Nutriente e realizado o antibiograma. **Discussão dos resultados:** Observou-se que 30,77% das amostras apresentaram um perfil multirresistente, desenvolvendo resistência a 3 ou mais antibióticos. Interessantemente, 71,79% das amostras apresentaram resistência ao antibiótico Ceftazidima, representando o maior perfil de resistência do estudo. Em relação aos antibióticos Ciprofloxacina, Tetraciclina e Gentamicina, as amostras testadas não apresentaram perfil de resistência. Há de se destacar que, pacientes em extremos de idade, menor que 1 ano ou maior que 60 anos, foram os que apresentaram maior índice de cepas multirresistentes. **Conclusão:** Com este estudo conclui-se que bactérias do gênero *Serratia* apresentam elevada resistência aos diversos antimicrobianos, o que justifica o alto índice de infecção hospitalar por bactérias deste gênero, principalmente por *S. marcescens*.

Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG)

MI279

Aspectos epidemiológicos e microbiológicos de amostras multi-resistentes de *Corynebacterium* spp. isoladas de pacientes atendidos de unidade hospitalar localizada na região metropolitana do Rio de Janeiro

Cecilia Maria Ferreira Da Silva¹, Faria Yuri V¹, Cabral Fellipe O¹, Gusmão Letícia N M¹, Oliveira Guilherme G C¹, Mota Higor F¹, Olivella Julianna G¹, Cucinelli Andrezza E S¹, Sabrina Santos Colodette¹, Santoro Brunna Garcia¹, Santos Cíntia S¹, Raphael Hirata Junior¹, Cassius Souza¹, Ana Luiza Mattos-Guaraldi¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR.

O gênero *Corynebacterium* compreende aproximadamente 120 espécies, sendo a maioria delas saprófitas humanas, animais e de ambientes, incluindo o solo. Algumas espécies vêm emergindo como agentes etiológicos de surtos de infecções relacionadas à assistência em saúde. Surtos epidêmicos hospitalares foram relatados nos últimos anos, geralmente associados a doenças graves podendo evoluir a óbito. Neste contexto, nosso objetivo foi identificar monitorar e analisar aspectos microbiológicos das corinebactérias de importância clínica (CIC), isoladas em hospital universitário, localizado na região metropolitana do Rio de Janeiro, no período de Maio de 2012 a Maio 2018. Para tanto, foram utilizadas as análises morfo-tintoriais, fenotípicas, proteômicas por espectrometria de massa (Maldi-TOF) e monitoramento multifatorial das informações obtidas desde a coleta até a identificação final. Padrões de susceptibilidade a antimicrobianos foram determinados por disco-difusão. Para avaliar as características de multirresistência, foram adotados os critérios de interpretação do documento padronizador CLSI-M100. O índice de micro-organismos não identificados foi de 22%. Considerando os sete anos do período analisado, sessenta e sete (n=67) amostras clínicas isoladas e identificadas por Maldi-Tof como pertencentes ao gênero *Corynebacterium* foram estudadas. Encontraram-se os seguintes índices de isolamento: *Corynebacterium striatum* (49%), *C. amycolatum* (13%), *C. pseudodiphtheriticum* (4,48%), *C. aurimucosum*, *C. jeikeium*, *C. propinquum* (2,99%) e *C. diphtheriae* (1,49%). *C. striatum*, a espécie mais prevalente (n=33), foi também predominantemente caracterizada como multirresistente (MDR) (82%) e isolada principalmente a partir de aspirado traqueal (62%), sangue e/ou ponta de catéter (15%), oriunda de pacientes de CTI e setores hospitalares que realizam procedimentos emergenciais e/ou invasivos (65%). As amostras de *C. amycolatum*, o segundo agente mais isolado (n=24), também apresentaram multirresistência (31%) e foram recuperadas a partir de oronasofaringe (25%), sangue (20%) e urina (16%). As amostras de *C. pseudodiphtheriticum* foram isoladas a partir de oronasofaringe (89%) e sangue (2%). Não foram detectadas amostras de *C. pseudodiphtheriticum* multirresistentes. Concluindo, *C. striatum* e *C. amycolatum* foram as principais corinebactérias isoladas de materiais clínicos de infecções no Hospital Universitário da região metropolitana do Rio de Janeiro. *C. striatum* destacou-se como patógeno hospitalar emergente e portador de multirresistência aos antimicrobianos.

MI280

Resistência ao Telurito de Potássio como indicador de virulência nas cepas isoladas de hemoculturas de pacientes pediátricos

Fonseca Bianca Oliveira^{1,2}, Gonçalves Verônica Dias², Henriques Melissa Vianna², Souza Gabriela Alves², Bello Alexandre Ribeiro², Guaraldi Ana Luiza Mattos², Pereira José Augusto Adler². ⁽¹⁾ Hospital Federal da Lagoa, CCIH, Ministério da Saúde. ⁽²⁾ Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR.

As Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) são eventos adversos que constituem um grave problema mundial. As infecções da corrente sanguínea (ICS) são passíveis de prevenção e controle. A identificação dos microrganismos é de suma importância para o tratamento empírico das ICS. A sensibilidade na detecção microbiana em hemoculturas é variável de acordo com a metodologia empregada e pode ser afetada pelo uso de antimicrobianos. A literatura aponta a resistência ao Telurito de Potássio (TP), como fator de resistência bacteriana à morte intrafagocitária. Durante o período de agosto de 2015 a agosto de 2016 analisamos o resultado de 659 hemoculturas de 183 pacientes pediátricos de um Hospital Público da cidade do Rio de Janeiro, Brasil. Para a análise de hemoculturas positivas, com o objetivo de aumentar a acurácia na detecção de espécies bacterianas, foi acrescentado aos meios de cultura rotineiros, o meio Agar Chocolate contendo 112µg/ml de TP, com períodos de até 120h de incubação. A identificação e o teste de sensibilidade aos antimicrobianos das espécies bacterianas foram realizados pelo sistema automatizado Vitek 2. Realizamos também testes de sensibilidade ao TP (25 e 112µg/ml) nos meios Agar Muller Hinton e Agar Chocolate. O uso de meio contendo TP junto aos meios rotineiros não determinou isolamentos bacterianos adicionais. Obtivemos 16,1% (106/659) de hemoculturas positivas coletadas de 26,7% (49/183) dos pacientes, sendo que 39,6% (42/106) correspondentes de espécies de *Enterobacteriaceae*. Em 62,2% (66/106) das hemoculturas positivas isolamos cepas resistentes a 25µg/ml de TP de diversas espécies com diferentes perfis de sensibilidade aos antimicrobianos. Encontramos uma alta prevalência de cepas com resistência ao TP. Tem sido descrita a associação da resistência bacteriana ao TP com determinantes de resistência ao estresse oxidativo, importante mecanismo de patogenicidade bacterianas em ICS.

MI281

Are the anaerobic bacteria associated to the rectal cancer?

Gabriela Gama Freire Alberca¹, Viviane Rodrigues¹, Solis Rosa Liliana¹, Viviane Nakano¹, Adriana Safatle-Ribeiro², Ulysses Ribeiro², Mario Julio Avila-Campos¹. ⁽¹⁾ Microbiology, Institute of Biomedical Sciences, University of Sao Paulo, Sao Paulo, BR. ⁽²⁾ Gastrointestinal, Instituto do Cancer do Estado de Sao Paulo, Sao Paulo, BR.

Colorectal cancer is one of the most prevalent carcinoma worldwide. The intestinal anaerobic microbiota plays an important role to the intestinal homeostasis. In this study, a possible association between the presence of oral and intestinal anaerobic bacteria and rectal cancer was evaluated. Bacteria were isolated from 40 patients with rectal cancer and 20 healthy individuals. Samples of stool, blood, tumour tissue and its adjacent health tissue, and health tissue from healthy individuals, were collected. Patients and healthy individuals belonged to the Cancer Institute of the Sao Paulo State. Total DNA from stools was obtained using a QIAamp DNA Stool Mini kit; from blood using the QIAamp DNA Blood Mini kit, and from tissues using the phenol-chloroform protocol. Six oral bacteria (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Dialister pneumosintes*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, and *Porphyromonas gingivalis*) were quantitatively evaluated using species-specific primers by a Taqman system. Also, nine intestinal bacteria (*Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Clostridium Cluster I*, *Bacteroides fragilis* Group, *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp.; Phylum *Bacteroidetes* and Phylum *Firmicutes*) using a Sybr Green system were also evaluated. In stools from cancer patients, a low number of *D. pneumosintes* ($P = 0.032$) and a high number of *F. nucleatum* ($P = 0.018$), *E. coli* ($P < 0.001$), and Phylum *Bacteroidetes* ($P < 0.001$) was observed, when compared with health patients. In blood samples of all the participants, no statistical difference was observed for the bacterial presence. Tumour tissues harboured high values of *A. actinomycetemcomitans* ($P = 0.009$), *Cluster I* ($P < 0.001$), *E. coli* ($P < 0.001$), and Phylum *Firmicutes* ($P = 0.045$); and low values of *Lactobacillus* spp. ($P = 0.035$), when compared with adjacent health tissues. Tumour adjacent health tissues showed high values of *Cluster I* ($P = 0.002$) and low values of *Lactobacillus* spp. ($P = 0.043$), *E. coli* ($P < 0.001$), and Phylum *Bacteroidetes* ($P < 0.001$) when compared with health tissues from patients without cancer. In conclusion, quantitative differences of anaerobic bacteria in faecal and tissue microbiota were observed between cancer and healthy patients. Further studies are necessary to identify the microbial role in rectal cancer.

Acknowledgements Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)



MI282

Análisis de curvas de melting para el diagnóstico de tuberculosis multidrogo-resistente (TB-MDR) en muestras de esputo

Marco Galarza¹, Heinner Guio¹, Mitzy Rodriguez², Edith Castillo², Ada Reque², Omar Salazar². ⁽¹⁾ Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular, Dirección Ejecutiva de Enfermedades Transmisibles, Instituto Nacional de Salud-Lima-Perú, Lima, PE. ⁽²⁾ Laboratorio de Referencia Regional de Tuberculosis y Microbiología, Dirección de Laboratorio de Salud Pública, Dirección Regional de Salud-Callao-Perú, Lima, PE.

Introducción: Perú presenta una alta tasa de incidencia de casos de tuberculosis multidrogo-resistente (TB-MDR) en Latinoamérica. El diagnóstico microbiológico (método de referencia) se obtiene generalmente en meses mientras que los resultados de un PCR en tiempo real y posterior análisis de curvas de *melting* pueden obtenerse en solo horas, constituyendo una gran alternativa para el diagnóstico de TB-MDR. El objetivo del estudio fue analizar las curvas de melting para el diagnóstico de TB-MDR en muestras de esputo. **Métodos:** Un total de 250 muestras de esputo fueron colectadas según los siguientes resultados fenotípicos: 124 esputos sensibles a rifampicina (RIF) e isoniacida (INH), 24 monoresistentes a RIF, 33 monoresistentes a INH y 69 multidrogo-resistentes. Se extrajo el ADN con kit comercial (Invitrogen). El PCR en tiempo real se realizó utilizando kit comercial (Master Mix 1X HRM, Qiagen) bajo las condiciones de ciclaje del fabricante. Cada muestra se corrió por duplicado para los genes *rpoB*, *katG* y la región promotora *inhA*. Se usó ADN de la cepa H37Rv como referencia en los análisis. El análisis de HRM se realizó en el software del termociclador Rotogene Q (Qiagen). Se evaluaron los parámetros de sensibilidad y especificidad del análisis HRM en comparación con el método gold estándar agar proporciones en placa (APP). **Resultados:** Los análisis de curvas de *melting* comparados con el método de referencia mostraron una sensibilidad de 89,4 % y una especificidad de 90,4 % para la detección de TB-MDR en muestras de esputo. Estos valores son mayores al 90% cuando se analizan los parámetros de sensibilidad y especificidad por separado para cada gen. Los valores de sensibilidad y especificidad estuvieron dentro del rango del intervalo de confianza de 95%. Las muestras analizadas por duplicado dieron el mismo resultado para cada uno de los marcadores evaluados, indicando un 100% de reproducibilidad de los resultados. **Conclusión:** El análisis de curvas de melting mostró una adecuada sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de TB-MDR. Su uso podría ser una buena alternativa al diagnóstico microbiológico, con esto se reduciría el tiempo de exposición de pacientes a personas sanas y el oportuno inicio de tratamiento.

El presente estudio fue financiado por fondos propios del Instituto Nacional de Salud-Lima-Perú.

MI283

Antifungal potential and a possible mechanism of action for the ethyl acetate fraction of the *Punica granatum* hydroalcoholic extract leaves

Rocha, Flaviane Maria G.¹, Rocha, Carlos Henrique L.², Mendonça, Aline Michelle S.², Pereira, Eduardo Willian A.², Pires, Layna Kaanda S.², Pinheiro, Aruanã Joaquim M.C.R.³, Neto, Lídio G.L.^{6,4,5}, Monteiro, Cristina A.¹. ⁽¹⁾ Laboratório de microbiologia aplicada, CEUMA, Universidade do Ceuma, São Luís, BR. ⁽²⁾ Laboratório de microbiologia aplicada, CEUMA, Universidade Ceuma, São Luís, BR. ⁽³⁾ Doutorado em Biotecnologia pela rede BIONORTE, CEUMA, Universidade Ceuma, São Luís, BR. ⁽⁴⁾ Programa de Pós graduação em Biologia Parasitária, CEUMA, Universidade Ceuma, São Luís, BR. ⁽⁵⁾ Laboratório de Imunologia e Microbiologia das Infecções Respiratórias-LIMIR, CEUMA, Universidade Ceuma, São Luís, BR. ⁽⁶⁾ Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, BIONORTE, CEUMA, Universidade Ceuma, São Luís, BR.

Among different *Candida* spp., *Candida albicans* is the major cause of candidiasis. However other species has also increased significantly which includes *C. glabrata*, *C. tropicalis* and *C. parapsilosis*. The increased use of antifungal drugs has contributed to emerging resistance in these species. Development of more effective and less toxic drugs is a worldwide challenge *Punica granatum* has been employed in folk medicine and have been reported to have antimicrobial activity. The aim of the present study was to evaluate the associated action of the acetate fraction (AFPg) of the *P. granatum* hydroalcoholic leaf extract and fluconazole (FCZ) against *Candida* spp. For this, antifungal's AFPg activities were evaluated against reference strains and vaginal clinical isolates of *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* by microdilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC). Checkboard test was used to quantitatively evaluate the interaction between the AFPg and FCZ. The fractional inhibitory concentration (FIC) was determined and classified as synergism, antagonism or indifference. The interaction curve was made. The lysosomal and mitochondrial membrane integrity was assessed by flow cytometry, in order to verify a supposed mechanism of action of AFPg. The AFPg MIC ranged from 30 to 250 µg/mL for *C. albicans*, from 7 to 250 µg/mL for *C. glabrata* and has the value of 15 µg/mL for *C. krusei*. All FCZ-AFPg associated concentrations have shown synergistic action, with average CIFs range from 0.1 to 0.2. The interaction curve showed that AFPg in combination with FCZ increased the drug activity against *Candida* spp. in a very low concentration. FIC was also responsible for reducing the lysosomal integrity and causing a hyperpolarization of the mitochondrial membrane. Taken together the results showed that there was a synergistic action between FCZ and AFPg against *Candida* spp. The presence of AFPg was effective to the antifungal action and increase of FCZ activity, which occurred in concentrations lower than those of the respective MICs. In addition, it is likely that AFPg has action on the fungal membrane helping to destroy its integrity. The results reinforce the hypothesis that substances with synergistic actions are a promising alternative in treatment of fungal infections.

Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão - FAPEMA

MI284

Interacciones de patógenos respiratorios bacterianos en la nasofaringe de niños indígenas y mestizos ecuatorianos

Ismar Alejandra Rivera Olivero^{6,1}, Daniela Regalado^{2,1}, Leandro Tana^{2,1}, Miguel Angel García Bereguain^{3,2}, Daniel Garzón^{1,4,2}, Isabel Hernández^{5,1}, Enrique Terán^{2,1}, De Waard Jacobus H^{6,1}. ⁽¹⁾ Colegio de Ciencias de la Salud. COCSA, Universidad San Francisco de Quito, Quito, EC. ⁽²⁾ Instituto de Microbiología, Universidad San Francisco de Quito, Quito, EC. ⁽³⁾ School of Biological Sciences and Engineering, Yachay Tech, Quito, EC. ⁽⁴⁾ INSPI, Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública del Ecuador, Quito, EC. ⁽⁵⁾ Facultad de Enfermería, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, EC. ⁽⁶⁾ Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas, VE.

Introducción: La nasofaringe esta colonizada por gran variedad de microorganismos; comensales y patógenos. Aunque la colonización es asintomática, durante una alteración del equilibrio hospedero-patógeno, esta precede a la enfermedad. El objetivo de este estudio fue determinar la portación de patógenos respiratorios en niños indígenas de la provincia Imbabura y mestizos del Guayas examinando las interacciones entre las especies encontradas. **Métodos:** Se realizó un estudio entre Enero y Abril 2018 que incluyó la evaluación clínica y la toma de muestras de hisopados nasofaríngeos para la búsqueda de *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. aureus* en niños sanos de 3 meses a 10 años. Se utilizaron métodos microbiológicos estándar para el aislamiento de los microorganismos. **Resultados:** Ciento setenta y ocho (178) niños se incluyeron en el estudio, 100 indígenas de la etnia Kichwa y 78 mestizos, encontrándose un 33% (58/178) de portadores de *S. pneumoniae*, 19% (33/178) *M. catarrhalis*, 15% (27/178) *H. influenzae* y 14% (24/178) *S. aureus*. Existieron diferencias en la colonización de acuerdo a la población analizada. Guayas presentó un mayor porcentaje de portadores de *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis* y *S. aureus* con 42%, 23% y 22% versus 25%, 15% y 7% en Imbabura respectivamente. La mayor frecuencia de colonización por *H. influenzae* se observó en niños indígenas Kichwa con un 17% versus 13% en mestizos. La co-colonización *S. pneumoniae*-*H. influenzae* fue más frecuente en los niños indígenas con 44% y el binomio *S. pneumoniae*-*M. catarrhalis* más frecuente en los niños mestizos con 30%. El análisis univariante de la población en general mostro asociaciones positivas entre *S. pneumoniae*-*H. influenzae* Odd Ratios (OR) 4,56 (95% IC 1,93-10,77) y entre *S.pneumoniae*-*M.catarrhalis* OR 2,69 (95% IC 1,24- 5,83) y una asociación negativa *S. pneumoniae*-*S. aureus* OR 0,25 (95% IC 0,07-0,90). **Conclusiones:** La población infantil analizada tiene una alta frecuencia de colonización por los patógenos estudiados, especialmente *S. pneumoniae* en los niños mestizos. Las asociaciones positivas y negativas encontradas entre *S. pneumoniae* con *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. aureus* nos revelan las interacciones en este dinámico nicho cuya comprensión y estudio nos permitirá tener mayor conocimiento de las enfermedades producidas por estos patógenos y establecer mejores estrategias de control y prevención.

Financiamiento: Collaboration Grant 2018 de la USFQ (HUBI 11195) y una beca irrestricta de Pfizer Inc. (HUBI 5540).

MI285

Análise da incidência da febre amarela humana e sua cobertura vacinal de 2016 a 2018 no Brasil, na Região Sudeste e no Estado de SP

Magri Beatriz Trevisan¹, Maziero Beatriz Mantovan¹, Martins Fernando Mauricio¹, Cividanes Giovanna Reale¹, Gomes Cristiano De Freitas¹, Mendes Thaissa De Souza¹, Marinheiro Juliana Cristina¹, Gomes Camila Richieri¹. ⁽¹⁾ Ciências da Saúde, Medicina, Universidade Nove de Julho, Maua, BR.

Background: A febre amarela (FA) é causada por vírus RNA, gênero *Flavivirus*. Transmitida ao homem através da picada do mosquito vetor infectado, apresenta dois ciclos epidemiológicos de transmissão: silvestre (transmissão em área rural/floresta), pelos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes*, e urbano, pelo *Aedes aegypti*. A doença apresenta como sintomatologia: febre alta, vômitos e calafrios, e casos graves: hepatite, nefrite e hemorragias. Não existe tratamento específico para FA, portanto vacinação é a medida preventiva mais eficaz, e possui esquema recomendado pela Organização Mundial de Saúde de apenas uma dose. FA urbana não ocorre no Brasil desde 1942. **Methods:** Análise retrospectiva e quantitativa dos dados do DATASUS e Vigilância Epidemiológica - Ministério da Saúde (MS) - sobre incidência, número de óbitos e cobertura vacinal contra FA no Brasil, Região Sudeste e Estado de SP, de 2016 a 2018. **Results:** De 1º de julho/2017 a 30 de maio/2018 foram confirmados 1.266 casos humanos de FA - 415 óbitos no Brasil. 99,9% dos casos confirmados foram notificados no Sudeste (1.265/1.266), assim como os óbitos (414/415). Em SP foram 516 casos confirmados, 163 óbitos. De julho/2016 a junho/2017 foram confirmados 777 casos humanos e 261 óbitos no Brasil. A cobertura vacinal em 2016 no Brasil foi 44,59% (29,50%: Sudeste e 18,63%: SP), e em 2017 foi 44,32%: Brasil, 37,13%: Sudeste e 20,80%: SP. A cobertura vacinal de 2016/2017 no Sudeste continuou baixa, e conseqüentemente ocorreu surto epidêmico nesta região. Nas áreas de vacinação permanente houve apenas 1 caso confirmado da doença, 1 óbito. Esse surto foi silvestre, mas com a aproximação do vírus em áreas de grande densidade populacional, corremos risco de apresentar surto urbano. **Conclusion:** São necessários o monitoramento e o controle da FA constantemente atualizados. O aumento de casos de FA silvestre em diferentes regiões brasileiras e a alta densidade de infestação pelo *Aedes aegypti* favorecem a reurbanização desta doença. A epidemia de FA silvestre que atinge alguns estados brasileiros (como São Paulo) traz novamente à discussão a ampliação da área de vacinação recomendada e permanente. Além disso, o controle do *Aedes aegypti* é necessário para redução do risco de reurbanização desta doença.

Universidade Nove de Julho



MI286

Evaluación de la capacidad formadora de biofilm de aislados de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina asociados a infecciones en niños paraguayos

Federico Escobar¹, Fátima Rodríguez¹, Claudia Salinas¹, **Rosa Maria Guillen**¹. ⁽¹⁾ Central, Instituto de Investigaciones En Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asuncion, San Lorenzo, PY

Staphylococcus aureus es un patógeno capaz de causar infecciones de diversa gravedad. Su capacidad de adaptación incluye la resistencia a antibióticos como la meticilina, diversos factores de virulencia, así como la capacidad de formar biofilm y cronificar las infecciones o mantenerse en ambientes hospitalarios. Este estudio observacional descriptivo de corte transversal tuvo como objetivo determinar la frecuencia de formación de biofilm en 25 aislados SARM causantes de infecciones invasivas en población pediátrica provenientes de un biobanco de 704 aislados SARM colectados en los años 2010, 2012 y 2013. En método empleado para la detección de biofilm incluyó un ensayo *in vitro* en microplacas de fondo plano con tinción de cristal violeta. Los ensayos se realizaron en medio TSA estándar como condición A y con 1% de glucosa añadida como condición B. En la condición A se observó que el 12% de los aislados era formador de biofilm, mientras que el agregado de la glucosa en la condición B, indujo al 100% de los aislados a la formación de biofilm. Estos resultados ponen de manifiesto el efecto de las condiciones ambientales en la inducción de la formación de biofilm, así como que los genes necesarios para conferir el potencial para la formación de biofilm están presentes en todos los aislados SARM que causaron infecciones invasivas en niños incluidos en este estudio.

MI287

Impact of intestinal metabolite *p*-cresol on neuronal morphology, electrophysiological parameters and intestinal microbiota

Guzmán Sheyla^{5,2,1}, Cristina Dorador^{2,3}, Waldo Cerpa⁴, Pedro Zamorano⁵. ⁽¹⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB), Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽³⁾ Instituto Antofagasta y Departamento de Biotecnología, Facultad del Ciencias del Mar, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽⁴⁾ Laboratorio de Función y Patología Neuronal, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽⁵⁾ Laboratorio de Neurobiología, Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL.

Autism spectrum disorder (ASD) is the most prevalent neurodevelopmental disorders in recent years, affecting 1 in 68 children. Recently, changes in the intestinal microbiota has been linked to this condition, where ASD individuals have an altered intestinal microbiota showing an increase in *Clostridium* species. It is well known that some members of this genera produce *p*-cresol as a byproduct of the tyrosine metabolism, a finding that correlates with elevated urinary levels of *p*-cresol in children with ASD. ASD shows an abnormal dendritic development, which is reflected in alterations in behavior and sympathetic function, in addition to presenting an altered intestinal microbiota. We analyzed the effect of *p*-cresol on morpho-dendritic development in hippocampal neuron culture, electrophysiological parameters in hippocampal slices, social behavior and intestinal microbiota. The primary hippocampal neurons culture was used to determine the effect of *p*-cresol on morpho-dendritic development. The effect of *p*-cresol on synaptic function, in males rats treated with 30 mg/kg of *p*-cresol for 12 days was assessed by field evoked excitatory postsynaptic potentials (fEPSP) using input/output and paired pulse facilitation protocols. In addition, the social type behavior of the rats was evaluated with the three-chamber sociability test. Fecal samples were subjected to massive sequencing of the 16S rRNA ribosomal gene by Illumina platform to determine microbial community composition through the experiments. Our results showed that *p*-cresol at a concentration of 100 μ M has a significant effect on morpho-dendritic development hippocampal neurons at 7DIV (day *in vitro*), decreasing dendritic branching. Furthermore, *p*-cresol treatment for 12 days in male rats showed an alteration in the pre-synaptic machinery due to a decrease in synaptic facilitation. Preliminarily, *p*-cresol promotes the reduction of the Bacteroidetes/Firmicutes ratio after 12 days of treatment. The results show that *p*-cresol modulate the morpho-dendritic development and synaptic function. This finding suggests that *p*-cresol could contribute during central nervous system formation to the altered dendrite morphology observed ASD individual. Interestingly, the changes in synaptic function induced by *p*-cresol could explain the worsening of symptoms observed in some individuals with ASD.

CeBiB FB0001; FONDECYT 1140179, 1181773

Avaliação do crescimento de *Sporothrix schenckii* e *Sporothrix brasiliensis* frente a diferentes concentrações de ferro

Hellwig Alessandra Helena S¹, Oliveira Henrique T², Abreu Helenita K², Sousa Betina S A², Pezzi Eduarda H², Simone Merkel³, Ribeiro Amanda C², Tavares Priscila L¹, Daiane Heidrich¹, Zanette Régis A³, Maria Lúcia Scroferneker⁴.

⁽¹⁾ Laboratório de Fungos Patogênicos, Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽²⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽³⁾ Departamento de Farmacologia, Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR.

A esporotricose é uma micose subcutânea causada por fungos do gênero *Sporothrix* spp. O tratamento de escolha é o antifúngico itraconazol, mas há relatos de resistência ou recidiva ao tratamento. O elemento ferro vem chamando atenção quanto ao estudo sobre a virulência de fungos patogênicos, visto que durante o processo de infecção há a formação de um ambiente com disponibilidade de ferro livre, sendo propício para a sua replicação. Para avaliar a viabilidade de *Sporothrix* spp. quando exposto ao ferro, foram utilizados 10 isolados de *Sporothrix schenckii* e 10 isolados de *S. brasiliensis*. Todos os isolados utilizados foram previamente identificados por métodos moleculares. Conídios foram coletados de culturas com sete dias de crescimento em meio ágar batata dextrose e suspensos em solução salina 0,85%. Cada suspensão foi padronizada em câmara de Neubauer, ajustando-as na concentração de 10⁶ conídios/ml, e inoculadas no centro de placas de Petri contendo meio ágar batata dextrose acrescido das seguintes concentrações de ferro (FeCl₃): 0,0625%; 0,125%; 0,25%. Os isolados também foram inoculados em placas contendo meio ágar batata dextrose puro ou acrescido de 1 mM ácido ascórbico e 1 mM ferrozina para eliminar vestígios de ferro presentes no meio. As placas foram incubadas em triplicatas a 35 °C por 28 dias para se medir o diâmetro médio das colônias (em mm) e realizar a análise de variância seguido do teste post-hoc de Tukey no programa estatístico SPSS, com significância definida com p < 0,05. Foi verificado que concentrações altas de ferro são tóxicas a *Sporothrix* spp., como na concentração de 0,25% de FeCl₃, onde não houve crescimento dos isolados. Além disso, meio com ausência de ferro também propiciou um menor crescimento de *Sporothrix* spp. quando comparado aos meios de ágar batata dextrose puro e aos meios acrescidos de 0,0625% e 0,125% de FeCl₃. É possível concluir que a viabilidade de *Sporothrix schenckii* e *Sporothrix brasiliensis* é afetada pela disponibilidade de ferro, o que indica ser um elemento importante para sua atividade biológica. Outras formas de tratamento podem ser estudadas visando a redução do crescimento fúngico ao diminuir a disponibilidade de ferro livre durante o processo infeccioso.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

MI289

Células Caco-2 como modelo de interação com as toxinas termolábil (LT) e termoestável (T) produzidas por *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC)

Henrique Camila P¹, Pimenta Luciana A², Thaís Mitsunari³, Sampaio Sandra C⁴, Piazza Roxane M.F³. ⁽¹⁾ SP, Instituto Butantan, Instituto Butantan, Sao Paulo, BR. ⁽²⁾ Fisiopatologia, Instituto Butantan, Instituto Butantan, Sao Paulo, BR. ⁽³⁾ Bacteriologia, Instituto Butantan, Instituto Butantan, Sao Paulo, BR. ⁽⁴⁾ Fisiopatologia, Instituto Butantan, Instituto Butantan, Sao Paulo, BR.

Introdução: Diferentes metodologias já foram descritas para identificação e monitoramento das toxinas LT e ST produzidas por ETEC, incluindo ensaios *in vitro*. Células de adenocarcinoma de cólon humano (Caco-2) expressam aspectos semelhantes ao epitélio intestinal humano e são utilizadas em vários estudos. No entanto, para diferentes sistemas biológicos as condições *in vitro* devem ser estabelecidas. **Objetivo:** Verificar a eficiência da conjugação das toxinas LT e ST com FITC e padronizar o ensaio toxina-célula, bem como o teste de imunofluorescência em células Caco-2. **Métodos:** Para a conjugação com FITC, foi utilizada a concentração inicial de 50 µg/mL de cada uma das toxinas. As células Caco-2 foram cultivadas em meio DMEM contendo 4,5 g/mL de glicose e 10% de soro fetal bovino, e mantidas a 37°C, com 5% de CO₂ atmosférico. Para os ensaios de imunofluorescência, as células foram cultivadas nas concentrações de 1x10³, 3x10³, 1x10⁴, 3x10⁴ e 2x10⁵ em lâminulas de vidro estéreis de 13 mm de diâmetro em placas de 24 poços durante 18h. As células Caco-2 foram incubadas com 2,5 µg/mL de LT-FITC ou ST-FITC por 7h, e posteriormente fixadas com paraformaldeído 4%. Para a visualização de filamentos de actina e do núcleo, foram utilizados *Rhodamine phalloidin* e DAPI, nas diluições 1:200 e 1:500, respectivamente. A leitura das lâminas foi realizada em Microscópio de Varredura Laser - Confocal. **Resultados e Conclusão:** A concentração final obtida de LT-FITC e ST-FITC foi de 22µg/mL. A eficiência da marcação das toxinas foi confirmada por ensaio imunofluorescência com 2,5 µg/mL de cada uma das toxinas em células Caco-2, utilizando-se *Rhodamine phalloidin* e DAPI na diluição 1:500. Além disso, das cinco concentrações celulares analisadas, a de 3x10³ células/lâminula possibilitou uma perfeita visualização das toxinas marcadas com FITC, após 7h de interação celular. Como esperado, observou-se a associação da toxina ST somente à membrana celular, já a toxina LT, estava tanto associada à membrana celular, quanto ao núcleo, decorrente de seu transporte retrogrado. As condições padronizadas permitem a utilização destas toxinas conjugadas com FITC em estudos posteriores, como por exemplo de neutralização, da intoxicação causada pelas toxinas de ETEC em células Caco-2.

CAPES; FAPESP



MI290

An improved method for DNA extraction and intestinal microbiota amplification by qPCR of faecal samples with high fiber content

Huaiquipan Bustos Yaritzza I¹, Chandía Sánchez Geraldine T¹, Salgado Jofré Sebastián A¹, Rojas Bustamante José I¹, Fernandez Yañez Valentina P², Díaz-Vásquez Waldo A². ⁽¹⁾ Tecnología Médica, Facultad de Ciencias para la Salud, Universidad San Sebastián, Santiago, CL. ⁽²⁾ Nutrición y Dietética, Facultad de Ciencias para el Cuidado de la Salud, Universidad San Sebastián, Santiago, CL

Dietary fiber (DF) is not digestible by humans, however, it stimulates the growth of specific groups of microorganisms capable of metabolize it at the intestinal level, the so-called prebiotics. Some studies have revealed three predominant bacteria *phylum Firmicutes, Bacteroidetes and Actinobacteria*. The principal genus present in Human Intestinal Microbiota (IM): *Bifidobacterium, Lactobacillus, Bacteroides, Clostridium* and *Actinobacteria*. Changes in IM can be analyzed by molecular methods. One alternative is the use of qPCR as a quick and economic tool for estimating IM. In this sense, it is important to have a good DNA extraction method of high purity and concentration. It has been shown that DF directly interferes in the extraction of DNA, the decrease in performance, due to the interaction that occurs between phenolic compounds. In this study, we analyze stool samples collected from 4 healthy patients in triplicates having a diet with a high consumption of FD. An improved method for extracting DNA in human faecal samples with high fiber content is shown, perfecting the stages of mechanical disruption, enzymatic and chemical lysis, organic extraction, adhesion of DNA to silica columns and elution. The DNA isolation steps were compared with the PowerFecal[®] DNA kit (MoBio-K). The results showed that our methodology shows the substantive improvements in the stages of disruption, lysis and adhesion of DNA to the column, obtaining DNA with a high purity and excellent quantity. The purified DNA was amplified by qPCR with specific primers of MI analysis. Finally, the DNA obtained a superior quality for the use in classical molecular techniques and also for the methods of massive sequencing of the last generation.

FONDECYT 11170885

MI291

Comportamiento de un test inmunocromatográfico comercial para el diagnóstico de leptospirosis

Tamara Iglesias¹, Paulina Meny¹, Clara Menéndez¹, Natalia Ashfield¹, Jair Quintero¹, Felipe Schelotto¹, Gabriel Gustavo Varela Pensado¹. ⁽¹⁾ Bacteriology and Virology Department, Medicine Faculty, Universidad de la República, Institute of Hygiene, Montevideo, UY.

La leptospirosis es un problema de salud pública a nivel mundial. Se trata de una enfermedad zoonótica causada por cualquiera de los miembros patógenos del género *Leptospira* que afecta a la población humana tanto en ambientes urbanos como rurales. En Uruguay ocurren aproximadamente entre 500 y 1.000 casos por año (prevalencia estimada 15-20/100.000 habitantes), comprometiéndose sobre todo trabajadores rurales, jóvenes. Las manifestaciones clínicas son variadas y pueden confundirse con otras enfermedades como dengue, gripe, hepatitis, meningitis, etc. Es importante realizar el diagnóstico etiológico correcto al inicio de los síntomas para identificar y tratar adecuadamente casos graves y también para actuar correctamente en situaciones de brotes. Las técnicas bacteriológicas clásicas como cultivo y microaglutinación (MAT) brindan un diagnóstico seguro, pero retrospectivo. Requieren tiempo de ejecución y experiencia para interpretar los resultados, impidiendo ofrecer un diagnóstico rápido y temprano. Actualmente se han desarrollado tests comerciales inmunocromatográficos (IC) basados en reacciones Antígeno-Anticuerpo, que permiten la detección en forma rápida de anticuerpos IgM o IgG. El objetivo fue evaluar el comportamiento diagnóstico de un test IC comercial rápido que detecta IgM e IgG para *Leptospira interrogans*. Se estudiaron por el test 60 sueros de pacientes obtenidos en etapa temprana: 30 con infección aguda definida por el resultado de MAT (-/+ , 1era y 2da muestra, respectivamente) y 30 sin infección por MAT (-/-, 1era y 2da muestra, respectivamente). El test resultó altamente específico para la detección de IgM (97%) y aunque tuvo una baja sensibilidad global (47%), permitió anticipar el resultado de MAT en 23% de los sujetos con leptospirosis aguda confirmada. En ninguno de los sueros analizados se obtuvo resultado positivo para IgG. En suma, se trata de un procedimiento sencillo, rápido, útil para aplicar en el primer nivel de atención sanitaria. Es necesario analizar una segunda muestra (10-15 días) cuando el resultado de la primera es negativo. Debemos valorar la falla del test para la detección de IgG anti-*Leptospira*.

MI292

Diagnóstico rápido e independiente de cultivo de infecciones respiratorias mediante secuenciación con la tecnología Oxford Nanopore

Daniel Jaén-Luchoro^{1,2,3}, Francisco Salvà-Serra^{4,1,2,3}, Hedvig Engström-Jakobsson⁵, Susann Skovbjerg⁵, Tao Jin⁶, Nahid Karami⁵, Edward Moore^{1,2,3}. ⁽¹⁾ Department of Clinical Microbiology, Sahlgrenska University Hospital, Culture Collection University of Gothenburg (CCUG). ⁽²⁾ Centre for Antibiotic Resistance Research, University of Gothenburg. ⁽³⁾ Department of Infectious Diseases, Institute of Biomedicine (Sahlgrenska Academy), University of Gothenburg, Gothenburg, SE. ⁽⁴⁾ Department of Biology, Science Faculty, University of Balearic Islands. ⁽⁵⁾ Department of Clinical Microbiology, University of Gothenburg, Gothenburg, SE. ⁽⁶⁾ Department of Rheumatology, University of Gothenburg, Gothenburg, CL.

Las infecciones respiratorias afectan a millones de personas cada año y pueden estar causadas por diferentes agentes infecciosos (bacterias, virus, etc.), requiriendo tratamientos muy diferentes. En la actualidad, las cepas particularmente virulentas o multirresistentes se están extendiendo peligrosamente, causando infecciones de una complejidad superior. Por ello, es de vital importancia establecer un método rápido, eficiente y preciso para la correcta identificación del patógeno en cuestión que permita una rápida y eficiente elección del tratamiento a seguir. Con este objetivo, y a fin de implementar su uso en la rutina clínica, se está optimizando el secuenciador de tercera generación MinION (Oxford Nanopore Technologies), para su aplicación directa como método rápido diagnóstico en muestras clínicas, realizando una primera etapa de optimización mediante muestras simuladas. La extracción de ADN para la simulación de muestras complejas se realizó mediante el protocolo Marmur. La extracción de ADN de muestras clínicas se realizó mediante el kit *QIAamp DNA Microbiome* (QIAgen). Se prepararon librerías para la secuenciación utilizando el kit *Rapid Sequencing* y el *Rapid Barcoding* (Oxford Nanopore Technologies). Las librerías se secuenciaron en un MinION Mk101B utilizando Flow-Cells FLO-MIN107 vR9.5. Los datos resultantes se analizaron automáticamente con el protocolo “*What’s In My Pot?*” (WIMP) para la identificación directa de los microorganismos. El proyecto se encuentra en su fase inicial de optimización, utilizando para ello mezclas de ADN de especies bacterianas conocidas y en proporción determinada. Utilizando una proporción de 90% de ADN de *Escherichia coli* y un 10% de *Streptococcus pyogenes* permite la perfecta identificación de la especie minoritaria a través de WIMP, en este caso con alrededor del 20% de las lecturas obtenidas, mientras que cerca del 80% son identificadas como *E. coli*. El proceso de optimización continuará con ratios de hasta 99:1, simulando las bajas proporciones de ADN bacteriano en una muestra clínica. El secuenciador MinION es capaz de identificar mezclas de microorganismos en tiempo real. Se espera que la simplicidad de su uso, rapidez y los avances en la optimización del método permitan su implementación en los laboratorios de diagnóstico clínico.

FoU Laboratorimedecin 2018 Proyecto 6258, VGR ALF-LUA Proyecto 720761. JPIAMR Proyecto 2016-06504.

MI293

Cryptococcus spp. en escuelas ubicadas en la región centro oeste de Brasil

Dario Corrêa Junior¹, Leal Eder Siqueira², Brum Nathália De Moura², Tsujisaki Rosianne Assis De Sousa¹, Fragoso Mariana Rezende⁴, Espínola Camila Nogueira³, Chang Marilene Rodrigues⁴. ⁽¹⁾ Microbiología Clínica, Doenças Infecciosas e Parasitárias, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, BR. ⁽²⁾ Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição, Farmácia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, BR. ⁽³⁾ Microbiología Clínica, Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, BR. ⁽⁴⁾ Microbiología Clínica, UFMS, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, BR.

Introducción: Existe la preocupación mundial en monitorear las fuentes ambientales de *Cryptococcus* spp. causantes de infecciones en inmunocompetentes e inmunocomprometidos, pudiendo causar brotes. Estos hongos se encuentran en todo el mundo, en ambientes urbanos donde hay excreta de aves, principalmente de palomas (*Columba livia*) las cuales poseen creatina, ácido úrico, purinas y xantinas, fuentes de nitrógeno para su supervivencia y reproducción. La criptococosis es una enfermedad ocasionada principalmente por la inhalación de las esporas de estos hongos dispersos en el ambiente. A partir de los pulmones, a través del torrente sanguíneo, lo *Cryptococcus* spp. se disemina a otros sitios con especial tropismo por el sistema nervioso central. Los estudios de vigilancia son importantes para el entendimiento de fuentes de infección, diseminación y establecimiento de medidas de control. En la región Centro-Oeste de Brasil, poco se sabe sobre fuentes ambientales de estos patógenos. **Objetivo:** Estimar la incidencia de *Cryptococcus* spp. en excrementos de palomas presentes en escuelas municipales de Campo Grande-MS, Brasil. **Metodología:** Un total de 600 muestras de excrementos fueron recolectadas en 60 cuerdas deportivas con palomas. En total se analizaron 85 escuelas municipales ubicadas en el área urbana de Campo Grande-MS. Esta ciudad es la capital del estado con 874.210 habitantes y 117.671 en edad escolar de enseñanza fundamental. Las muestras fueron pesadas y preparadas en proporción de 1 g de muestra a 50 mL de solución salina 0,9% con clorofenicol. La muestra se agitó durante 5 minutos en vórtex y se dejó en reposo durante 30 minutos. A continuación, 0,1 mL de éste se sembró en placas de agar níger (NSA) con cloranfenicol. En seguida fueron incubadas por 72 horas, con lectura de crecimiento cada 24 horas. **Resultados:** Se observó gran ocurrencia de palomas en las escuelas municipales de la región urbana de Campo Grande-MS, donde *Cryptococcus* spp. se encontró en tres escuelas, con diez muestras positivas, demostrando que el ambiente escolar ofrece riesgo para la adquisición de infección criptocócica.

CAPES y UFMS.

MI294

Prevalencia de *Neisseria meningitidis* circulantes entre pobladores asintomáticos en edad escolar (3 a 21 años) en Asunción y Área Metropolitana, Paraguay. 2011 a 2013

Gustavo Chamorro², Ana Ibarz¹, **Anibal Kawabata**², Maria Leon², Veronica Orrego³, Minako Nagai³, Liliana Rojas³, Jean Gabastou⁴. ⁽¹⁾ OPS/OMS, Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud, Washington D.C., US ⁽²⁾ Sección Enfermedades Respiratorias y Meningeas, Bioquímico, Laboratorio Central de Salud Pública - Ministerio de Salud Pública, Asunción, Py ⁽³⁾ Departamento de Bacteriología y Micología, Bioquímica, Laboratorio Central de Salud Pública - Ministerio de Salud Pública, Asunción, CI ⁽⁴⁾ Paho Health Emergencies (Phe), Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud, Washington D.C., US

Introducción: En Paraguay la enfermedad meningocócica es relativamente inusual, con una incidencia de 0,1 a 0,2 por 100.000 habitantes. Los primeros años de la vigilancia epidemiológica (1996) existía predominio endémico del serogrupo B (90% de los casos). A partir del año 2008 se ha registrado un aumento de los serogrupos W135 e Y que representaban en su conjunto 50% del total en niños menores de 5 años. Una de las estrategias de prevención es el estudio de colonización nasofaríngea de *N. meningitidis*, importante para mejorar la comprensión de la epidemiología de la enfermedad meningocócica. **Objetivo:** Determinar la prevalencia de portación orofaríngea de *Neisseria meningitidis* en la población de edades comprendidas entre los 3 y 21 años en la ciudad de Asunción y Área Metropolitana. **Material y Método:** Fueron enrolados alumnos entre 3 y 21 años de 18 instituciones, muestreo realizado de 2011 a 2013, Capital y área Metropolitana del Paraguay. Se utilizaron métodos microbiológicos convencionales y técnicas moleculares para identificación. Se aplicaron asentimiento y/o consentimiento informado. Fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación del Laboratorio Central de Salud Pública y Pan American Health Organization's Ethics Review Committee's (PAHOERC). **Resultados:** Se incluyeron 2011 muestras. La prevalencia de portación nasofaríngea de *Neisseria meningitidis* fue del 2,09% (IC 95% 1,51 - 2,81), 26% fue genogrupo B (11/42), 9% W135, e Y (4/42) respectivamente y el 6% al genogrupo C (2/42). Se encontraron 10 complejos clonales, 6 están asociados a enfermedad invasiva (ST-32/ET5 complex, ST-11/ET37 complex, ST-103 complex, ST-167 complex, ST-35 complex y ST-41/44 complex/lineage 3). Otras especies de *Neisseria* fue de 16,61% entre ellas *N. cinerea* 1,94% (IC 95% 1,38 - 2,64), *N. lactamica* 2,19% (IC 95% 1,59 - 2,93). **Conclusión:** La prevalencia de *N. meningitidis* fue baja y no se detectaron asociaciones estadísticamente significativas entre grupo de edades, sexo y zona de procedencia del paciente. Los factores de riesgo evaluados no presentaron riesgos asociados a los casos. Estos datos aportan una valiosa información sobre las características genéticas y serológicas de las cepas de *N. meningitidis* en portadores sanos, para una mejor comprensión de la epidemiología de la enfermedad meningocócica.

Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud

MI295

Caracterização genotípica de *Escherichia coli* uropatogênica isoladas de pacientes com infecção no trato urinário, no sul do Brasil

Klein Anahí Lara¹, Vespero Eliana Carolina¹, Lopes-Dambrózio Angélica Marim¹, De Oliveira Wellington Danilo¹, Pelayo Jacinta Sanchez¹. ⁽¹⁾ Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, BR.

A infecção do trato urinário (ITU) é a segunda infecção mais frequente que acomete o ser humano, tanto na comunidade quanto em ambiente hospitalar, sendo *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC) o principal agente causador. É através dos fatores de virulência que cepas de UPEC conseguem ultrapassar barreiras e colonizar as vias urinárias do hospedeiro. Assim, este trabalho teve como objetivo pesquisar a prevalência dos principais fatores de virulência de UPEC em 176 amostras de pacientes ambulatoriais ou internados com infecção urinária do Hospital Universitário de Londrina-Pr (Brasil). As amostras foram obtidas entre maio de 2015 e maio de 2017. Pela técnica da PCR, foram pesquisados 12 genes (*sfa*, *vat*, *chuA*, *cnf*, *fyuA*, *iroN*, *iutA*, *iss*, *hlyA*, *fimH*, *papC* e *traT*) que codificam diversos fatores de virulência como adesinas, toxinas, hemolisinas, sistemas de aquisição de ferro e resistência sérica. Do total de amostras estudadas, 96,6% apresentaram pelo menos um dos genes pesquisados, sendo que os mais frequentes foram *fimH* (86,9%), *chuA* (64,2%), *traT* (63,0%), *fyuA* (53,4%), e *iutA* (51,1%), seguidos do *iroN* (21,6%), *papC* (17,0%), *iss* (14,2%), *vat* (13%), *cnf* (10,2%), *sfa* (7,9%) e *hlyA* (4,5%). Observou-se que 35,8% das amostras apresentaram mais de 4 genes e que 7,4% das cepas de UPEC apresentaram de 8 a 10 genes de virulência. Também foi verificado que dentre os genótipos testados a combinação *fimH*, *chuA*, *traT*, *fyuA* e *iutA* foi a mais frequente. Apenas 10% das amostras de UPEC não apresentaram nenhum dos genes relacionados à captação de ferro, um importante elemento para a sobrevivência da bactéria na urina. Esses resultados fornecem uma perspectiva sobre os diversos fatores de virulência relacionados à patogenicidade de *E. coli* em infecções no trato urinário.

CNPq

MI296

Extracellular DNA analysis from polymicrobial and monomicrobial oral biofilm formed by *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*

Lattar Santiago Martin¹, Schneider Rene Peter², Avila Campos Mario Julio¹. ⁽¹⁾ Microbiologia, Instituto de Ciencias Biomedicas (ICB), Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo, BR. ⁽²⁾ Departamento de Engenharia Química - PQI, Engenharia Química, Sao Paulo University, São Paulo, BR.

Introduction: Biofilms are polymicrobial communities that grow on surfaces in nature. The impact of these biofilms on public health is dramatic, as cells released from biofilms can migrate into the bloodstream and cause systemic infections. Biofilm is formed by a matrix constituted by many different macromolecules including extracellular DNA (eDNA). eDNA plays roles in addition to the carriage of genetic information, protection against antibiotics and also is essential in the biofilm biomass integrity. **Hypothesis:** eDNA from biofilm enhances mixed species biofilms of *S. aureus*, *C. albicans* and *S. mutans* during antibiotics resistance, gene recombination and bacterial adhesion. **Materials and methods:** Strains and growth conditions: *S. aureus* (ATCC 27853), *S. mutans* (ATCC 25175) and *C. albicans* (ATCC 10231) were grown on selective media with antibiotics. For biofilm study, we develop a flow tube biofilm (bioreactor), to avoid the accumulation of toxic substances but allow biofilm formation. A BHI low flow rate (0.25 ml/min) for 16 hours was applied; into bioreactor system with and without DNase I (2U/μl) and tetracycline 0.5 μg/ml was used in single and mixed biofilm for 16 hours. Biofilm biomass was evaluated by obtaining biofilm cell counts (CFU/ml) and eDNA was quantified by qPCR using primer pairs species-specific for each microorganism. **Results:** Biofilm biomass and eDNA concentrations of *S. aureus* were high in monomicrobial than polymicrobial biofilms ($p = 0.0382$ and $p = 0.0024$, respectively). Interestingly, biofilm and eDNA from *S. mutans* was greater in polymicrobial than monomicrobial ($p = 0.045$ and $p = 0.035$, respectively), and *C. albicans* did not suffer changes. Treatment with DNase I and tetracycline led to significant reduction of biofilm biomass and eDNA, in the three microbial species, respectively, as follows: *S. aureus* ($p = 0.003$ and $p=0.0002$); *S. mutans* ($p = 0.04$ and $p=0.0007$) and *C. albicans* ($p = 0.05$ and $p=0.001$). **Conclusions:** In polymicrobial biofilm without DNase and tetracycline, *C. albicans* not suffer changes, but it was observed that there is a favor to *S. mutans* and a damage *S. aureus*. Treatment with DNase and tetracycline dramatically reduced biofilm biomass and eDNA indicating that eDNA is essential during biofilm growth.

FAPESP Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

MI297

Produção de biofilme e ocorrência de pilus entre amostras de *Streptococcus agalactiae* obtidas de fontes humanas e animais no Brasil

Matheus Leal¹, Alvim Danielle Cristina SS¹, Ferreira Ana Flavia M¹, Botelho Ana Caroline N¹, Fracalanza Sergio EL¹, Teixeira Lucia M¹, Pinto Tatiana CA¹. (1) Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Streptococcus agalactiae pode compor a microbiota humana, além de ser considerado um importante agente de infecções em humanos e animais. Dentre seus fatores de virulência, os pili têm sido associadas com a capacidade de formação de biofilme nesta espécie. O objetivo deste estudo foi avaliar a distribuição dos genes que codificam as três variantes de pilus (PI-1, PI-2a e PI-2b) entre 125 amostras de *S. agalactiae* de origem humana (95 amostras de colonização do trato genitourinário, colonização de orofaringe, infecção urinária e infecção invasiva) e animal (30 amostras de mastite bovina e caprina) e correlacionar os resultados com a capacidade de produção de biofilme e o perfil de susceptibilidade à eritromicina. Todas as 125 amostras albergavam pelo menos uma das variantes de pilus. Entre as amostras animais, 77% possuíam o gene para PI-2b, sozinho (43%) ou em combinação com o gene para PI-1 (33%). Já entre as amostras humanas, 75% tinham o gene para PI-2a, sozinho (44%) ou em combinação com o gene para PI-1 (30%). PI-1 foi encontrado sozinho somente em amostras humanas (12%). Cerca de 60% das 125 amostras formaram biofilmes do tipo forte/moderado, sendo este perfil detectado em 61% e 70% das amostras humanas e animais, respectivamente. As amostras de infecções invasivas apresentaram-se como exceção às demais amostras de origem humana: 80% albergavam PI-1 sozinho (40%) ou em combinação com PI-2b (40%) e somente 40% produziam biofilme forte/moderado. Igualmente, um perfil excepcional foi comumente observado entre as amostras animais resistentes à eritromicina: 62% albergavam genes para PI-2a (em comparação com 9% das amostras sensíveis) e apenas 37% produziam biofilme forte/moderado (em comparação com 82% das amostras sensíveis). Os resultados indicam que a distribuição das variantes de pilus varia de acordo com a fonte clínica, sendo PI-2a associada a amostras de origem humana e PI-2b a amostras de origem animal, e que as amostras de *S. agalactiae* geralmente são formadoras de biofilme forte/moderado. Por outro lado, amostras que se apresentam como exceções a esses perfis geralmente produzem biofilmes fracos/ausentes, como foi observado entre amostras obtidas de infecções invasivas humanas e amostras de origem animal resistentes à eritromicina.

Capex, Faperj, CNPQ

MI298

Colonización nasofaríngea de *Streptococcus pneumoniae* en niños y adultos pre introducción de la vacuna conjugada 10-valente en Paraguay. 2012

Chamorro Adolfo Gustavo¹, León María Eugenia¹, Kawabata Aníbal Yasunari¹, Nagai Cristina Minako¹, Carvalho María Da Gloria², Fernanda Lessa². ⁽¹⁾ Bacteriología y Micología, Laboratorio Central de Salud Pública, Laboratorio Central de Salud Pública, Asunción, PY. ⁽²⁾ Streptococcus Laboratory, Centers for Disease Control and Prevention, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, US.

Introducción: La enfermedad neumocócica sigue siendo una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad en niños y adultos. Según Organización Mundial de la Salud, 1.6 millones de personas mueren cada año. De las cuales un millón corresponde a menores de cinco años. La colonización es una condición previa para la enfermedad neumocócica y es la única fuente de transmisión. La incorporación de la vacuna antineumocócica 10-valente (PCV10) que contiene los serotipos 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F y 23F reduce la incidencia de la enfermedad invasiva en niños y adultos. **Objetivos:** Determinar la frecuencia y distribución de serotipos de *S. pneumoniae* en portadores nasofaríngeos asintomáticos, niños de 2 a 59 meses y adultos mayores de 60 años previa al uso universal de la vacuna 10-valente en el Paraguay.

Materiales y métodos: Estudio descriptivo de corte transversal. La población de estudio comprende 1328 niños de 2 a 59 meses y adultos mayores de 60 años. Las muestras fueron recolectadas desde junio a diciembre de 2012, antes de la introducción de la vacuna PCV10 en Paraguay, en unidades de salud del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. La caracterización fue realizada por métodos microbiológicos convencionales. **Resultados:** La prevalencia global de colonización fue 37.1% (245/661) en niños. La mayor prevalencia de colonización en niños de 2-13 meses fue de 50% (68/137), 14-23 meses 32% (46/126), 24-35 meses 35% (51/135) y 36-59 meses 28% (80/263). La prevalencia global en adultos fue 3.6% (24/667) y según grupo de edades fue 3.9% en 60-69 años, 3.5% en 70-79 años y 2.9% en 80 y más años. Los serotipos predominantes fueron 6B (16.7%), 19F (12.6%), 23F (7.8%), 6A (7.1%), 14 (6.7%), y 15B (5.2%) que representaron el 56.1% de los aislamientos. **Conclusión:** La colonización en niños fue mayor que en adultos. En niños predominaron los serotipos 6B, 19F, 23F y 14 y en adultos 6B, 19F y 23F todos contenidos en la PCV10. La cobertura teórica de la PCV10 fue del 56.1%. Los datos sobre colonización nasofaríngea proporcionan información relevante sobre la carga potencial de las enfermedades neumocócicas y su prevención.

Laboratorio Central de Salud Pública y Centers for Disease Control and Prevention

MI299

Caracterización de *Campylobacter* spp. aislados a partir de heces de pacientes de Viña del Mar, Chile.

Arturo Levican¹, Isabel Briceño², Carmen Varela³, Lorena Porte³. ⁽¹⁾ Tecnología Médica, Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. ⁽²⁾ Laboratorio Clínico, Hospital Naval Almirante Nef, Viña del Mar, Viña del Mar, CL. ⁽³⁾ Laboratorio Clínico, Clínica Alemana, Santiago, Santiago, CL.

Campylobacter es uno de los principales agentes bacterianos de diarrea transmitida por alimentos, especialmente en países desarrollados donde se ha reportado un número creciente de casos. Se cree que su principal vía de transmisión es el consumo de carne de ave mal cocida. Además, se ha asociado con secuelas post infección como artritis reactiva y síndrome de Guillain-Barré. Sin embargo, *Campylobacter* ha sido subestimado como enteropatógeno en Chile y como ocurre en otros países Latinoamericanos, existe una falta información epidemiológica. Pese a esto, se estima una prevalencia en pacientes con diarrea de alrededor del 6% y se ha observado un aumento de aislados resistentes a antibióticos usados como tratamiento de elección, i.e. ciprofloxacino y eritromicina, por lo que no se recomienda su tratamiento empírico. En el presente estudio se analizaron 350 muestras de pacientes con diarrea atendidos en el Hospital Naval Almirante Neff, Viña del Mar, entre Octubre 2017 y Abril 2018, de los cuales 28 (8%) fueron positivas para *Campylobacter*, cuya mediana de edad fue 11,5 años (moda, 20 años; rango, 8 meses - 76 años). En el coprocultivo de estos pacientes *Campylobacter* fue el único enteropatógeno aislado, y la búsqueda de parásitos y virus también fue negativa. La identidad de los aislados se determinó mediante métodos fenotípicos, PCR especie específica y MALDI-TOF, identificándose 92,5 % como *Campylobacter jejuni* y 7,5% como *Campylobacter coli*. Todos los aislados presentaron al menos un gen asociado con virulencia, determinado mediante PCR y el 66,7% fue resistente a ciprofloxacino, 25,9% a tetraciclina, 3,5% a eritromicina y 0% a gentamicina. Se confirma *Campylobacter* como uno de los enteropatógenos más importantes en estos pacientes, con una epidemiología similar a la descrita en países desarrollados. Si bien la resistencia a la mayoría de los antibióticos está dentro del rango esperado, la resistencia a ciprofloxacino está muy por sobre lo reportado previamente en Chile en heces de pacientes, pero similar a lo que se ha observado en carne de aves. En este sentido, se requiere más estudios para determinar los factores que están determinando esta alta resistencia a quinolonas y las posibles medidas de control en nuestro país.

Proyectos DI Iniciación PUCV N° 039.455-2017 y N° 039.329-2018.

MI300

Perfil de genes de virulencia de cepas clínicas de *Helicobacter pylori* aislados desde pacientes con indicación de endoscopia digestiva alta en la región del Bio-Bio, Chile

Lincoñir-Campos Paulina A¹, Parra-Sepúlveda Crístian A, Apolinaria García-Cancino¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL.

Helicobacter pylori es un bacilo curvado Gram-negativo, microaerófilo capaz de colonizar con éxito la mucosa gástrica del 50% de la población mundial actual. Causa distintas patologías gástricas, dentro de las cuales se encuentran úlcera péptica, linfoma de MALT y participa en diversas etapas que conllevan al desarrollo de cáncer gástrico. Esta bacteria cuenta con un pool genético que le brinda las herramientas para colonizar y causar patologías. Dos importantes genes de virulencia son *cagA* y *vacA*. El primero codifica a la proteína CagA, la cual es transferida al interior de las células epiteliales a través de un sistema de secreción tipo IV, siendo esta proteína el principal causante de cáncer gástrico por *H. pylori*. El gen *vacA* codifica para una citotoxina vacuolizante, este gen contiene las regiones variables s y m, las cuales poseen variantes alélicas, siendo la combinación s1m1 la cual produce los más altos niveles de citotoxina. Un nuevo potencial gen de interés es *nudA*, describiéndose como responsable de la capacidad de *H. pylori* para interiorizarse a líneas celulares gástricas. El objetivo de este trabajo es determinar la presencia de genes de virulencia en aislados clínicos de *H. pylori* desde pacientes con indicación de endoscopia digestiva alta, mediante PCR. Para esto, se analizaron 18 cepas clínicas, detectándose los genes *cagA*, *vacAs1a*, *vacAs1b*, *vacAs2*, *vacAm1*, *vacAm2* y *nudA*. Del total de 18 cepas, el 61,1% resultó positivo para *cagA*, el 55,6; 44,4; 77,8; 50; 77,8 y 100 % resultaron ser positivas para *vacAs1a*, *vacAs1b*, *vacAs2*, *vacAm1*, *vacAm2* y *nudA*, respectivamente. En siete cepas (38,8%) se detectó el genotipo *cagAvacAs1m1*, dos cepas *cagAvacAs2m2* y *cagAvacAs1m2*, una cepa *cagAvacAs1* y seis cepas para *vacAs2m2*. Estudios anteriores realizados en la zona, detectaron un 7,6% de aislamientos con el perfil genético relacionado con cepas ulcerogénicas (*cagAvacAs1m1*). Los valores encontrados en este trabajo nos dan un indicio de la situación actual de los genotipos asociados a virulencia en las cepas de *H. pylori* circulantes en los pacientes de la Región del Biobío, detectando un alto porcentaje con riesgo de desarrollar enfermedad ulcerosa péptica en relación con estudios previos de la misma región.

MI301

Fatores predisponentes para desenvolvimento de infecções de corrente sanguínea em uma Unidade de Terapia Intensiva

Dias Vinícius Lopes¹, Gontijo Filho Paulo Pinto¹, Ribas Rosineide Marques¹, Sabino Sebastiana Silva¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia Molecular, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, BR.

Introdução: é definida como infecção toda infecção que acomete o paciente após o prazo de 48 horas de internação, onde estas infecções estão associadas a diversos fatores como: tempo de internação, idade, comorbidades, internação na UTI, realização de procedimentos invasivos e outros. Na UTI, aproximadamente 50% dos pacientes podem desenvolver algum tipo de infecção hospitalar, como infecção de corrente sanguínea, sendo esta caracterizada como bacteremia primária ou relacionada ao cateter vascular central e secundária. **Objetivo:** os objetivos deste estudo foram determinar os agentes etiológicos de primeiro episódio de sepse, avaliar o tempo de internação na UTI, a procedência destes pacientes e as co-morbidades apresentadas pelos pacientes acometidos. **Metodologia:** para a realização deste estudo, foi feito um estudo retrospectivo de dados do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia sobre pacientes internados na UTI entre janeiro de 2012 e dezembro de 2014. Este projeto está registrado no conselho de ética da Universidade em questão sob o número 87882318.2.0000.5152. **Resultados:** ao todo, foram registrados 248 casos de primeiro episódio de infecção de corrente sanguínea, onde *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* e *P. aeruginosa* foram os principais microrganismos identificados, onde a maioria (47%) dos pacientes acometidos por estas infecções eram originários da clínica cirúrgica, além de possuírem ao menos uma doença crônica, com um tempo médio de internação de 11-20 dias na unidade. **Conclusão:** conclui-se com este trabalho que a presença de doenças crônicas, associadas ao tempo de internação são fatores que predispõe o desenvolvimento de infecções hospitalares, necessitando estes de uma atenção maior do grupo de profissionais da unidade.

Agradecimento a CAPES pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento do estudo, bem como por possibilitar a apresentação do mesmo.

MI302

Synergic combination between n-butanol fraction from *Terminalia catappa* leaves and fluconazole alters mitochondrial and lysosomal membranes of *Cryptococcus gattii*

Rocha Carlos Henrique L., Rocha Flaviane Maria G¹, Pereira Eduardo Willian A¹, Mendonca Aline Michelle S¹, Silva Luis Claudio N², Monteiro Cristina A², Santos Julliana A. R³, Holanda Rodrigo A⁴. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia Aplicada, Universidade CEUMA, Sao Luis, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas e Parasitárias, Universidade CEUMA, Sao Luis, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Microbiologia Ambiental, Universidade CEUMA, Sao Luis, BR. ⁽⁴⁾ Laboratório de Biologia Molecular de Microorganismos Patogênicos, Universidade CEUMA, Sao Luis, BR.

Terminalia catappa is a large tree widely planted throughout the tropics. The phytochemical characterization of *T. catappa* leaves displayed a high content of flavonoids and tannins that could be related to the inhibition of some bacteria and fungi. We demonstrate that the synergic combination between n-butanolic fraction (FBUOH) from *T. catappa* leaves and fluconazole causes disturbances on mitochondrial and lysosomal membranes of *C. gattii*. All assays were performed using the reference strain ATCC 24065 *C. gattii*, gently donated by Dr. Santos from Federal University of Minas Gerais. To evaluate antifungal sensibility of *C. gattii* either to FBUOH or to fluconazole, the minimal inhibitory concentration (MIC) was determined. After that, the fractional inhibitory concentration (FIC) between FBUOH and fluconazole was determined. Inocula of 1×10^6 cells/mL were cultured in RPMI-1640 containing FBUOH and/or fluconazole at 37 °C for 12 h, and then the cells were harvested for staining with rhodamine 123 and acridine orange to detect disturbances on mitochondrial and lysosomal membranes, respectively. Stained cells were acquired on BD Accuri flow cytometer. One-hundred percent growth inhibition (MIC100) was observed at 3 mg/mL of FBUOH or at 16 µg/mL of fluconazole, while 50% inhibitory growth (MIC50) was observed at 8 µg/mL of fluconazole. Synergic combination between FBUOH and fluconazole (FIC equal to 0.3) was observed at 3 mg/mL and 16 µg/mL, respectively. A hyperpolarization of mitochondrial membrane and changes on lysosomal membrane of *C. gattii* were observed in the presence of FBUOH or when FBUOH was combined with fluconazole. The synergic combination of n-butanolic fraction from *T. catappa* leaves and fluconazole seems to be an interesting antimicrobial therapy against *Cryptococcus gattii* by acting on important organelles and structures related to the energy conservation, aerobic respiration and nutrient acquisition. *In vivo* studies are needed to evaluate the efficacy and toxicity of *T. catappa* on experimental cryptococcosis.

Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA).

MI303

Perfil de susceptibilidad de cepas aisladas de infecciones urinarias en la comunidad. Experiencia del Hospital Saint-Bois, Montevideo-Uruguay

Soledad Mateos¹, Virginia Pallante¹, Martín Porro¹, **Marina Macedo**². ⁽¹⁾ Laboratorio de Bacteriología, Hospital Saint-Bois. ASSE, Montevideo, UY ⁽²⁾ Unidad de Control de Infecciones, Ministerio de Salud Pública, Montevideo, UY

La vigilancia de las infecciones es fundamental para establecer tratamientos empíricos en una era de creciente aumento de la resistencia a antimicrobianos. Objetivo general: Describir la epidemiología de las infecciones urinarias en pacientes procedentes de un medio comunitario en Uruguay. Objetivos específicos: i) Describir la etiología de las bacteriurias en las muestras procesadas entre 01/12/2017 y 01/05/2018, ii) describir los perfiles de susceptibilidad de las Enterobacterias aisladas, iii) comparar los perfiles de susceptibilidad de *E.coli* respecto al periodo 2007-2008. Se analizaron retrospectivamente los urocultivos de pacientes no hospitalizados entre 01/12/2017-01/05/2018. Los microorganismos fueron identificados mediante técnicas convencionales. La susceptibilidad se estudió mediante disco-difusión según recomendaciones CLSI. Se procesaron 2690 muestras, de las cuales 1734 fueron urocultivos (64. 4%). De éstos, 424 desarrollaron Enterobacterias (24.4%): 81% *E. coli*, 14% *Klebsiella/Citrobacter/Enterobacter*, 5% *Proteus spp.* 50.2% de los aislamientos de *E. coli* fueron resistentes a alguno de los antibiótico testados. Tasas de resistencia: ampicilina 84%, cefuroxime 5%, ciprofloxacina 13%, trimetoprim-sulfametoxazol 27%, gentamicina 8%, nitrofurantoína 13%. Únicamente 3 cepas mostraron producción de BLEE; ninguna presentó perfil fenotípico de producción de carbapenemasa. 20% de los aislamientos presentaron multi-resistencia (resistencia a 3 o más familias de antibióticos). Con respecto a *E.coli*, *Klebsiella/Enterobacter/Citrobacter* presentaron mayor tasa de resistencia a cefalosporinas de 2ª y 3ª generación y *Proteus spp.* mostraron menor tasa de resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol. En comparación con el periodo 2007-2008, se observó un aumento estadísticamente significativo de resistencia a: ampicilina, cefuroxime, nitrofurantoína y gentamicina, mientras que hubo una disminución significativa en la resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol (36% vs. 27%; p 0,0038). Las tasas de resistencia a quinolonas se mantuvieron estables. Las tasas de resistencia en Enterobacterias causantes de infección urinaria en esta población son más bajas que las reportadas en otros medios. El hospital ha implementado políticas de restricción de quinolonas en la comunidad y ha eliminado el uso de trimetoprim-sulfametoxazol en infecciones urinarias, lo cual puede explicar en parte la estabilidad de resistencia a las primeras y la disminución de resistencia al segundo en los últimos 10 años. El conocimiento de los perfiles de resistencia en la comunidad redundará en un uso racional de antimicrobianos.

MI304

Usando pesquisa de prevalência pontual para definir o alto uso de antimicrobianos entre 35 Unidades de Terapia Intensiva de adultos no Brasil

Iolanda Alves Braga¹, Luiz Gustavo Machado², Paola Amaral De Campos³, Deivid William Da Fonseca Batistão¹, Paulo Pinto Gontijo-Filho³, Rosineide Marques Ribas³. ⁽¹⁾ Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, BR. ⁽²⁾ Instituto de Ciências Biomédicas, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, Universidade Federal de Uberlândia. ⁽³⁾ Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, BR.

As informações sobre o uso de antimicrobianos são escassas e pouco compreendidas em unidades de terapia intensiva de adultos (UTIs-A), em países de baixa e média renda, como o Brasil. Neste estudo, descrevemos o uso de antimicrobianos em 35 UTIs-A, utilizando pesquisa de prevalência pontual realizada em 2016. A avaliação do uso de antimicrobianos foi realizada por enfermeiros treinados nos 28 hospitais do Brasil classificados como universitários ou não universitários. Protocolos padronizados quanto ao consumo de antimicrobianos foram utilizados no levantamento dos dados. No total foram contabilizados 459 leitos de UTIs-A dos quais 81,5% estavam ocupados. Dos 374 pacientes, 232 (62,0%) receberam pelo menos um antimicrobiano, com frequências mais elevadas entre os hospitais classificados como não-universitários (66,4%) e com ≤ 200 leitos (65,3%). A prescrição geral de antibióticos terapêuticos direcionados foi baixa, 64/204 (31,4%), ao contrário do uso empírico de medicamentos (68,6%), particularmente nos hospitais não universitários (79,7%), com ≤ 200 leitos (87,3%). No total, 107 combinações diferentes de antibióticos foram registradas neste estudo, a maioria no hospital universitário (62,5%). 204/374 pacientes (54,5%) foram considerados infectados, com 83,3% e 78,8%, respectivamente, adquiridos no hospital e na UTI, sem grandes diferenças entre os hospitais. Cerca de 1/5 (40,0%) dos pacientes infectados apresentou diagnóstico microbiológico, que foi observado com maior frequência entre os hospitais universitários (61,8%). Somente 26,6% dos hospitais não universitários apresentaram diagnóstico microbiológico. A pesquisa identificou o uso preocupante de antibiótico de amplo espectro, principalmente cefalosporinas de amplo espectro (ficou em primeiro lugar com 94/342; 27,5%), carbapenêmicos (segundo lugar, 82/342; 24,0%) e glicopeptídeos (terceiro lugar, 65/342; 19,0%). Cerca de 25/232 (10,8%) dos adultos em antibioticoterapia receberam profilaxia médica ou cirúrgica, sendo que as cefalosporinas de espectro restrito (18/25; 72,0%) foram os agentes antimicrobianos mais frequentemente prescritos. O estudo de prevalência pontual multi-hospitalar forneceu dados alarmantes sobre o uso de antibióticos em UTIs-A no Brasil, principalmente relacionado ao uso empírico desses medicamentos, identificando necessidade urgente de introduzir programas direcionados de vigilância e prevenção mais efetivos em todo o país.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

MI305

Evaluation of antimicrobial resistance of ESBL- producing *Klebsiella* spp. causing bloodstream infections in Northeast of Brazil

Machado Ana Clara Rabelo N.¹, Barreto Wellerson Lucas De Pinho¹, Dos Santos Raylane Meneses M.¹, Do Nascimento Cynthia Karolina Rodrigues¹, Reis Filho Jadiel Silva¹, Martins Victor B. Dantas ¹, Franco Maria Syndel Caroline Ribeiro¹, Alves Nathanael Dos Santos¹, Santos Khelvin Myner Da Costa¹, Silva Carla Thália Santos¹, Rios Neto Miguel Araújo¹, Rios Vaneska Magalhães¹, Corá Luiza Franco², Sousa Jacqueline Batista², Paim Kennio Ferreira³, Fonseca Fernanda Machado¹. ⁽¹⁾ Department of Biomedicine, Campus Ministro Reis Velloso, Federal University of Piauí, Parnaíba, BR. ⁽²⁾ Institute of Biological and Natural Sciences, UFTM, Triangulo Mineiro Federal University, Uberaba, MG, BR. ⁽³⁾ Department of Infectious and Parasitic Diseases, UFTM, Triangulo Mineiro Federal University, Uberaba, MG, BR.

A significant increase of bloodstream infections caused by extended-spectrum- β -lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in the community have been described. ESBLs are defined as plasmid mediated enzymes produced by some bacterial species and that can hydrolyze most beta-lactam antibiotics. In Brazil, the progressive prevalence of ESBL-producing enterobacteria, mainly *Klebsiella pneumoniae*, reaches alarming rates of detection and continues to expand in South America. From the databases of a private laboratory, we evaluated the antimicrobial susceptibility of ESBL-producing enterobacteria isolated from blood cultures of patients during four years in the city of Parnaíba, PI, Brazil. An increase in antimicrobial resistance has been detected in drugs that are commonly used as a treatment for bloodstream infections. A total of 115 blood cultures were included. Enterobacteriaceae were positive in 89 (77.4%) cases being *Klebsiella* spp. the most prevalent species detected in 52 (45.2%) blood cultures, followed by *E. coli* detected in 15 (13%) cases. *Staphylococcus* spp. was observed in 14 (12.2%) samples and in 34 (29.8%) blood culture, other species were isolated as the etiological agent. ESBL production was demonstrated in 22 (24.7%) of 89 isolates of Enterobacteriaceae. Of these, 19 (86.4%) were *Klebsiella* spp. two (9.1%) were *Enterobacter* spp. and one (4.5%) was *Serratia* spp. In the present study, the resistance rate to ceftriaxone of ESBL-producing enterobacteria was high (90.9%), while the resistance of non-ESBL-producing bacteria was present in 36.6% of the cases. To sulfonamides (sulfamethoxazole/trimethoprim), 86.4% (n = 19) of the isolates were resistant. In conclusion, ESBL production was demonstrated in 22 (24.7%) of 89 isolates of Enterobacteriaceae. Additionally, a high susceptibility to carbapenems and quinolones (ciprofloxacin) was observed. However, a high proportion of the isolates showed resistance of beta lactamics, monobactams, cephalosporins, and sulfonamides.

UFPI, FAPEPI.

MI306

Agentes etiológicos de neumonía necrosante en pediatría: caracterización clínica y microbiológica de pacientes atendidos en un hospital pediátrico de cuarto nivel, en Bogotá Colombia, entre 2010 y 2017

Maria Paula Guerrero Gonzalez², German Camacho Moreno^{1,2}, **Kelly Christina Marquez Herrera**². ⁽¹⁾ Pediatría, Medicina, Fundación Hospital Misericordia, Bogotá, CL. ⁽²⁾ Pediatría, Medicina, Universidad Nacional De Colombia, Bogotá, CO.

Objetivo: La necrosis pulmonar es una complicación rara de la neumonía, existen pocos datos respecto a su incidencia en pediatría. El presente estudio busca analizar las variables clínicas, paraclínicas y microbiológicas de pacientes pediátricos con neumonía necrosante. **Metodología:** Estudio observacional descriptivo ambispectivo realizado en un hospital pediátrico de cuarto nivel de complejidad de Bogotá, Colombia. La fase retrospectiva incluyó la revisión de la historia clínica de pacientes entre 1 mes y 18 años de edad atendidos entre Enero 2010 y Junio 2015 con diagnósticos CIE-10 relacionados con neumonía, derrame pleural, empiema, necrosis. La fase prospectiva consistió en la búsqueda activa de pacientes con neumatoceles en radiografía (Rx) y tomografía (TAC) de tórax y/o fístulas broncopleurales por clínica, entre Junio 2015 y Diciembre 2017. **Resultados:** Se obtuvo un total de 53 pacientes (36 grupo retrospectivo, 17 grupo prospectivo), con promedio de edad 2.4 años (54% entre 2 y 5 años), el 42% de los pacientes no tenían vacunación contra neumococo. 66% de los pacientes presentaron leucocitosis mayor de 15.000 y 60% trombocitosis mayor de 450.000, la lactato deshidrogenasa (LDH) en líquido pleural fue >2500 UI/L en 55% de los pacientes en quienes se determinó (n=18). Los hallazgos radiológicos más frecuentes en Rx y TAC de tórax fueron consolidación (83% y 100%), derrame (66% y 52%) y en TAC neumatocele (87% vs 24%). Se obtuvo hemocultivos positivos en 18/53 pacientes (34%) y cultivo de líquido pleural positivo en 13/40 pacientes (32%), identificándose el agente causal en 23 pacientes (43%). El microorganismo más frecuente fue *Streptococcus pneumoniae* (n=12, 52%), seguido por *S. aureus* (n=7, 30%), *Pseudomonas aeruginosa* (n=2, 8.7%), *E. coli* (n=1, 4%) y *Aspergillus flavus* (n=1, 4%). Se tipificaron 6 de los *S. pneumoniae* aislados: un serotipo 1, dos serotipo 14, un serotipo 6A y dos serotipo 3. **Conclusiones:** La neumonía necrosante es una complicación que debe sospecharse en niños menores de 5 años, con esquema de vacunación incompleto para neumococo, con evolución tórpida, leucocitosis y trombocitosis, LDH en líquido pleural aumentada y neumatoceles en imágenes. El *Streptococcus pneumoniae* fue el agente etiológico predominante en esta serie, seguido por *S. aureus*.

MI307

Acute infection induced by enteroaggregative *Escherichia coli* in intestinal cells treated with beta-carotene

Prata Mara De Moura G¹, **Melo Natalia Kelly Fernandes**², Medeiros Pedro Henrique Quintela S², Da Silva Antonio Vinicios Alves¹, Cavalcante Paloma Araujo², Quetz Josiane Da Silva¹, Lima Ila Fernandes Nunes¹, Alexandre Havt¹, Lima Aldo Angelo Moreira². ⁽¹⁾ Pharmacology, Faculty of Medicine, University Federal of Ceará, Fortaleza, BR. ⁽²⁾ Pathology and Legal Medicine, Faculty of Medicine, University Federal of Ceará, Fortaleza, BR.

Introduction: Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) is one of the most prevalent enteric pathogen and it is associated with gut inflammation and growth impairment in children from developing countries. During catabolic stresses induced by enteric infection, specific nutrients can enhance recovery of immunological and physiological functions. Beta-carotene is a nutrient found in fruits and vegetables and it is a precursor for vitamin A synthesis, which is an essential regulator for cell growth and differentiation. This study aimed to evaluate the effects of beta-carotene supplementation on intestinal epithelial cells proliferation, control of cell death (caspases 3, 8 and 9) and inflammatory response (IL-8) after infection injury caused by EAEC. **Methods and Results:** Intestinal epithelial cells (IEC-6) were seeded in plates at 2.5×10^4 cell/well. After 24 hours, IEC-6 were infected with EAEC 042 strain or EAEC LDI001 wild-type strain (isolated from a malnourished child), and incubated for 3 hours and washed with PBS, following the treatment with beta-carotene was evaluated cell proliferation and death. For mRNA analysis (caspases and IL-8), cells were seeded in well plates and the same infection protocol, followed by RNA extraction, cDNA synthesis and RT-qPCR. IL-8 expression was performed by an enzyme-linked immunosorbent assay. Multiplex-PCR was used for the identification specific virulence genes of EAEC strains. Statistical analysis was performed with ANOVA and Bonferroni tests. The results showed that EAEC strains infection induced a decreased the proliferation and an increased on cell apoptotic. Treatment with beta-carotene was able to stimulate cell proliferation after EAEC infection only at 24 hours of treatment ($P < 0.05$). The reduced apoptosis by beta-carotene was observed only at 24 hours compared to EAEC LDI001 infected group ($P < 0.05$). The results showed that IL-8, caspases-8 and -9 transcription levels are increased early (at 12h) in EAEC infected cells after beta-carotene supplementation. However, IL-8 expression is reduced at 24 h in infected cells, which received beta-carotene treatment. EAEC strains originated from diarrhea and malnutrition outcomes revealed different virulence profiles. **Conclusion:** Beta-carotene mechanism was not fully elucidated, but the potential protection likely depends on the time of treatment of EAEC infection.

INCT-IBISAB/CNPq

MI308

***Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC-2 hipervirulenta e hiper mucoviscosa no Brasil**

Araújo Bruna Fuga¹, Campos Paola Amaral¹, Sabrina Royer¹, Ferreira Melina Lorraine¹, Gonçalves Lara Rossi¹, Luiz Gustavo Machado¹, **Gabriel Nogueira Melo**¹, Nilton Lincopan², Fernandes Miriam Rodriguez², Cerdeira Louise Teixeira², Batistão Deivid William³, Brito Cristiane Silveira¹, Gontijo-Filho Paulo Pinto¹, Ribas Rosineide Marques¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia Molecular, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, BR. ⁽²⁾ Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, BR. ⁽³⁾ Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, BR.

Infecções por *Klebsiella pneumoniae* hipervirulentas (hvKP) e hiper mucoviscosas (hmKP) ocorrem em todo o mundo, mas cepas hvKP e hmKP resistentes a carbapenêmicos tem sido raramente observadas. Neste estudo, avaliamos a presença de genes de resistência (*blaKPC*, *blaTEM*, *blaSHV* e *blaCTX-M*) pela técnica de PCR em 33 cepas de *K. pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos recuperadas de diferentes espécimes clínicos em hospitais do Brasil. A frequência de genes de virulência foi avaliada em 10 cepas de *K. pneumoniae* produtoras de KPC-2, selecionadas para serem analisadas por sequenciamento genômico completo através da plataforma Illumina. A capacidade de formação de biofilme foi avaliada por técnicas fenotípicas. A ocorrência de vários genes de virulência (*fimABCDEFGHIK*, 100%; *mrkABCFHJ*, 100%; *mrkE*, 90%; *ecpA*, 100%; *wabG*, 100%; *entB*, 100%; *ugE*, 90%; *irp1* e *irp2*, 50%; *traT*, 60%; *iutA*, 100%; *ureAD*, 100%; *ureEG*, 90%) e alta frequência de isolados hvhmKPC-KP foram relatados. A maioria das linhagens hospitalares de KPC-KP (91%) pertenceram ao grupo clonal internacional 258 (ST11, ST437 e ST340). A formação de biofilme foi uma característica constante entre 91% das cepas de KPC-KP. Este estudo sugere relação entre cepas pertencentes ao ST437 e fraca produção de biofilme, uma vez que todas as cepas fracas produtoras de biofilme pertenciam a este tipo de sequência. Em conclusão, nosso estudo descreveu a importante associação de KPC-2, formação de biofilme e fatores de virulência em *K. pneumoniae* ST11, um clone internacional de alto risco, além da detecção de infecções causadas por cepas hvhmKPC-KP. A vigilância sistêmica deve se concentrar na disseminação desse clone virulento, resistente a múltiplos fármacos e produtor de biofilme, a fim de proporcionar vantagens em relação a essa ameaça global à saúde pública e futuros desafios relacionados.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

MI309

Impacto do método de cultura Ogawa – Kudoh no diagnóstico de micobactérias não causadoras de tuberculose em Rondônia

Couto Camila A.⁷, Dantas Liziane R.², Araujo Anderson S.⁶, Felipe Jenifer Luana A.⁶, Orfão Nathalia H.^{1,5}, Moura Maria Manuela F.⁸, Oliveira Maria Do Socorro C.⁴, Mendes De Lima Cleoni A.³. ⁽¹⁾ Enfermagem, Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, BR. ⁽²⁾ Medicina, Mestrado em Biologia Experimental, Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, BR. ⁽³⁾ Biologia Médica, Laboratório Central de Saúde Pública, LACEN/Rondônia, Porto Velho. ⁽⁴⁾ Biologia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, Porto Velho, BR. ⁽⁵⁾ Enfermagem, Universidade Federal de Rondônia, Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, CL. ⁽⁶⁾ Medicina, Mestrado Biologia Experimental, Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, BR. ⁽⁷⁾ Biologia, Centro de Ensino São Lucas, Porto Velho, BR. ⁽⁸⁾ Biologia, Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, BR.

Introdução: As Micobactérias não causadoras da tuberculose (MNT) têm emergido como microrganismos importantes associados as infecções respiratórias e outras doenças oportunistas, com mais de 180 espécies e relatos de aproximadamente um terço delas com enfermidades em humanos. São usualmente saprófitas, embora algumas espécies possam apresentar características oportunistas e até mesmo letais. Este estudo teve como objetivo verificar o desempenho do meio de cultura Ogawa-Kudoh no diagnóstico das MNT no estado de Rondônia-Brasil. **Metodologia:** Trata-se de um estudo documental, retrospectivo, realizado com os arquivos/registros de cultura para Micobactérias do Laboratório Central de Saúde Pública de Porto Velho-Rondônia-Brasil, no que concerne ao diagnóstico de MNT e tuberculose (TB) pelo método Ogawa-Kudoh, no período de 2008 a 2015, por meio do levantamento das variáveis: baciloscopia (BK) (-), BK (1 a 9 bacilos), BK+, BK++, BK+++ e isolados identificados, os quais foram analisados por estatística descritiva. **Resultados:** Foram analisados 7.274 testes de cultura de Micobactérias pelo método Ogawa Kudoh, provenientes da demanda do Estado de Rondônia. Dessas, 1.140 (15,67%) eram positivas, sendo 950 (83,33%) positivas para TB e 190 (16,66%) para MNT, as quais 55,3% eram baciloskopias negativas, 7,9% apresentaram de 1 a 9 bacilos, 17,3% BK+, 14,2% BK++ e 5,3% BK+++. As espécies predominantes de MNT identificadas em Rondônia nesse período foram: *M. abscessus* (33,8%), *M. fortuitum* (18,5%) e *M. avium* (17%). E as demais, 30,7% distribuídas entre as espécies *M. gordonae*, *M. porcium*, *M. parafinicum*, *M. boucherdurhonense*, *M. simiae*, *M. intracellulare*, *M. holsaticum*, *M. szulgai*, *M. asiaticum*, *M. tusciae*, *M. gilvum* e *M. colombiense*. **Conclusão:** Foi observado que o maior percentual das culturas positivas para MNT teve baciloscopia negativa, e à medida que o índice baciloscópico aumentava, o isolamento de MNT diminuía corroborando com dados da literatura na importância da realização da cultura para casos de sintomáticos respiratórios no diagnóstico de micobacterioses, e que a metodologia Ogawa Kudoh auxilia nessa atividade, pois otimiza a etapa de descontaminação que existe no processo do Meio Lowenstein Jensen (LJ), e pode ser utilizado na rotina de laboratórios com poucos recursos.



MI310

Detección de *Chlamydomphila pneumoniae* en pacientes pediátricos hospitalizados con neumonía adquirida en la comunidad

Jocelin Merida¹, Agustín De Colsa², Deborah Palacios², Chiharu Murata³, Alejandra Aquino¹. ⁽¹⁾ Microbiología Molecular, Instituto Nacional de Pediatría, Mexico, MX ⁽²⁾ Infectología Pediátrica, Instituto Nacional de Pediatría, México, MX ⁽³⁾ Metodología de la Investigación, Instituto Nacional de Pediatría, México, CL.

Objetivo. Identificar a *C. pneumoniae* en pacientes pediátricos hospitalizados con diagnóstico de neumonía adquirida en la comunidad (NAC) **Material y métodos.** Se estandarizó una técnica de PCR en tiempo real mediante la realización de curvas estándar utilizando plásmidos recombinantes de los genes *pst* y *arg*. Para determinar el límite de detección se realizaron diluciones seriadas de cada gen (10^7 -1 moléculas de DNA/uL). Se colectaron 154 hisopados nasofaríngeos de pacientes pediátricos hospitalizados con diagnóstico de NAC en un periodo de 16 meses (noviembre 2015-marzo 2017). Se realizó la amplificación por triplicado de los genes *pst* y *arg*, el gen *RNasaP* humano se utilizó como control interno de amplificación. Se colectaron los datos clínicos, demográficos y radiológicos de los pacientes. **Resultados.** El límite de detección del método fue de 100 moléculas de DNA/uL para los genes *pst* y *arg*. Se detectó a *C. pneumoniae* en 25 muestras respiratorias (16.2%). Se obtuvo la amplificación de los dos blancos genómicos en 12 muestras (7.8%), el gen *pst* se detectó en tres muestras (1.9%) y el gen *arg* fue positivo en 10 muestras (6.5%). El 84% de los pacientes con *C. pneumoniae* tenían alguna patología de base, 60% de los casos se presentó en niños menores de seis años y el 64% de los pacientes eran del género masculino. El 48% de los casos ocurrieron en primavera. La fiebre y la tos fueron los síntomas más frecuentes. El 76% presentó datos de dificultad respiratoria donde la retracción intercostal fue la principal manifestación (68%). El 32% requirió ingreso a unidad de cuidados intensivos pediátricos (UCIP) y ventilación mecánica. El 24% tuvo alguna complicación. En el 17.4% se presentó leucocitosis. El 32% de los pacientes tuvieron radiografía con consolidación. **Conclusiones:** *C. pneumoniae* fue detectado en el 16% de los pacientes pediátricos hospitalizados con diagnóstico de NAC. No se encontró asociación entre la presentación clínica y la infección por *C. pneumoniae*.

Este proyecto recibió apoyo del Instituto Científico Pfizer y de Fondos de Presupuesto Federal para Investigación (2015) del Instituto Nacional de Pediatría.



MI311

Evaluation of MAT as a predictor of the infecting serogroup of *Leptospira spp.* with single serum sample

Blanco Roberta M¹, Bertani Amanda M. J.¹, Lima Elaine S¹, Romero Eliete C¹. ⁽¹⁾ Bacteriology, Adolfo Lutz Institute, São Paulo, BR.

Leptospirosis is a zoonotic disease of great importance in public health and it is caused by a pathogenic spirochete of the genus *Leptospira spp.* Knowledge of prevalent serovars and their maintenance hosts are essential to understanding the epidemiology of disease and prevention. The microscopic agglutination test (MAT) is the gold standard for serodiagnosis and can predict the probable infecting serogroups. A fourfold or greater rise in titer between paired sera samples is required to confirm leptospirosis. The probable serogroup is considered the titer which was the highest sample dilution with 50% of agglutination and unknown when the highest titer were the same with two or more serogroups. Since it is difficult to obtain paired serum samples, the aim of this study was to evaluate the ability of MAT to predict the probable infecting serogroup using just one serum sample. A total of 814 cases of leptospirosis confirmed by MAT, with paired serum samples, obtained between 2000 and 2016 was analysed. In 39 cases (4.79%) it was not possible to define the probable serogroup, and they were considered unknown and in 775 cases (95.20%) the serogroup was defined. Of these 775 cases, there was an agreement between the first and second sample in 486 cases (62.62%) i.e, the same serogroup in both samples. Of these 486 cases, 340 cases (69.95%) showed titer ≥ 800 (30.04%) and 146 (30.04%) showed titer <800 , in the first samples. Discordant results, i.e., when the results of serogroup were not the same in the first and second samples, were obtained in 289 cases (37.24%) with 143 cases (49.48%) with titer ≥ 800 (30.04%) and 146 (50.51%) with titer <800 , in the first samples. The serogroup *icterohaemorrhagiae* was the most prevalent among the serogroups with the highest concordance between the results. The least frequent serogroup was Tarassovi, and the most discordant serogroups were Djasiman and Pyrogenes. MAT is a test capable of predicting the serogroup in one serum sample with titers ≥ 800 , but in samples with titers <800 , it is recommended a second serum sample.

MI312

Tipificación de aislamientos de *Listeria monocytogenes* de origen humano, bovino, ambiental y alimentario en Uruguay, 2010-2017

Maria Ines Mota¹, Valeria Braga¹, Victoria Vico¹, Sylvia Vazquez², Carolina Matto³, Lorena Pardo¹, Felipe Schelotto¹, Gustavo Varela¹. ⁽¹⁾ Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Universidad de la Republica, Montevideo, UY. ⁽²⁾ Laboratorio de Bromatología, Intendencia de Montevideo, Montevideo, UY. ⁽³⁾ División de Laboratorios Veterinarios “Miguel C Rubino”, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Paysandú, UY.

Listeria monocytogenes (LM) es una bacteria ubicua en la naturaleza reconocida como un importante patógeno de transmisión alimentaria. LM es un patógeno oportunista que ocasiona enfermedad severa (letalidad 20-30%) en grupos de riesgo. La listeriosis humana puede presentarse como casos esporádicos o en forma de brotes. Con el aumento del consumo de alimentos listos para consumo, LM ha surgido como un importante problema para la salud pública y la industria alimentaria. El objetivo de este trabajo fue caracterizar y comparar los aislamientos de LM de diferentes orígenes obtenidos en el período 2010-2017. Se estudiaron 307 aislamientos: 250 de origen alimentario, 43 de origen humano y 14 de bovinos/pasturas. Se realizó identificación por pruebas bioquímicas y PCR para *inlA*, determinación de serogrupos definidos por PCR de acuerdo a Doumith, aglutinación para *Listeria* 1 y 4; 90 aislamientos fueron caracterizados por electroforesis de campo pulsado (PFGE) con enzima *Ascl* y analizados con software Bionumerics. En todos los casos se confirmó la identificación de especie LM por pruebas bioquímicas y por detección del gen *inlA*. La distribución de serotipos fue la siguiente: serotipo 4b 48,9%, serotipo 1/2b 38,4%, serotipo 1/2a 8,9%, serotipo 1/2c 3,9%; 2 aislamientos fueron no tipificables por PCR. Los aislamientos caracterizados por PFGE presentaron 44 pulsotipos, de los cuales 13 correspondieron a *clusters* de dos o más aislamientos. Un *cluster* correspondió a un brote de listeriosis neonatal; para el resto de los *clusters* no hubo vínculo epidemiológico demostrado de los casos clínicos entre sí, ni de los casos con aislamientos de alimentos. Los serotipos más prevalentes (4b y 1/2b) coinciden con los reportados en otros trabajos de la región; a diferencia de lo que ocurre fundamentalmente en el hemisferio norte, en nuestro país el serotipo 1/2a es poco frecuente. Si bien en el mundo se describen numerosos brotes de listeriosis de origen alimentario, en nuestro país no se ha reportado ninguno; sin embargo en 2016 ocurrió un aumento en el número de casos sin poder establecer nexo epidemiológico entre ellos. En cambio sí se pudo demostrar la ocurrencia de un brote de listeriosis neonatal.

Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC), Universidad de la República.

MI313

Interação e sobrevivência intracelular de *Corynebacterium ulcerans* em macrófagos humanos de linhagem U-937

Pontes Allan Motta Leal¹, Liliane Simpson-Lourêdo², Dryelle Rodrigues³, Silva Cecília Maria Ferreira³, Souza Mônica Cristina⁴, De Castro Maria Eurydice Canellas³, Villas Boas Maria Helena Simões², Raphael Hirata Júnior³, Ana Luiza Mattos - Guaraldi³. ⁽¹⁾ Departamento de Biomedicina, Faculdade de Biomedicina, Instituto Brasileiro de Medicina e Reabilitação, Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Instituto Nacional de Controle e Qualidade em Saúde (INCQS), Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, BR. ⁽³⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade de Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR.

Infecções zoonóticas por *Corynebacterium ulcerans* vêm crescendo em número e gravidade, podendo levar a quadros fatais de difteria, especialmente em adultos com imunização completa ou parcial e que relatam contato direto com animais de estimação (cães e gatos). O número de casos de difteria por *C. ulcerans* na Europa e no Brasil, além de outros países, vem aumentando. Além da toxina diftérica (TD), outros fatores de virulência têm sido investigados, uma vez que os mecanismos envolvidos na patogenicidade de *C. ulcerans* ainda não estão completamente esclarecidos. Nesse sentido, foi avaliada a capacidade de interação com macrófagos humanos e de sobrevivência intracelular e a correlação com a produção de exotoxinas fosfolipase D (PLD) e TD de sete amostras de *C. ulcerans*, incluindo a mutante ELHA-1 de gene *pld* interrompido e 201932 TD+. Monocamadas de macrófagos humanos U-937 foram infectadas com suspensões bacterianas (10⁸ UFC/mL-1) e incubadas a 37°C/3h. Foram realizadas as contagens de bactérias viáveis no sobrenadante e associadas aos tapetes celulares. A viabilidade intracelular foi avaliada pelo método de exclusão pela gentamicina. Percentuais de aderência e viabilidade intracelular de *C. ulcerans* foram calculados a partir das relações entre os números de bactérias associadas e/ou internalizadas com as contagens de bactérias viáveis no sobrenadante adicionado ao número de células viáveis associadas às monocamadas de células U-937. As amostras de *C. ulcerans* foram capazes de interagir e de sobreviver no interior de macrófagos em intensidades variadas, segundo a análise pelo teste T de Student. A amostra BR-AD61 exibiu menor capacidade de interação com os macrófagos quando comparada com a amostra selvagem BR-AD22 e a mutante ELHA-1 (P<0,05). A amostra BR-AD41 exibiu maior capacidade de sobrevivência intracitoplasmática. A amostra selvagem BR-AD22 apresentou percentual de sobrevivência intracelular semelhante à amostra mutante ELHA-1. Deste modo, todas as amostras de *C. ulcerans* expressaram mecanismos de interação e sobrevivência no interior de macrófagos humanos independente da produção de PLD e TD.

CNPq, CAPES, FAPERJ, SR-2/UERJ, UERJ.

MI314

Distribución de grupos filogenéticos, factores de virulencia y resistencia antimicrobiana en cepas de *Escherichia coli* uropatógena (UPEC), aislados de pacientes con ITU ambulatoria, Hospital Santa Bárbara, Sucre, Bolivia, 2017

Escoja Luis Fernando¹, Ulloa María Teresa², Danixa Tapia², Valentina Hurtado², Camila Sanhueza², Gonzalo Osorio², Rosario Navia¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología, Hospital Santa Bárbara, Sucre, BO. ⁽²⁾ Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Las cepas de *E.coli* son genéticamente diversas, de manera que actualmente, las diferencias entre aislados patógenos y comensales se fundamentan en sus antecedentes genéticos. Las cepas comensales pertenecientes a los filotipos A y B1 son consideradas de baja virulencia, mientras que la mayoría de las cepas patógenas extraintestinales, como *E. coli* uropatógenas (UPEC), pertenecen al filotipo B2 y poseen más factores de virulencia. En Bolivia, no se han descrito las bases genéticas que sustentan el potencial patogénico, ni los grupos filogenéticos de UPEC, tampoco las bases de la resistencia de las cepas productoras de BLEE. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es determinar el grupo filogenético, factores de virulencia y resistencia antimicrobiana en 111 cepas de UPEC, aisladas en pacientes con infección del tracto urinario (ITU) ambulatoria, Hospital Santa Bárbara, Sucre, Bolivia, 2017. A las cepas se les determinó el filotipo mediante PCR cuádruplex, genes de virulencia mediante dos PCRs multiplex *kpsMTII*, *feoB*, *papA*, *iutA*, *fimH*, *hlyA* 1 y *sat* y estudio de susceptibilidad a 17 antimicrobianos mediante difusión en agar. A las cepas BLEE positiva se les realizó PCR para *bla*CTX-M. Las cepas UPEC presentaron los siguientes grupos filogenéticos: B2 (37,8%), E (27,0%) C y B1: 17,1% y 9,9% respectivamente. Respecto de la prevalencia de los genes de virulencia, las cepas presentaron: *fimH* y *feoB* 100%, *iutA* 98%, *kpsMTII* 86%, *sat* 79%, *papA* 46% y *hlyA* 15%. Se destaca la resistencia antimicrobiana a: sulfatrimetoprim 70,2%; ciprofloxacina 47%; gentamicina 27,6%; cefaxolina 28,4%; cefotaxima 26,1%, fosfomicina 2,2%. El 89% de las cepas BLEE (31) presentó *bla*CTXM-15. Nuestros resultados evidencian que respecto al filotipo, las cepas UPEC bolivianas, son más heterogéneas que lo descrito en la literatura, aunque el filotipo B2 es el más frecuente, también se observó una alta prevalencia de los otros filotipos. La mayoría de las cepas presentan 5 de 7 factores de virulencia, sin predominio de un virotipo. Cabe destacar el elevado % de cepas BLEE positivas, las cuales muestran una asociación de resistencia a ciprofloxacina, aminoglicósidos, fármacos que se usan cuando existe fracaso de tratamiento empírico inicial a betalactámicos en pacientes con infección urinaria.

MI315

Plaque lesion type chromoblastomycosis caused by *Fonsecaea monophora*: Case report.

Maria Lúcia Scroferneker¹, Rodrigo Vettorato², Daiane Heidrich², Pagani Danielle M³, Ribeiro Amanda C¹, Gerson Vettorato⁴, Amaro Taís G⁴. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. ⁽²⁾ Laboratório de Fungos Patogênicos, Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Fungos Patogênicos, Microbiologia Ambiental e Agrícola, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽⁴⁾ Laboratório de Micologia, Santa Casa de Misericórdia, Porto Alegre, BR.

A case report of chromoblastomycosis in a 65-years-old man had slow and progressive desenvolver lesion on arm during five years. On physical examination, erythematous plaque, formed by the coalescence of multiple papules, with well defined borders and discreet surface scaling. In dermatoscopy, there was erythema with vascular polymorphism, and multiple bright white lines, acquired orthogonal arrangement in some regions, delimiting areas with the presence of red-orange points. Initial hypotheses were cutaneous non-melanoma skin cancer, cutaneous lymphoma or sarcoidosis or atypical mycobacteriosis. For diagnostic, an incisional biopsy with punch 4mm was realized. The stains hematoxilina and eosin, Zhiel Neelsen and Groccot were performed. Mycological cultural examination in Mycosel medium was requested after fungal evidence. For species identification, the sequencing of *Internal Transcribed Spacer* (ITS) of rDNA using primers ITS 1 and 4 was performed. The minimal inhibitory concentrations (MICs) and minimum fungicidal concentrations (MFCs) of amphotericin B, itraconazole, ketoconazole, voriconazole, posaconazole and terbinafine were evaluating according to the protocol M38-A2 of the Clinical and Laboratory Standards Institute, using the microdilution technique. Anatomopathology showed pseudoepitheliomatous epithelial hyperplasia, granulomas in the superficial dermis with prominent peripheral lympho-histiocytic infiltrate and sclerotic cells, indicating chromoblastomycosis. Ziehl Neelsen was negative and Grocott was positive. In culture, colony of *Fonsecaea* spp. was developed and the species, *F. monophora*, was identified by ITS sequencing. The MICs obtained of antifungals were ($\mu\text{g/mL}$): posaconazole (≤ 0.03); ketoconazole and terbinafine (0.06); itraconazole and voriconazole (0.125); amphotericin B (>16.0). The MFC of terbinafine was $0.5 \mu\text{g/mL}$ and for all the others, the MFC were $\geq 4.0 \mu\text{g/mL}$. Excepting amphotericin B, the isolate had lower MICs for all other antifungals, including itraconazole. Itraconazole 400mg/day was prescribed for the patient, which is being accompanied by the medical staff and showed improvement of the lesion during six months of treatment. Chromoblastomycosis was not among the initial hypotheses of diagnosis, since the atypical lesion (plaque type) of this case. The pathology requested was determinant for the diagnosis of the disease. In addition, this report shows that *F. monophora* has been taking place in the diagnosis in the country with the highest prevalence of *Fonsecaea pedrosoi*.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).



MI316

Enfermedad de Heck, patología endémica en el sureste Maya de México

Maria Del Refugio Gonzalez¹, Jesús Gómez Carballo¹, Cesar Centeno¹, Guadalupe Ayora Talavera¹, Laura Conde Ferrández¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigaciones Regionales, Laboratorio de virología, Universidad Autónoma de Yucatán.

La hiperplasia epitelial multifocal o Enfermedad de Heck, es una patología benigna de la mucosa oral que se caracteriza por papulas y nódulos indoloros, del mismo color de la mucosa oral, que se presenta principalmente en lengua, carrillos y labios. Es una patología de la primera década de la vida que se presenta por igual en varones y niñas, se considera una patología familiar debido a que el 50% de los afectados tienen un familiar con las mismas lesiones. El virus de papiloma humano genotipos 13 y 32 son los responsables de la patología. En la zona rural del estado de Yucatán, situado al sureste de México es endémica, y se desconocen las variables que están involucradas en la presencia de la patología en estas poblaciones. El objetivo del presente trabajo es determinar si la lactancia materna exclusiva por 3 meses, y el estado nutricional está asociado a la patología. Se realizó un estudio de casos y controles que incluyó 34 casos y 110 controles, el rango de edad era de 3 a 13 años. Todos los casos eran positivos al genotipo 13 del virus de papiloma humano. El estado nutricional se evaluó con el peso, la talla, circunferencia media de brazo y pliegue tricipital y subescapular. La información sobre de la lactancia se obtuvo por medio de una entrevista a las madres. El 69% de los casos y 56% de los controles tuvieron lactancia materna exclusiva $p=0.289$ IC 95% (0.224-1.39). El 51% y 72% de los casos y controles respectivamente tenían peso adecuado para su edad y talla; la desnutrición, sobrepeso y obesidad estuvo presente en el 6%, 26% y 9% de los casos y 4%, 7% y 6% de los controles. No se encontró asociación estadística entre la desnutrición $p= 0.633$ IC 95% (0.14-10.50), y obesidad $p=0.206$ IC 95% (0.73-4.75) y la presencia de la Enfermedad de Heck. La lactancia materna y el estado nutricional no son factores asociados a la presencia de la hiperplasia epitelial multifocal epitelial en una comunidad Maya del sureste de México.

Universidad Autónoma de Yucatán

MI317

Avaliação do perfil de sensibilidade das quinolonas em amostras isoladas de pacientes com infecção do trato urinário em Aracaju-SE

Silva Kayane Barbosa², Stefane Santos², Caldas Joanny Karolliny Motta², Souza Mayzan Wislla Santos¹, Santos Jacksiele De Jesus Candido Do¹, Daniela Droppa-Almeida⁵, Almeida Patricia De Oliveira Santos³, Souza Isana Carla Leal⁴, Gaspar Livia Maria Do Amorim Costa⁵, Oliveira Isamar Dantas⁶. ⁽¹⁾ Ciências Biomédicas, Biomédico, Universidade Tiradentes, Aracaju-SE, BR. ⁽²⁾ Ciências Biomédicas, Graduando, Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, BR. ⁽³⁾ Agricultura e Biodiversidade, Mestre, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, SE, BR. ⁽⁴⁾ Saúde e Ambiente, Mestre, Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, BR. ⁽⁵⁾ Biotecnologia Industrial, Doutora, Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, BR. ⁽⁶⁾ Ciências da Saúde, Mestre, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, SE, BR.

Introdução: As Infecções do Trato Urinário (ITU) é uma das principais razões do uso de terapias com antibióticos, além disso, estão entre as mais frequentes causas da procura por atendimento laboratorial e médico, principalmente pelas mulheres, já que estas são mais susceptíveis a adquirir ITU devido sua uretra ser menor e os microrganismos atravessarem com maior facilidade que nos homens. Essas infecções são especialmente causadas pela *Escherichia coli* uropatogênica, seguida de outros microrganismos como, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp. e *Proteus mirabilis*. As Quinolonas e Fluorquinolonas são agentes antimicrobianos recentes e utilizados particularmente no tratamento de infecções bacterianas do trato urinário. Sendo assim, considerando a relevância do tema, tem-se como objetivo Avaliar o Perfil de sensibilidade das Quinolonas em amostras isoladas de pacientes com infecção do trato urinário em Aracaju-SE. **Metodologia:** Para tanto, foram analisados 608 uroculturas positivas e seus referidos antibiogramas em um laboratório especializado em Microbiologia, localizado na cidade de Aracaju, Sergipe, Brasil, no período de janeiro de 2017 a dezembro de 2017. As informações coletadas para análise foram gênero e os agentes etiológicos prevalentes e suas sensibilidades as Quinolonas. **Resultados:** Das amostras analisadas, 530 (87,17%) eram de pacientes do sexo feminino e 78 (12,83%) do sexo masculino. A bactéria mais frequente isolada foi a *Escherichia coli* (84,75%). As demais bactérias encontradas foram *Klebsiella* spp. (6,39%), *Proteus* spp. (2,79%), *Enterobacter* spp. (2,46%), *Staphylococcus saprophyticus*. (1,80%), *Enterococcus* spp. (0,49%), *Morganella morganii*. (0,49%), *Providencia* spp. (0,49%) e *Staphylococcus aureus* spp. (0,33%) e a maior sensibilidade entre as quinolonas foi a Norfloxacin (100%). **Conclusão:** Conclui-se que as Fluorquinolonas apresentou uma característica com um perfil de sensibilidade satisfatório tanto para Gram positivas quanto para Gram negativas quando comparado à prevalência da distribuição da resistência, devendo ainda ser utilizado como tratamento de escolha em uroculturas.

MI318

Detection of virulence genes in *Klebsiella pneumoniae* isolates from hospital Universitário de Brasília, df (HUB/UNB)

Almeida Ana Paula Cardoso¹, Alencar De Sousa Isabéla Félix¹, Gonçalves Laura Fernandes¹, Martins Vicente De Paulo¹, Pitondo Andre Silva², Campos Tatiana Amabile¹. ⁽¹⁾ Biologia Celular, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Brasília, BR. ⁽²⁾ Departamento de Análises Clínicas, Bromatológicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, BR.

Klebsiella pneumoniae is a gram-negative bacillus highly associated with nosocomial infections. It is often associated with urinary tract infections and pneumonia, these infections are recurrent in immunocompromised patients. New variants of the classic strain of *Klebsiella pneumoniae* (cKP) have appeared in the last years and the treatment is frequently arduous and sophisticated to them; they are: antibiotic resistant strains (rKP), hypermucoid strains (hmKP) and hypervirulent strains (hvKP). Infections caused by these new variants are more difficult to treat due to the various mechanisms of virulence they possess. HmKP has a hypermucoviscosal phenotype. There are two genes responsible for this phenotype according to the literature: *rmpA* is the regulator of capsule production and *magA* is associated with the phenotype. Capsular antigens are polysaccharides called K antigens, which have a high diversity among the strains, varying from K1 to K78, with K1 and K2 antigens being the most prevalent in virulent and nosocomial strains types furthermore they are strongly associated with hvKP. The main objective of the study was to identify strains by PCR with the K antigen and the *rmpA* and *magA* genes in the 99 samples of *K. pneumoniae* isolated from the Hospital Universitário de Brasília (HUB). In the studied collection, the presence of the gene *rmpA* was observed only among 19 strains and the presence of the gene *magA* in 6 strains of the collection. 8 samples have the presence of K1 antigen, therefore they are considered hypervirulent. Both the 16 hvKPs, 44 cKP and 39 rKPs strains from the collection survive and multiply in blood and human serum. To date, strains of *Klebsiella pneumoniae*, isolated from the Hospital Universitário de Brasília (HUB), have presented biological characteristics that make them more pathogenic, since they make difficult the therapeutic treatment, and its increase the chances of success in the evasion of the immune system of the host. The presence of genes *magA* and *rmpA* was observed in 52% of hmKp strains, suggesting the presence of other genes responsible for the phenotype.

CNPq, FAP-DF

MI319

Characterization of mutant strains of a Hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* strain causing bacteremia

Sousa Isabela FA¹, Almeida Ana Paula C¹, Gonçalves Laura F¹, Vicente De Paulo Martins¹, André Pitondo-Silva², Campos Tatiana A¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Análises Moleculares de Patógenos, Departamento de Biologia Celular, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Brasília, BR. ⁽²⁾ Departamento de Análises Clínicas, Bromatológicas e Toxicológicas, Faculdades de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, BR.

Klebsiella pneumoniae is a Gram negative enterobacteria mainly associated with infections among immunocompromised patients at health facilities. By the 1980s, a hypervirulent strain associated with pyogenic liver abscesses acquired in the community has emerged. This strain presented a hypermucoviscuous phenotype associated with hypervirulence, features that combined with antimicrobial resistance are considered a huge danger for public health. The focus of this work was to use TnPhoA transposon for mutagenesis of a hypermucoviscuous *Klebsiella pneumoniae* strain (*Kp* 34) causing bacteremia. After mutagenesis the mutants obtained were analyzed in regard to hypermucoviscosity phenotype and biofilm production. The future goal of this characterization is to be able to determine the genes responsible for this phenotype, since other known genes associated with this phenotype such as *magA* and *rmpA* are not present in this strain. So we were looking for mutants with different characteristics from the wild type. A conjugation process was performed between *Kp* 34 and *E. coli* SM10 (pRT733), which contains the TnPhoA transposon. Several mutants were obtained and selected with the antibiotic kanamycin. All mutants were tested for the presence of the hypermucoviscuous phenotype. The wild-type strain is positive for this phenotype, so we selected mutants which are negative for this phenotype. 8 mutants tested negative for this phenotype and those were tested for biofilm production using a spectrophotometric assay performed in triplicate and in three different days. The mean of each triplicate was compared with the mean of a negative control. The wild-type strain presented a moderate capacity of producing biofilm, 37.5% of the mutants have a strong capacity and 62.5% have a moderate capability. Concluding, we were able to obtain mutants that tested negative for the hypermucoviscuous phenotype and we observed some differences on the biofilm production of the mutants when compared to the wild-type strain. Further tests are necessary for the proper characterization of the mutants, such as epithelial cells invasion capacities and the identification of the genes responsible for the hypermucoviscosity phenotype. This analysis is very important for a better understanding of the virulence factors of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*.

CNPq, CAPES, FAPESP, FAHUB



MI320

Effects of *Terminalia catappa* Linn. extract on *Candida albicans* biofilms developed on denture acrylic resin discs

Diniz Rafael Soares¹, Santos Adriano Tavares¹, Paschoal Marco Aurélio Beninni¹, Sousa Eduardo Martins², Gonçalves Letícia Machado¹. ⁽¹⁾ Post-Graduate Program in Dentistry, Ceuma University, Ceuma University, São Luís, BR. ⁽²⁾ Post-Graduate Program in Parasite Biology, Ceuma University, Ceuma University, São Luís, BR.

Background: Considering the prevalence of denture stomatitis and the challenge of controlling this pathology using conventional therapies, natural products have been suggested as important therapeutic alternatives due to their antifungal and anti-biofilm properties. This study investigated if immersion in *Terminalia Catappa* Linn. extract (TCE) affects *Candida albicans* biofilms developed on denture acrylic resin discs. **Methods:** The minimal inhibitory and minimal fungicidal concentrations (MIC and MFC, respectively) tests were performed for TCE against suspensions of *C. albicans*. For the biofilm assay, discs (10 x 2 mm) were fabricated using a denture acrylic resin with surface roughness standardized. The biofilms were allowed to develop for 24 hours. Then, they were immersed in the following treatments overnight (8 hours): phosphate-buffered saline (PBS, control), TCE at MIC, 5XMIC or 10XMIC. The biofilms were analyzed for cell counts and microscopy. Data were analyzed by ANOVA followed by a Tukey test at a 5% significance level. **Results:** The minimal concentration of TCE required to inhibit *C. albicans* was 6.25 mg/mL, while MFC was 12.5 mg/mL. Immersion in TCE at MIC was sufficient to reduce 80% of the biofilm viable cells compared to the control group ($p < 0.001$). Microscopic images confirm that immersion at 5XMIC and 10XMIC had a fungicidal activity with no significant differences between the concentrations regarding viable cells counts ($p > 0.05$). **Conclusion:** Within the limitations of this study, it was possible to conclude that immersion in TCE reduced the *C. albicans* biofilms cells developed on the denture acrylic surface.

The authors would like to thank the Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão, FAPEMA (Portuguese acronym for the Maranhão State Research Foundation), for supporting this study.

MI321

Corynebacterium striatum virulence potential in *Caenorhabditis elegans* nematodes

Ana Luiza Mattos Guaraldi¹, Cabral Fellipe Oliveira¹, Farias Yuri Vieira¹, Cucinelli Andrezza Do Espirito Santo¹, Liliane Simpson-Louredo¹, Maria E. Freire Castro Canellas¹, Vieira Laís Priscila S¹, Sant'anna Lincoln Oliveira¹, Rodrigo Costa De Oliveira¹, Raphael Hirata Júnior¹, Cassius Souza¹. ⁽¹⁾ Microbiologia, Faculdade de Ciências Médicas da UERJ, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Corynebacterium striatum have been cited with increased frequency as pathogens of nosocomial infections in industrialized and developing countries. The nematode *Caenorhabditis elegans* has been progressively used as a model host to study the pathogenic mechanisms of gram-positive and gram-negative species. However, additional virulence factors in respect of mortality and morphological changes of infected nematodes by *Corynebacterium* need further investigation. In the present study, the susceptibility of *C. elegans* to *C. striatum* strains isolated from different clinical sites, representative of four PFGE-types, multidrug-resistance (MDR; n=2) and multidrug-susceptible (MDS; n=2) profiles and ability of biofilm formation on polyurethane catheter surfaces, isolated from patients admitted in a hospital unit located at Rio de Janeiro metropolitan area, were investigated. Evaluation of *C. elegans* survival in response to *C. striatum* contact indicated that nematodes were killed by all *C. striatum* strains tested, but at different levels. *C. striatum* 2369/II MDR and 1961/III MDS (urine) strains led to 100% mortality of worms three and four days post-infection, respectively. *C. striatum* 1954 / IV MDS and 1987 / I MDR strains were those that were unable to kill *C. elegans*. Morphological changes were also observed: deformed of anal region (Dar phenotype) and/or bacterium-induced internal egg hatching (bagging). Dar phenotype was observed since the first or second day post-infection with *C. striatum* strains of MDS and MDR strains of PFGE-types I, II and III (n<2) but not with MDS *C. striatum* PFGE-type IV strain. All *C. striatum* strains tested were capable of inducing bagging in *C. elegans*, including the Dar-negative 1954/IV MDS. In conclusion, *C. striatum* exerts virulence potential to *C. elegans* nematodes. Additional virulence factors in respect of mortality and morphological changes of infected nematodes by *C. striatum* need further investigation.

FAPERJ, CAPES, SR2-UERJ CAPES, CNPq, PRONEX, UFRJ E PGCM-UERJ.



MI322

Caracterización *in vitro* de bacterias ácido lácticas aisladas de alimentos peruanos artesanales fermentados tradicionales como potenciales probióticos

Ruth Cristobal Delgado¹, Angela Ampuero Leon¹, Alejandro Barrenechea De La Fuente¹. ⁽¹⁾ Ciencias Celulares Y Moleculares, Ciencias Y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, PE.

Las bacterias ácido lácticas (BAL) poseen propiedades beneficiosas como cultivos y/o sus metabolitos como ácido láctico, diacetilo, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas principalmente, que son aprovechadas por el hombre en diferentes áreas como salud humana y animal, conservación de alimentos, entre otras. Dentro del área de salud, el uso de BAL como probióticos es una de las líneas de investigación de mayor interés. En el Perú, existen diversos tipos de alimentos fermentados de uso tradicional que son fuente de BAL con posibilidad de ser candidatos para probióticos. Es por ello, que el trabajo permite evaluar *in vitro* BAL aisladas de estos tipos de alimentos como potenciales probióticos autóctonos. Se obtuvieron 135 BAL de muestras de tocosh, quesos artesanales, chicha de jora, chicha de maní, masato, manjar blanco, y yogur de diferentes regiones del país. Se evaluó la actividad antibacteriana de estos aislados mediante la prueba de difusión por pozos frente a bacterias indicadoras y/o patógenas alimentarias como *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella Typhimurium*, *Shigella sonnei* y *Staphylococcus aureus*. Se seleccionaron 60 aislados que produjeron halos de inhibición mayores e iguales a 10 mm de diámetro frente a las cepas indicadoras anteriores. Se determinará la sustancia responsable de la actividad antibacteriana con una caracterización fisicoquímica parcial. A estos aislados se les realizó ensayos de resistencia a sales biliares a 0.3% y a pH de 2, 3, 4, 5 y 6. El 45% de los aislados seleccionados presentaron resistencia a estas condiciones de variación. De éstos, 12 aislados provenían de tocosh y 7 de quesos. Los resultados de este trabajo nos permiten continuar con la búsqueda de otras fuentes de alimentos autóctonos de elaboración artesanal que proporcionen candidatos de bacterias lácticas como probióticos.

FUNDACION INSTITUTO HIPOLITO UNANUE

MI323

Low occurrence of *Yersinia enterocolitica* pathogenic in the production chain of swine in paraná, Brazil

Kadigia Pegoraro², Sereno Mallú Jagnow², Cibeli Viana¹, Martins Bruna T. Furtado¹, Yamatogi Ricardo Seiti¹, Luís Augusto Nero¹, **Bersot Luciano S.**². ⁽¹⁾ DVT, Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, UFV, Viçosa, BR. ⁽²⁾ DCV, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, UFPR, Palotina, BR.

Swine can be a reservoir of *Yersinia enterocolitica* and can carry it to slaughter facilities through lymph nodes, tonsils and intestines, and can contaminate end products. *Y. enterocolitica* is considered in EU one of the most important foodborne pathogens, although in Brazil it is absent in outbreaks reports and data on its occurrence in swine are scarce. Thus, the objective of this work was to identify the occurrence of *Y. enterocolitica* in different stages of the swine production chain and to characterize the genetic profiles of the isolates. Samples were collected in ten finishing farms and a slaughterhouse in Paraná, Brazil. Samples of the floor barns, feed and water were collected on the farms; also samples at the slaughterhouse were collected from the lairage, swine carcass surface at different stages of the process, fragments of tonsils and mesenteric lymph nodes. In the processing environment, surface swabs of meat cuts, tables and utensils were collected. *Y. enterocolitica* was investigated by the modified ISO 10273 method, the isolates were confirmed by detection of the 16S rRNA, and *inv* genes and serotyped by the detection of the *per*, *wbbU*, *wbcA* and *wzt* genes, all by PCR. In addition, they were submitted to PFGE, and the macrorestriction profiles were compared with eight isolates of *Y. enterocolitica* serotype O:3 obtained from swine samples collected in Minas Gerais. Of the 800 samples collected, only one tonsil sample was positive for *Y. enterocolitica*, representing a pathogen occurrence of 0.12%. From this positive sample three isolates were obtained, all belonging to the O:3 serotype. In the PFGE-macrorestriction profiles of the isolates showed a high rate of genetic similarity. The three isolates collected in Paraná were grouped in a single cluster with six other isolates obtained in Minas Gerais (92% similarity), with clones of two isolates from Paraná and one from Minas Gerais. This work demonstrated the low occurrence of *Y. enterocolitica* in the swine production chain in the Paraná, Brazil, and the low genetic variability among isolates of the circulating O:3 serotype in Paraná and Minas Gerais.

FAPEMIG, CAPES, CNPq

MI324

Atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a bactérias veiculadas por alimentos

Ribeiro Aline Dos Santos¹, Bispo Aline S. Da R.¹, Vieira Brenda Borges¹, Falcão Rodrigo S. De J.¹, Cerqueira Janine Costa¹, Carvalho Elaine Araújo De¹, Evangelista-Barreto Norma Suely¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Ambiental, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BR.

Os óleos essenciais são substâncias naturais que além de conferir sabor ao alimento, podem apresentar atividade antimicrobiana devido a presença de compostos fenólicos e terpenóides, gerados como metabólitos secundários. Dessa forma, com a ampliação das pesquisas na área alimentícia é perceptível que os óleos essenciais podem desempenhar um fator fundamental para a substituição de conservantes químicos no controle de microrganismos patogênicos e deteriorantes nos alimentos. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de louro (*Laurus nobilis*), manjerição (*Ocimum basilicum*) e noz moscada (*Myristica fragans*) frente a bactérias deteriorantes e patogênicas de interesse alimentar. Os óleos essenciais foram obtidos comercialmente pela empresa Terra Flor Aroma terapia situada em Goiás, Brasil. As linhagens bacterianas utilizadas foram *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Salmonella entérica* sorotipo Enteritidis ATCC 13076, pertencentes ao acervo de culturas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Ambiental (LABMAA) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi utilizada a técnica de microdiluição em caldo nas concentrações variando de 6.400 até 50 µg.mL⁻¹. As placas foram incubadas por 24h a 37°C e após esse período, foi adicionado corante rezasurina sódica 0,01% para verificação da atividade antimicrobiana. Para determinação da atividade bactericida e bacteriostática mínima (CBM), uma alíquota (10 µL) de cada inóculo foi semeado em ágar Mueller-Hinton e incubado a 37°C por 48h. Os óleos essenciais de louro e noz moscada apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. aureus* na concentração de 6.400 µg.mL⁻¹. Em contrapartida, o óleo essencial de manjerição não exibiu ação antimicrobiana nas concentrações testadas. Com relação a CBM, os óleos essenciais apresentaram apenas ação bacteriostática frente ao microrganismo *S. aureus*. Os óleos essenciais de louro e noz moscada inibiu a bactéria Gram-positiva teste, porém é necessário a realização de novas pesquisas acerca da atuação desses óleos essenciais, a fim de se conhecer o seu mecanismo de ação, facilitando a sua utilização na indústria de alimentos.

MI325

Ação antibacteriana de óleos essenciais de laranja, limão siciliano e mandarina verde

Almeida Viniccious S¹, Mateus Tonelli¹, Geromel Mairto R¹, **Fazio Maria Luiza S¹**. ⁽¹⁾ Nutrição, Nutrição, IMES-Instituto Municipal de Ensino Superior, Catanduva, BR.

O uso de plantas e derivados como óleos essenciais e extratos vegetais na terapêutica é empregado pelas populações desde muito tempo. Os óleos essenciais são misturas de compostos aromáticos voláteis produzidos durante o metabolismo secundário das plantas. Estes compostos estão relacionados com os mecanismos de defesa natural da planta, e podem ser influenciados por fatores bióticos e abióticos como a sazonalidade, ritmo circadiano, estágio de desenvolvimento e idade da planta, temperatura, disponibilidade de água, radiação UV, nutrientes do solo, altitude, composição atmosférica e danos a tecidos causados por herbívoros ou por agentes patogênicos. Esse trabalho apresentou como objetivo verificar a ação antibacteriana dos óleos essenciais: laranja 5F (L5F), laranja 10F (L10F), limão siciliano (LS) e mandarina verde (MV). Os testes foram realizados com os óleos essenciais individualmente e combinados. Os óleos essenciais foram impregnados em discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro, próprios para antibiograma, colocados em placas de Petri com meio de cultura apropriado, semeado previamente com os seguintes microrganismos: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis e *Staphylococcus aureus*, posteriormente incubadas a 35 °C/ 24-48 horas. Considerou-se de ação antimicrobiana eficaz aqueles que apresentaram halos iguais ou superiores a 10 mm. Para inibição de *B. subtilis* destacaram-se os óleos essenciais de L5F + LS (halo de 45 mm); L10F + LS (halo de 37 mm); L5F + L10F (halo de 32 mm). No que se refere a *S. aureus*, os valores mais eficientes foram observados para os óleos essenciais de L10F + MV (halo de 38 mm); LS (halo de 37 mm); L5F + L10F (halo de 32 mm). Com relação a *S. Enteritidis* constatou-se atividades mais eficazes para os óleos essenciais de L5F (halo de 49 mm); L5F + MV (halo de 30 mm); L10F + MV (halo de 30 mm). *B. cereus* foi inibida de forma eficiente por todos os óleos essenciais testados. Os óleos essenciais L5F, LS, L5F + LS, L5F + MV, L10F + MV e MV + LS apresentaram o maior espectro de ação, inibindo todas as bactérias testadas.

Flavor Tec - Aromas de Frutas Ltda, pelo fornecimento das amostras de óleos essenciais.

MI326

Qualidade microbiológica de hortaliças e queijos de leite cru comercializados nas feiras livres do Município de Unaí, MG, Brasil

Fernandes Luisa Silvestre¹, Andrade Karielly Amaral¹, Thaís Gabriele Xavier¹, Silva Nathalia Gonçalves¹, Costa Karolline Aires Da¹, Araújo Amanda Melo ¹, Silva Tania Pires¹, Ribeiro Jaqueline Lamounier², Barbé Luciane Da Costa¹, Almeida Getúlio Neves¹, Bento Cláudia Braga Pereira¹. ⁽¹⁾ MG, Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Unaí, BR. ⁽²⁾ Ciências Animais, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, BR.

Objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica de hortaliças e queijos produzidos a partir de leite cru comercializados na Feira Livre de Unaí, Minas Gerais, Brasil. Foram amostradas quinze barracas, cinco para folhosas e dez para queijos, ambas aleatoriamente. Analisou-se alface (*Lactuca sativa*), couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*), cheiro verde composto por salsa (*Petroselinum crispum*) e cebolinha (*Allium schoenoprasum*) e queijos de leite cru. As amostras de folhosas foram encaminhadas para o LABLEITE da Universidade de Brasília e as de queijos ao Laboratório Multidisciplinar de Ciências Básicas I da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri/Unaí. As análises microbiológicas realizadas foram: contagem de coliformes totais e termotolerantes, contagem de mesófilos aeróbios estritos e facultativos, contagem de bolores e leveduras. Contagem de estafilococos coagulase positiva foi realizada somente para as amostras de folhosas. As análises foram realizadas de acordo com a IN nº 62 de 26 de agosto de 2003 e os valores comparados com a RDC Nº 12, de 02 de janeiro de 2001 do Ministério da Saúde. Todas as amostras de folhosas apresentaram contagem de coliformes totais $> 1100 \text{ NMP g}^{-1}$ e contagem de coliformes termotolerantes $< 3 \text{ NMP g}^{-1}$. Os resultados de aeróbios mesófilos na alface foram de $1,83 \times 10^6 \text{ UFC g}^{-1}$, no cheiro verde $2,13 \times 10^6 \text{ UFC g}^{-1}$ e na couve $8,83 \times 10^5 \text{ UFC g}^{-1}$. Nenhuma amostra estava contaminada com *Staphylococcus spp* coagulase positiva. A contagem de bolores e leveduras foi de $5,35 \times 10^5 \text{ UFC g}^{-1}$, $4,86 \times 10^5 \text{ UFC g}^{-1}$ e $4,43 \times 10^5 \text{ UFC g}^{-1}$ para alface, cheiro verde e couve, respectivamente. Dentre as dez amostras de queijo analisadas, sete apresentaram contagem de coliformes totais $\geq 1100 \text{ NMP g}^{-1}$ e cinco apresentaram contagem de coliformes termotolerantes $\geq 1100 \text{ NMP g}^{-1}$. A contagem de bolores e leveduras variou entre $2,44 \times 10^6$ e $> 3 \times 10^8$. A população de mesófilos aeróbios variou de $1,92 \times 10^7$ a $> 3,0 \times 10^9 \text{ UFC/g}^{-1}$. Os resultados obtidos indicam que as folhosas analisadas estão aptas para o consumo, entretanto, os queijos merecem atenção, pois representam um risco potencial para a saúde do consumidor.

Agradecimentos: Ao LABLEITE da FAV/UNB. À PROEXC (UFVJM), EMATER, Cooperagro e CAPUL.

MI327

Detecção molecular e análise filogenética de norovírus em mariscos de manguezais em Cananéia, Brasil

Andrea Vásquez García³, Mejia Ballesteros Julian E¹, Godoy Silvia H S³, Edison Barbieri², Sousa Ricardo L M³, **Fernandes Andreza M³**. ⁽¹⁾ Departamento de Engenharia de Biosistemas, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, BR. ⁽²⁾ APTA- SAA/SP, Instituto De Pesca, Cananéia, BR. ⁽³⁾ Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, BR.

Nos últimos anos, casos de gastroenterite têm sido relatados no mundo, sugerindo uma associação entre o consumo de mariscos contaminados e a ocorrência de doenças gastrointestinais. Os mariscos, naturalmente abundantes nos manguezais, alimentam-se por filtração e, portanto, possuem potencial de bioacumulação de contaminantes como os vírus ambientalmente estáveis de RNA de cadeia positiva, incluindo norovírus (NoV), vírus da hepatite A e enterovírus. Os perigos representados pela bioacumulação de microrganismos nocivos são agravados pelo consumo tradicional de certas espécies de mariscos crus ou apenas levemente cozidos. O objetivo do trabalho foi detectar a presença do vírus entérico norovírus genogrupo GII em mexilhões (*Mytella* spp.) e ostras (*Crassostrea* spp.) coletados de manguezais no Estuário Lagunar Complexo de Cananéia, localizado no Estado de São Paulo, Brasil. Foram coletadas, entre junho de 2016 e fevereiro de 2017, setenta e cinco amostras de cada tipo de marisco, totalizando 150 amostras analisadas ao final do experimento. Todas as amostras foram testadas por RT-PCR com *primers* específicos para RNA polimerase dependente (RdRp) do norovírus e os produtos de PCR obtidos foram submetidos a sequenciamento de DNA, resultando em 21 (14%) amostras positivas para NoV GII, incluindo 13 (62%) amostras de ostras e 8 (38%) amostras de mexilhões. Dessas 21 amostras, dezesseis foram analisadas por sequenciamento de nucleotídeos. A análise filogenética mostrou que 43,7% das amostras apresentaram similaridade com cepas isoladas de pacientes pediátricos no Estado de São Paulo e 12,5% das amostras tiveram similaridade com a cepa do vírus GII.4, uma variante que surgiu em 2004 e se difundiu em todo o mundo. Considerando que os mariscos são uma das principais atividades da região e consumidos pela população, a ocorrência de NoV GII no estuário poderia ser utilizada como bioindicador da contaminação da água com vírus entéricos humanos, embasando tomadas de decisão quanto à proteção da saúde e prevenindo possíveis surtos de origem alimentar.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES - bolsa de Doutorado.

MI328

Effect of the consumption of controlled amount of prebiotics and dietary fiber on the composition of the gut microbiota in Chilean volunteers

Valentina Fernández-Yáñez¹, José Rojas², Sebastian Salgado², Yaritza Huaquipan², Geraldine Chandía², Waldo Díaz-Vásquez². ⁽¹⁾ Nutrición y Dietética, Ciencias para el cuidado de la salud, Universidad San Sebastián, Santiago, CL.
⁽²⁾ Tecnología médica, Ciencias para la Salud, Universidad San Sebastián, Santiago, CL.

Prebiotics are dietary fibers (FD) undigested by humans and selectively fermented by microorganisms, which specifically promote the growth of one or more bacterial genus in the gastrointestinal tract, providing a health benefit. In general, foods enriched in FD stimulates growth of *Bacteroidetes*, *Bifidobacteria* and *Lactobacillus* instead potentially pathogens bacteria. Even though consumption of prebiotics has a beneficial effect, excessive intake of them produces some intestinal discomfort symptoms, such as flatulence, meteorism and diarrhea, which means that daily consumption quantity is important. In this study, modifications in the microbiota composition of healthy Chilean patients was evaluated by using an optimized DNA extraction method for high fiber content samples, after the administration of prebiotics controlled amounts of inulin, oligofructose and resistant starch type 2 (RS2) as corn and raw potato. Tested quantities were 0, 5, 10, 20 and 30 g of FD, maltodextrin was used as placebo control. It was observed for almost volunteers that consumption of 30 g of prebiotics stimulates presence of microorganisms from *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* and *Actinobacteria* phylum bacteria. In particular, the potato starch consumption generates higher augmentation of intestinal microorganisms, such as *Bifidobacterium* and *Firmicutes*. On the other hand, changes in the Microbiota against soluble dietary fiber (SDF) as dehydrated plum, and insoluble dietary fiber (IDF) as wheat bran were evaluated. In this case some volunteers exhibited an unfavorable gastrointestinal symptomatology showing intestinal discomforts, where the maximum consumption amount did not exceed 10 g. With the consumption of SDF, a significant increase was observed in *Firmicutes*. Finally, the favorable changes observed in the intestinal microbiota, open the possibility of the use of prebiotics and/or dietary fiber as an alternative supplement for patients with chronic non communicable diseases, decreasing intestinal inflammation, the number of potentially pathogenic microorganisms, including delaying the progression of the disease.

FONDECYT of initiation of investigation 11170885

MI329

Características probióticas e de segurança de *Lactobacillus* spp. isolados de neonatos

Brito Layse F. De², Silva Ivan P. B. Da², Guerra André F.^{1,2}, Melo Roberto L.², Luchese Rosa H.². ⁽¹⁾ Departamento de Engenharia de Alimentos, Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca, Valença, BR.

⁽²⁾ Departamento de Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, BR.

Entre os principais requisitos para um microrganismo ser considerado probiótico, estão a capacidade de sobreviver aos sucos digestivos e de aderir ao epitélio intestinal para exercer atividade de exclusão competitiva de patógenos, além de serem seguros para utilização em quadros clínicos de disbiose intestinal. Desse modo, esta pesquisa teve como objetivo avaliar propriedades probióticas e de segurança de *Lactobacillus* spp. isolados de material fecal de neonatos. Cinco isolados neonatos foram caracterizados quanto às propriedades probióticas (resistência aos sucos gástrico e intestinal, e atividade antimicrobiana) e aspectos de segurança (susceptibilidade aos antimicrobianos e potencial hemolítico) e comparadas aos probióticos comerciais (*L. acidophilus*, Sacco e *L. casei*-01, Christian Hansen). Nenhuma das cepas mostrou-se capaz de inibir o crescimento de *Candida albicans* quando cultivadas concomitantemente. Porém, as cepas Lac 11 e A1 se mostraram tão ou mais eficientes que as cepas comerciais em inibir *Escherichia coli*. Todavia, a cepa Lac 8 não foi antagonista frente a *E. coli* e apresentou interação do tipo comensalista com esta bactéria, cujo crescimento associado foi equivalente ao controle em cultura axênica. Não houve diferença significativa com relação à susceptibilidade aos antimicrobianos entre as cepas comerciais e as isoladas de neonatos, com exceção da cepa 24, que se mostrou significativamente mais sensível à ampicilina. Quanto a simulação das condições gastrointestinais *in vitro*, também não houve diferença significativa entre as cepas isoladas e as comerciais. Além disso, todas as cepas mostraram-se ausentes de alfa ou gama hemólise. A identificação fenotípica pelo API 50 CHL apontou as cepas 24, Lac 8 e Lac 11 como pertencentes à espécie *L. rhamnosus*. Já as cepas A1 e Lac X foram identificadas como *L. paracasei*. Essa caracterização fenotípica foi confirmada através do sequenciamento da região 16S do rDNA. Portanto, as cepas isoladas são seguras e apresentam potencial probiótico, especialmente a cepa *L. rhamnosus* Lac 11, pela atividade antagonista contra *E. coli*.



MI330

Análisis isobolográfica para determinación de sinergismo de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*) y cravo (*Eugenia caryophyllus*) contra *Listeria monocytogenes*

Franciscato Lidaiane Mariãh Sil¹, Silva Milene Ribeiro², Junior Ary Fernandes³, Mortiz Cristiane Mengue².

⁽¹⁾ Microbiología, Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá, Umuarama, PR, BR. ⁽²⁾ Microbiología, Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá, Umuarama, PR, BR. ⁽³⁾ Biología, Instituto Federal do Paraná,, Umuarama, PR Brasil, BR.

Los aceites esenciales (AE) se consideran excelentes conservantes naturales, ya que son capaces de reducir o eliminar bacterias patógenas, garantizando la seguridad de los productos alimenticios de origen animal y vegetal, además de aumentar la vida útil de los productos. Los AE se obtienen de diferentes partes de las plantas, son aromáticos y ricos en compuestos químicos sintetizados naturalmente por el metabolismo secundario de las plantas, pueden estar constituidos por diferentes tipos de metabolitos, tales como aldehídos, compuestos fenólicos y terpenos. El objetivo del presente estudio fue determinar el sinergismo de los AE de tomillo (*Thymus vulgaris*) y clavo (*Eugenia caryophyllus*) contra *Listeria monocytogenes* a través de análisis isobolográfico. Se utilizó el método de microdilución en caldo siguiendo el Protocolo de *Checkboard*, con determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) y Concentración Bactericida Mínima (CBM) para los AEs de tomillo y clavo. Se evaluaron las concentraciones de 25,6, 12,8, 6,4, 3,2, 1,6, 0,8, 0,4, 0,2 y 0,1 $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$ contra la bacteria *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644). La evaluación del sinergismo de los OE se realizó utilizando la metodología isobolográfica y el cálculo del índice de Concentración Inhibitoria Fraccional (Fractional Inhibitory Concentration - FIC). La CIM y la CBM del OE de tomillo fue de 25,6 $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$ y la CIM y la CBM del AE de clavo fue de 12,8 $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$. Por el índice FIC las concentraciones probadas no resultaron en sinergismo, solamente efecto sin interacción entre los OE probados. Sin embargo, el isobograma demostró efecto sinérgico entre las combinaciones de concentraciones inhibitorias probadas de: 12,8 y 1,6 $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$; 3,2 y 6,4 $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$ para los AE de tomillo y clavo, respectivamente. De este modo, se constató que es posible dirigir la aplicación de los AE de tomillo y clavo como conservantes en alimentos contra *L. monocytogenes* en concentraciones menores cuando asociados en relación a la actividad de cada OE aplicado aisladamente, minimizando los posibles efectos sensoriales indeseables en los alimentos.

MI331

Ocorrência de aflatoxinas M1 em amostras de leite cru produzido em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil

Cristina Freitas¹, Karen Marimón Sibaja², Gonçalves Carolina Lambrecht³, Scaglioni Priscila Tessmer⁴, Garcia Sabrina Oliveira², Furlong Eliana Badiale², Giniani Carla Dors⁵, Nascente Patricia Da Silva⁵. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas, Universidade Federal de Pelotas. ⁽²⁾ Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, BR. ⁽³⁾ Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, CL. ⁽⁴⁾ Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR. ⁽⁵⁾ Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, CL.

O leite é um alimento de alto valor nutritivo, muito importante para o desenvolvimento e manutenção da saúde humana. No entanto, pode ser veículo de contaminantes alimentares tais como os micro-organismos e seus metabólitos. As micotoxinas são produtos tóxicos produzidos no metabolismo secundário de algumas espécies de fungos filamentosos, e, dentre essas, as aflatoxinas são as mais importantes por apresentarem propriedades carcinogênicas, teratogênicas, mutagênicas e imunossupressoras. As aflatoxinas B1 (AFLAB1) podem contaminar produtos agrícolas destinados a alimentação animal e, quando as vacas leiteiras alimentam-se com esses produtos contaminados, podem eliminar aflatoxinas M1 (AFLAM1) pelo leite, composto resultante da hidroxilação da AFLAB1 no rúmen. Esse trabalho analisou a ocorrência de AFLAM1 em 15 amostras de leite cru coletadas de cada animal individualmente em uma propriedade leiteira, cuja produção é semi-extensiva, localizada na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, durante o mês de agosto de 2017. As aflatoxinas foram extraídas utilizando o método de QuEChERS e quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detector de fluorescência. Em todas as amostras analisadas foi verificada a presença de AFLAM1, em níveis que variaram de 0,6 a 1,4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. O limite máximo permitido pela legislação brasileira (ANVISA) é de 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de leite fluído, logo, 100% das amostras analisadas estão em desconformidade com a legislação. A ocorrência de AFLAM1 no leite sugere que os animais foram alimentados com rações contaminadas com elevados níveis de AFLAB1, que ocorre, principalmente, devido a falha no controle das condições de armazenamento desses produtos. O controle dessas condições, essencialmente no que se refere a temperatura e umidade, e a melhoria das práticas agrícolas são medidas importantes a serem adotadas para prevenir a produção de micotoxinas. Os resultados apresentados nesse trabalho apontam para a necessidade de uma fiscalização mais consistente em relação aos cuidados de manejo para prevenir a produção de leite contaminado com AFLAM1 para assegurar a saúde dos consumidores.

MI332

Pigmentos de piel de maní como antifúngicos sobre superficies de quesos, y evaluación sensorial

Laura Frisón¹, Elisabet Ramos², Ricardo Dománico³, Mariana Muraro³, Ivana Nieto², Carolina Chiericatti¹.⁽¹⁾

Departamento de Tecnología de Alimentos y Biotecnología, Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral,

Santa Fe, AR ⁽²⁾ Centro de Investigaciones de la Industria Láctea, INTI - Lácteos, Rafaela - Santa Fe, AR ⁽³⁾ Centro de

investigación y desarrollo en Tecnologías de industrialización de Alimentos, INTI - Agroalimentos, Rafaela - Santa Fe, AR

Los quesos deben mantener características sensoriales, físico-químicas y de inocuidad durante toda su vida útil, y la aparición de mohos superficiales ocasiona problemas. La tendencia actual es incorporar antifúngicos de origen natural para su control. Se propuso evaluar las propiedades antifúngicas de dos pigmentos obtenidos, uno por extracción vía enzimática (Pigmento MPez016) y otro por extracción con etanol (Pigmento MP018) de la piel de maní, en dos concentraciones: 1500 ppm (C1) y 3000 ppm (C2). Se elaboraron quesos de pasta semidura (tybo). Agregados los antifúngicos, se inocularon con dos cepas de mohos: *Penicillium roqueforti* y *Geotrichum candidum* (contaminantes frecuentes en cámaras de maduración) en tres concentraciones de inóculo: Alta, Media y Baja (10^6 , 10^4 y 10^2 propágulos fúngicos/mL). Se utilizó Natamicina de 2000 ppm de concentración como control. Los quesos se almacenaron en bolsas plásticas en cámaras de maduración a $10^\circ\text{C} \pm 0.4^\circ\text{C}$ durante 20 y 40 días. Luego de cada tiempo se realizaron los análisis microbiológicos. Para la caracterización sensorial se utilizó la técnica "Análisis Descriptivo Cuantitativo (ADC)" según Normas IRAM 20012 y 20013 con un panel de 7 personas seleccionadas y entrenadas según las Normas IRAM. Se confirmó que la actividad antifúngica de MPez016 y MP018 sólo fue efectiva frente a *P. roqueforti* (concentración Baja de inóculo) para las dos concentraciones del pigmento C1 y C2, tanto a los 20 como a los 40 días de incubación. Estos pigmentos se comportaron de manera similar al control. *G. candidum*, en cambio fue resistente a su acción para todas las condiciones ensayadas. Los resultados del análisis sensorial mostraron que los atributos olor típico, intensidad del aroma, sabor dulce, solubilidad, impresión de humedad y cremosidad, se mantuvieron con valores similares al ideal hasta los 40 días de incubación; en cambio los atributos acidez, salado y adherencia fueron los que más se alejaron del ideal al mismo tiempo de ensayo. Se concluye que los pigmentos ensayados fueron efectivos sólo para *P. roqueforti*, por lo que se podría aplicar sobre superficies de quesos para reemplazar la Natamicina. En cuanto a *G. candidum*, se deberían realizar ensayos a concentraciones mayores para evaluar su efectividad.

Se agradece el apoyo financiero de la Agencia Santaefcina de Ciencia, Tecnología e Innovación (ASaCTel), N° PROYECTO N° 1010-008-16 RESOLUCIÓN N° 121/16.

MI333

Aplicación de metodologías para evaluar la presencia de Hepatitis E en matrices alimentarias de riesgo microbiológico en Chile

Gavilanes Luis E^{2,1}, Gonzalo Sanhueza², Viviana Cachicas². ⁽¹⁾ Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago de Chile, CL. ⁽²⁾ Microbiología Alimentos, Departamento de Salud Ambiental, Instituto de Salud Pública de Chile, Santiago de Chile, CL.

La Hepatitis E (VHE) en humanos es causada por un virus de ARN de sentido positivo de la familia *Hepeviridae*. Es uno de los principales virus entéricos de carácter zoonótico asociado a su presencia sin signos clínicos a cerdo y jabalí. En Chile, los eventuales casos de hepatitis E quedan confinados a la serotipificación No A No B con tasas menores a 10 por 100.000 habitantes. Recientemente, se estudió la seropositividad en 394 pacientes inmunodeprimidos, observándose seroprevalencia del 18% en nacidos desde 1960 y una disminución hasta 0% después de 1990. Con el objetivo de fortalecer estudios de vigilancia en alimentos, se evaluaron tres metodologías moleculares que se aplican para la detección de Norovirus y Virus de la Hepatitis A (VHA) en distintas matrices. Se utilizaron hígado, longaniza de cerdo y hepatopáncreas de moluscos procedentes de zonas de potencial exposición al virus como estuarios naturales cercanos a plantas de producción porcina. Las metodologías analizadas fueron: 1) Extracción de virus con Tiocianato de guanidina y ultra centrifugación recomendado por BAM FDA para Hepatitis A en cebollines, 2) Uso de Proteínasa K según ISO/TS 15216-1:2017 para Norovirus y Hepatitis A y 3) Uso de TRIZOL según recomendaciones del Instituto Federal para la Evaluación de Riesgo de Alemania. Las etapas de extracción de ARN y detección molecular fueron comunes para las tres metodologías utilizando sílica magnética y RT-qPCR en tiempo real. Para evaluar los porcentajes de recuperación y cuantificación, se utilizó el virus control de extracción Mengo (1.46×10^5 cg/ μ L) y un plásmido comercial para VHE CeeramTools[®] (2×10^5 copias). El virus control de extracción Mengo fue recuperado en hepatopáncreas e hígado por las tres metodologías analizadas. El número de copias del genoma recuperado fue entre 69 y 3 cg/ μ L y el porcentaje de recuperación fue menor al 1%. Los resultados de esta evaluación muestran que la metodología ISO resultaría ser la más adecuada para estudios de hepatopáncreas de moluscos, mientras que BAM FDA y TRIZOL son homólogas para estudios de hígado de cerdo. Aún no se han obtenido muestras positivas para VHE debido a que el estudio se encuentra aún en desarrollo.

Instituto de Salud Pública de Chile

MI334

Micobiota e ocorrência de fungos toxigênicos em rações para peixes no estado de São Paulo, Brasil – resultados preliminares

Gomes Amanda L.¹, Godoy Silvia H. S.¹, Burbarelli Maria F.C.¹, Chaguri Milena P.¹, Sousa Ricardo L.M.¹, Fernandes Andreza M.¹. ⁽¹⁾ Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, BR.

O consumo de peixes no Brasil vem crescendo nos últimos anos. Para atender as exigências nutricionais para a engorda dos animais, são formuladas dietas compostas principalmente por cereais, suscetíveis à contaminação fúngica. A presença de fungos potencialmente toxigênicos nas rações pode ocasionar a contaminação por micotoxinas, representando riscos para a saúde dos animais e dos humanos consumidores. O presente estudo tem por finalidade avaliar a microbiota fúngica e a presença de fungos toxigênicos em rações para peixes no estado de São Paulo, Brasil. Amostras de cerca de 500 g de ração em uso foram coletadas em diferentes propriedades. A atividade de água das amostras foi mensurada, para a escolha do meio de cultura apropriado. As amostras foram semeadas em ágar dicloran glicerol (DG18) e incubadas a 25°C por cinco dias. Foi realizada a contagem de colônias e o isolamento em ágar batata dextrose (PDA), seguido de microcultivo, com incubação de três a cinco dias a 25°C. Em seguida foi utilizada microscopia ótica para identificação dos gêneros. Adicionalmente, os fungos identificados como gênero *Aspergillus* foram semeados em ágar *Aspergillus flavus* e *parasiticus* (AFPA) para identificação das colônias pertencentes à seção *Flavi*. Até o momento foram analisadas 15 amostras de ração. A atividade de água variou de 0,49 a 0,69, com média de 0,61. Foi observado crescimento fúngico em 73% das amostras analisadas, com resultados variando de 1,0 a 3,3 log UFC/g, com média de 2,0 log UFC/g. Estes resultados evidenciam que, mesmo com uma baixa atividade de água, há contaminação por fungos nas rações. Os principais gêneros encontrados foram *Penicillium* e *Aspergillus*, presentes em 33% e 27% das amostras, respectivamente. Outros gêneros encontrados foram *Mucor*, *Rhizopus* e *Verticillium*, presentes em 7% das amostras. No entanto, até o momento não foram identificados *Aspergillus* seção *Flavi*. Espera-se, com a continuidade do estudo, a obtenção de dados importantes acerca da contaminação fúngica das rações consumidas pelos peixes e, conseqüentemente, dos riscos à saúde dos animais e dos consumidores.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES – bolsa de Mestrado.

MI335

Selection of probiotic yeast from Brazilian kefir grains

Guimarães Gabriele Moreira¹, Karen Costa¹, Costa Mariana Silva¹, Ribeiro Gabriel Ferrari¹, Mendes Ingrid Sandy¹, Miranda Vivian Correia¹, Nicoli Jacques Robert¹, Elisabeth Neumann^{2,1}. ⁽¹⁾ Microbiologia, Instituto Ciências Biológicas, Universidade Federal De Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽²⁾ Microbiologia, Instituto Ciências Biológicas, Universidade Federal De Minas Gerais - UFMG, Belo Horizonte, BR.

Kefir grains are natural consortium of lactic and acetic bacteria and yeast, used to produce a fermented beverage whose consumption is associated with benefits to human health (antioxidant, immunomodulator, hipocolesterolemic and antiallergenic effect). The microorganisms present in the grains and metabolites produced by them are associated with the beneficial effects and kefir is distinguished from other fermented beverages by its high concentration of yeasts. Thus, we aimed to identify isolated yeasts of brazilian milk and watery kefir grains and to evaluate their resistance to stressful conditions of the gastrointestinal tract (bile salts and gastric juice) and aggregation ability, as criteria for selecting potential probiotic yeasts. 140 isolated yeasts were grouped in 33 strains by GTG5 fingerprinting and identified by sequencing using primers forward (NL1, ITS1) and reverse (NL4, ITS4). The strains were grown in YPG broth at 37°C, washed and resuspended in buffered saline (PBS, PH 7.4), plated in YPG agar supplemented with bile salts (Oxgall, 0.01 to 10.00 mg/ML) and incubated at 37°C/48h. They were also resuspended in simulated gastric juice (pepsin, 3 G/L; NaCl, 5 g/L; PH 2.0) and incubated at 37°C. Immediately after inoculum and after 1h30min, the surviving cells were enumerated in YPG agar (37°C/48h). For the aggregation test, the yeast cultures were centrifuged, washed in PBS, homogenized and left at rest for 3 hours. At 0 and 3h, 0.01ml was taken of the suspension for reading the absorbance to 600nm. The 33 lineages identified belong to seven different species (*Saccharomyces cerevisiae*, *Kazachstania unispora*, *Pichia membranifaciens*, *Torulaspota quercuum*, *Lachancea fermentati*, *Saccharomyces cariocanus*, *Schizosaccharomyces pombe*). Two strains were sensible to bile salts, nine presented intermediate resistance (sensitive only in the concentration of 10.0 mg/ml), and the others were resistant. The strains were highly resistant to gastric juice (90% survival after 3h), except one, and presented 89.3% of aggregate on average. These results indicate that the strains are resistant to injuries of the gastrointestinal tract and have high aggregation potential, important data to characterize them as probiotic.

Financial support: FAPEMIG, CNPq, CAPES and PRPq/UFMG.

MI336

Intervención nutricional en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 tratados con metformina con una dieta basada en un kéfir estandarizado en su producción y contenido microbiológico

Claudia Ibacache¹, Karoll González², Rebeca Ahumada², Alejandro Dinamarca³. ⁽¹⁾ Centro de MicroBioinnovación, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Centro de MicroBioinnovación, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽³⁾ Centro de Micro-Bioinnovación, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, CL.

El kéfir es una bebida láctea fermentada producida por un consorcio microbiano compuesto por bacterias ácido-lácticas, ácido-acéticas y levaduras, que ha sido asociado a efectos beneficiosos como antineoplásico e inmunomodulador, siendo de interés en patologías crónicas no transmisibles. Debido a que desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) ha sido asociada a disbiosis, con una disminución de la abundancia-relativa (AR) de los phyla Firmicutes, y aumento de Bacteroidetes y Proteobacterias, este trabajo muestra una intervención nutricional con kéfir estandarizado en pacientes con DM2 tratados con metformina, para determinar su capacidad de restituir la AR de estos phyla. La intervención fue estudio clínico randomizado, de ciego simple, en 20 individuos separados en dos grupos, caso-intervención y control, y se les administró 150 g de kéfir o yogurt natural comercial, respectivamente, por ocho semanas. Los criterios de inclusión fueron: pacientes con DM2 tratados con metformina, entre 30-65 años. Los de exclusión incluyeron fumadores, pacientes con enfermedad hepática/renal/gastrointestinal, estar en gestación o lactancia y en tratamiento con antibióticos. Para establecer la influencia de la dieta se realizaron *Encuestas de 24 h*, que no revelaron diferencias significativas entre ambos grupos. Los grupos tampoco presentaron diferencias en la dosis de metformina. Para cada grupo se evaluaron parámetros metabólicos (glicemia, colesterol y triglicéridos) y parámetros relacionados a malestar gastrointestinal (hinchazón, acidez, frecuencia evacuatoria y dificultad evacuatoria) pre/post intervención. El efecto sobre la composición de la microbiota intestinal se evaluó mediante la secuenciación metagenómica de la región V4 del ARNr 16S a partir del ADN metagenómico de muestras fecales pre/post intervención. Los resultados indican que el consumo de kéfir aumentó la AR de Firmicutes y Actinobacteria y los géneros productores de butirato *Coprococcus* y *Lachnospira*, y disminuyó los phyla Bacteroidetes y Proteobacteria. El consumo de kéfir disminuyó también los triglicéridos plasmáticos ($p<0,04$), la hinchazón gastrointestinal ($p<0,02$), acidez ($p<0,04$), producción de gases ($p=0,02$), frecuencia evacuatoria ($p<0,001$) y dificultad evacuatoria ($p<0,02$). La glicemia y colesterol no mostraron diferencias al finalizar la intervención ($p>0,05$). Los resultados indican que la intervención con kéfir contribuye a restituir la composición de la microbiota intestinal hacia un normotipo, y a la disminución de los triglicéridos sanguíneos y los malestares gastrointestinales.

Proyecto PAI79179114, CONICYT. Proyecto CIDI-DIUV 4/2016.

MI337

Ground beef Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolates form stronger biofilms than cattle isolates

Jimenez Maria Fernanda¹, Leonela Diaz¹, Magaly Toro¹. ⁽¹⁾ Microbiologia y Probioticos, INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* causes isolated cases and outbreaks of diarrhea, hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome, and contaminated food is one of the main vehicles for infection. In the food industry, biofilms provide a source of food contamination because microorganisms, such as STEC, are protected from the action of sanitizers by the biofilm polymeric matrix. Our aim was to compare the biofilm formation ability of STEC isolated from cattle and beef to determine whether there are differences based on isolate's origin. Additionally, we studied the association of biofilm formation and the presence of biofilm related genes. Biofilm formation was studied for 67 Chilean STEC isolates obtained from ground beef (n=32) and cattle feces (n=35). The assay was run in 96-well polystyrene microplates at 23°C and 37°C, and results categorized isolates in non-forming, slight-forming, moderate-forming, and strong-forming. Additionally, we investigated the presence biofilm associated genes (*crl*, *csgA*, *csgD*, *ehaA*, *ehaB*, *espP*, *cah* and *flu*) by *in-silico* PCR from the isolates genomic sequences and primers previously described. A Spearman test was run to analyze the correlation between biofilm formation and the presence of each gene. We found that 91% (61/67) of isolates formed biofilm, and isolates formed stronger biofilm at 23°C. A high percentage of ground beef isolates (80%; 24/30) were moderate to strong biofilm producers, while only 65% (20/31) of cattle isolates were in the same condition. Genes *crl*, *csgA*, *csgD* were present in every isolate (67/67), and genes *ehaA* and *fimH* were found in 94% (63/67) and 97% (65/67), respectively. Considering exclusively biofilm forming isolates (61), *cah* was detected in 8% (5/61), *ehaB* in 50% (31/61), *espP* in 58% (36/61) and *flu* in 63% (39/61). Correlation analysis showed a significant negative association between the presence of genes *cah* and *espP* and biofilm formation at 37°C and at 23°C for *cah*. In conclusion, STEC isolates obtained in Chile are able to form biofilm, and ground beef isolates formed stronger biofilm than cattle isolates. Only genes *cah* and *espP* showed a significant correlation with biofilm formation, and other genes studied seemed not to be linked to biofilm formation.

Proyecto FONDECYT 111 50 491

MI338

Inhibición del crecimiento de cepas del género *Aspergillus* de la sección *nigri* productores de ocratoxina A por bacterias ácido lácticas aisladas de café de México

Jiménez-Santiago Luis F¹, Morales-Estrada Aurea I¹, Noël Durand², Isabelle Perraud¹, Gabriela Rodríguez-Serrano¹.

⁽¹⁾ Biotecnología, Iztapalapa, Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, MX. ⁽²⁾ Seguridad de alimentos, Agricultural Research for Development, Montpellier, FR.

La presencia de micotoxinas en alimentos es una preocupación a nivel mundial por los problemas que causan a la salud. Se ha demostrado que en el café se encuentran micotoxinas aún después del tostado del grano, donde la ocratoxina A (OTA) es la de mayor incidencia. El objetivo de este trabajo fue aislar bacterias ácido lácticas (BAL) provenientes de café de México para estudiar su capacidad de inhibir el crecimiento de hongos ocratoxigénicos del café. Se realizaron muestreos de las cerezas de café de Tabasco y Veracruz, a partir de los cuales se obtuvieron 29 BAL. Todas las bacterias fueron identificadas molecularmente y fueron evaluadas en cuanto a su capacidad de inhibir los hongos productores de OTA en medio sólido. A partir de estos resultados, se seleccionaron solo aquellas BAL que presentaron la mayor inhibición y se probaron en medio líquido frente a 4 cepas de *Aspergillus niger* (aislados en México) y 2 cepas de *Aspergillus carbonarius* (aislados en Costa de Marfil). Se realizaron 3 combinaciones: esporas vs. suspensión de BAL, esporas vs. sobrenadante libre de células y esporas vs. sobrenadante de BAL crecidas en presencia de esporas inactivadas. Las BAL aisladas de las cerezas de Veracruz con la mayor inhibición en el crecimiento de los hongos fueron identificadas como *Enterococcus gallinarum*, *E. casseliflavus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *L. pseudomesenteroides* y *E. malodoratus*, mientras que las aisladas de Tabasco fueron identificadas como *L. pseudomesenteroides*, *Weisella confusa* y *L. citreum*. La BAL que presentó la mayor inhibición en el crecimiento y en la producción de OTA, fue *Leuconostoc citreum*, ya que en medio líquido, disminuyó el crecimiento de los hongos aislados en México e inhibió por completo el crecimiento de los hongos superproductores de OTA. En presencia del sobrenadante de las BAL, algunos hongos se vieron alterados en su crecimiento con una clara estimulación en la producción de esporas. *Leuconostoc citreum* aislado de Tabasco, tuvo la capacidad de disminuir el crecimiento de las cepas de *A. niger* e inhibir el crecimiento de las cepas de *A. carbonarius* superproductoras de OTA, con un efecto importante en la disminución de la producción de la OTA.

Beca de Doctorado CONACYT de L.F. Jiménez Santiago, Proyecto CONACYT-259874/ANR-15-CE21-0018-01 y productores de café en México.

MI339

Detection of *Cronobacter* spp. in powdered infant foods in Brazil

Carvalho Gabriela Guimarães¹, Santini Taisa Pires J¹, **Kabuki Dirce Yorika**¹. ⁽¹⁾ Department of Food Science, School of Food Engineering, University of Campinas, Campinas/ SP, BR.

Cronobacter species is an opportunist pathogen, which can cause serious infections in neonates, elderly, and immunocompromised adults. In neonates, *Cronobacter sakazakii* causes necrotizing enterocolitis, septicemia, and meningitis. Studies have shown the main vehicles of contamination are dehydrated infant formulas and infant cereals. The detection of *Cronobacter* spp. is not usually realized in the routine analysis of infant foods, although the Codex Alimentarius Commission establishes criteria for them in infant formula after primary packaging in the industry. Thus, in this study we evaluated the presence of *Cronobacter* spp. in 83 samples of infant foods (49 samples of powdered infant formulas and 34 powdered infant cereals) commercialized in Brazil. The method utilized for detection of *Cronobacter* spp. was based on procedures described by International Standard Organization (ISO). Twenty five grams of each sample were homogenized in 225ml of buffered peptone water and incubated at 35 °C for 24h. Then, one aliquot was transferred to *Cronobacter* Screening Broth supplemented with vancomycin (10mg/ml) (CSB) and incubated at 41.5 °C for 24-48h. Samples that became yellow in CSB were streaked onto Chromogenic *Cronobacter* Isolation Agar (CCI), *Enterobacter sakazakii* Isolation Agar (ESIA) and Brilliance *Enterobacter sakazakii* Agar (DFI). CCI and ESIA were incubated at 42 °C for 24h and DFI at 37 °C for 24h. Typical colonies from each agar were selected and submitted to identification of the genus by PCR for *gluA* gene and species-specific identification by PCR for *rpoB* gene. The genus *Cronobacter* and *C. sakazakii* were identified in 7.2 % (6/83) of the samples. All positive isolates for *C. sakazakii* were from infant cereals (17.6 %, 6/34). No infant formula sample was positive for *Cronobacter* spp. These results show that despite a great concern regarding *Cronobacter* spp., it is still present in processed foods, representing a risk for child population. Moreover, our findings suggest the food industries should improve the microbiological control of their products.

We would like to thank São Paulo Research Foundation (FAPESP) and Coordination for the Improvement of Higher Level Personnel (CAPES) for the financial support.

MI340

Microbiota contaminante en agua de tambos-queserías de tipo familiar

Anahí Tabera¹, Alejandro Ruiz De Galarreta², **Alejandra Krüger**³. ⁽¹⁾ Departamento de Tecnología y Calidad de los Alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, TANDIL, AR. ⁽²⁾ CINEA (Centro de Investigaciones y Estudios Ambientales), Facultad de Humanas, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, AR. ⁽³⁾ CIVETAN (Centro de Investigación Veterinaria de Tandil) CONICET-CIC-UNCPBA, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, AR.

La Cuenca Lechera Mar y Sierras, Argentina, posee una larga trayectoria en la producción de leche y subproductos con un importante crecimiento en la elaboración de quesos en los últimos años. Muchas son empresas de tipo familiar que procesan la leche y elaboran quesos en el mismo establecimiento, donde también viven, y generalmente no cuentan con agua de red para las maniobras de producción y consumo. El objetivo de este trabajo fue analizar la calidad bacteriológica del agua proveniente del recurso hídrico subterráneo y de su distribución en establecimientos de tipo familiar. Se tomaron 52 muestras incluyendo agua de las perforaciones de abastecimiento (18), de uso en tambo (14) y quesería (20) de 5 establecimientos visitados en distintas épocas del año. Se determinaron según normas internacionales estandarizadas APHA: recuento de bacterias mesófilas viables, coliformes totales, coliformes termotolerantes, presencia de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, enterococos, esporas de clostridios sulfito reductores, *Salmonella* spp y *Shigella* spp. Todos los establecimientos presentaron, en al menos uno de los muestreos, alguna muestra no apta de acuerdo a los criterios de agua potable de Código Alimentario Argentino (CAA). En total se observó que 33% de las muestras de pozo sobrepasaron los límites de indicadores de calidad higiénica (mesófilos y coliformes totales), 35,7% y 45% de las muestras de tambo y queserías, respectivamente, presentaron recuentos de coliformes totales elevados. En algunas de esas muestras se detectó además la presencia de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, enterococos, esporas de clostridios sulfito reductores o *Salmonella* spp. Por otro lado, 6 muestras aptas según los criterios de CAA resultaron positivas para enterococos o clostridios sulfito reductores. Los altos recuentos de indicadores de calidad higiénica y la presencia de bacterias indicadoras de contaminación fecal reflejan condiciones constructivas deficientes y problemas en localizaciones de los pozos en algunos de los establecimientos, como también fallas de higiene. Los resultados destacan la necesidad de un mayor conocimiento de la hidrogeología del lugar y de la infraestructura del acceso y manejo del agua, así como de implementar sistemas de desinfección y controles periódicos incluyendo la evaluación de bacterias más resistentes a las características de la producción.

MI341

Mycobiota profiles with next-generation sequencing of syrah grapes cultivated in the south of Minas Gerais, Brazil

Lira Nathasha De Azevedo¹, Passamani Fabiana Reinis F.¹, Matteoli Filipe Pereira², Batista Luís Roberto³. ⁽¹⁾ Department of Biology, Federal University of Lavras, Lavras - MG, BR. ⁽²⁾ Laboratory of Chemistry and Function of Proteins and Peptides - LQFPP, Northern Fluminense State University - Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacases - RJ, BR.

⁽³⁾ Department of Food Science, Federal University of Lavras, Lavras - MG, BR.

The cultivation of grapes has economic and cultural importance in many countries, and in Brazil, this activity has been developing. Given this economic importance, it is necessary to obtain the knowledge of the diversity of microorganisms present in the grapes, in order to understand the individual qualities that each wine possesses. The natural microbiota of the grapes in combination with the yeast starters in the must influences through their metabolites the characterization of the final product, showing that the diversity of bacteria, filamentous fungi and yeasts present in grapes can interfere in the fermentation process. In this sense, the present work aims to evaluate the diversity of filamentous fungi and yeasts that compose the natural mycobiota of grapes grown in vineyards in the South of Minas Gerais, Brazil. For the identification of this natural mycobiota, amplicon metagenomic sequencing was used. Total DNA was extracted with commercial kit, an amplicon was generated using specific ITS2 primers from the fruit samples, which was sequenced on an Illumina HiSeq 2500 platform. Reads with identity $\geq 97\%$ were designated as belonging to the same OTU, these were annotated with RDP Bayesian Classifier using the Warcup training set database as reference. The metagenomic libraries showed representatives of the two phyla of Fungi Kingdom, Ascomycota and Basidiomycota, and the orders Capnodiales, Pleosporales, Eurotiales, Hypocreales, Saccharomycetales the most frequent. The Ascomycota phylum was represented by the classes Eurotiomycetes, Sordariomycetes and Dothideomycetes, being the genera of filamentous fungi *Aspergillus*, *Penicillium*, *Eupenicillium* and *Phaecilomyces*, representatives of the class Eurotiomycetes, found in the two samples analyzed. Has also been identified as components of the mycobiota of the grapes, yeasts representing the phylum Basidiomycota, *Cryptococcus* and *Rhodotorula* and the phylum Ascomycota, *Metschnikowia*, *Candida*, *Hanseniaspora* and *Pichia*. These yeasts have also been found in diversity studies of grapes from an Italian producing region and they are considered important for the vinification process. However, the genera *Meyerozyma*, *Wickerhamomyces* and *Botryotinia* were found only in the present study and have not been reported in other studies using the next-generation sequencing of grapes from other producing regions.

CAPES; CNPq; FAPEMIG

MI342

Avaliação do comportamento de *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga O157:H7 no leite pasteurizado e no iogurte

Florentino Silva Bianca M¹, Carvalho Rafael M.P.¹, Melo Isabella N¹, Domingues Josiane R¹, Gonzalez Alice G.M¹.

⁽¹⁾ Bromatologia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, BR.

Escherichia coli produtora de toxina Shiga (STEC) O157:H7 é causadora de surtos veiculados por alimentos predominantemente de origem animal. A infecção é caracterizada por diarreia sanguinolenta, colite hemorrágica e síndrome hemolítica urêmica. O controle de STEC O157:H7 está relacionado as práticas de higiene durante o processamento do alimento e as condições de desenvolvimento da bactéria na matriz alimentar. Leite e iogurte têm sido descritos como importantes veículos de doença causada por STEC O157:H7. O objetivo do trabalho foi avaliar o comportamento de STEC O157:H7 no leite pasteurizado e no iogurte. Estes produtos foram artificialmente contaminados com 5 log UFC/ml de um mix de cepas O157:H7. A contagem de células viáveis no leite pasteurizado foi realizada no dia da contaminação (T0) e nos tempos de armazenamento de 24h (T1) e 48 h (T2) a 6 °C. O iogurte foi preparado com leite UHT (ultra alta temperatura) artificialmente contaminado e a contagem de células viáveis de STEC O157:H7 foi realizada no leite UHT após contaminação, após a adição da cultura *starter*, após a fermentação e nos tempos de armazenamento a 6 °C, T0 (4 h após a fermentação), T1 (24 h), T2 (48 h), T4 (4 dias), T7 (7 dias), T10 (10 dias) e T14 (14 dias). O agar MacConkey sorbitol foi utilizado para contagem das células viáveis de O157:H7. O pH das amostras foi medido em todas as etapas da contagem bacteriana. No leite pasteurizado houve redução de 0.71 log UFC de STEC O157:H7 após 48 h, indicando que na condição de 6 °C e pH 6.71 não ocorreu crescimento populacional, porém ocorreu sobrevivência. No iogurte houve redução de 4,85 log UFC/ml no 10° dia chegando a não detecção de células viáveis no 14° dia. No iogurte, o pH foi mais um obstáculo para o controle de O157:H7, sendo possível observar contagem de células viáveis inferior a dose infectante (2 log UFC/ml) a partir do 10° dia. A sobrevivência de STEC O157:H7 nos alimentos estudados está relacionada a temperatura e a sua capacidade de sobreviver em meios ácidos.

Ao CNPq, a Capes e a FAPERJ pelo apoio financeiro.

MI343

Estudo da qualidade microbiológica de sushis comercializados em restaurantes *self-service*, Bahia, Brasil

Mafra Jéssica F¹, Souza Milena C², Cabral Aleksandra I², Damacena Sanmily S², Conceição Antônio L. S³, Evangelista-Barreto Norma S². ⁽¹⁾ LABMAA - Laboratório de microbiologia de alimentos e ambiental, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Microbiologia de alimentos e ambiental, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BR. ⁽³⁾ Ciências agrárias, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BR.

O sushi é um alimento preparado manualmente típico da culinária japonesa, a base de peixe ou frutos do mar crus, arroz temperado e alga. No Brasil, o consumo crescente desse tipo de alimento vem se tornando uma preocupação constante com a saúde pública pela possibilidade da veiculação de microrganismos patogênicos. Desse modo, este estudo objetivou avaliar a qualidade microbiológica de sushis comercializados em restaurantes do tipo *self-service* no município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil, utilizando os indicadores microbiológicos de higiene (coliformes a 35°C, a 45°C e *Escherichia coli*), indicadores de qualidade (fungos, *Bacillus* spp., bactérias lácticas, *Pseudomonas* spp. e bactérias mesófilas cultiváveis) e indicadores patogênicos (*Staphylococcus coagulase positiva*, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella* spp.). Para isso, foram realizadas quatro coletas de amostras compostas de sushi (atum, kani-kama e salmão) em três restaurantes (A, B e C) da cidade. O experimento foi conduzido no delineamento em blocos casualizados no tempo e os resultados foram submetidos à análise de variância e ao teste de comparação de médias Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Os resultados foram comparados aos limites estabelecidos pela legislação brasileira RDC nº 12 de 2001 (ANVISA), pela Agência de Proteção Sanitária (HPA) e pelo Centro de Segurança Alimentar em Hong Kong (CFS). A contagem média dos microrganismos (0 a 7,06 log UFC/g) diferiu estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre os microrganismos analisados, mas não diferiu entre os restaurantes. Contagens acima dos limites permitidos de 6 e 4 log UFC/g foram verificadas para fungos e coliformes a 35°C em 75% das amostras respectivamente. A bactéria *E. coli* foi isolada em 25% das amostras nos três restaurantes, *B. cereus* em 25% das amostras no restaurante B e em 50% das amostras no restaurante C. Os sushis comercializados em Cruz das Almas, Bahia, apresentam baixa qualidade microbiológica, podendo colocar em risco a segurança alimentar do consumidor, evidenciando a importância da implantação de Boas Práticas de Higiene e Manipulação para os *sushimans*.

CAPES

MI344

Aflatoxina M1 em amostras de leite cru provenientes de Pelotas-RS e sua correlação com parâmetros de qualidade do leite

Karen Marimón Sibaja¹, Cristina Hallal³, Sabrina Garcia¹, Priscila Scaglioni², Jaqueline Garda-Bufferon¹. ⁽¹⁾ Ciência e Tecnologia de Alimentos, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal de Rio Grande, Rio grande, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Controle de contaminantes em Biomateriais, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR. ⁽³⁾ Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR.

A aflatoxina M1 (AFM1) é uma micotoxina resultante da hidroxilação da aflatoxina B1 (AFB1), contaminando principalmente o leite de animais que ingeriram ração contendo sua precursora. O leite é considerado um alimento ideal que atende às necessidades nutricionais e imunológicas de seres humanos de todas as faixas etárias, especialmente as crianças. Considerado o papel do leite na nutrição humana, questões relacionadas à segurança e garantia de qualidade deste alimento são de extrema importância. Neste contexto, este estudo avaliou a ocorrência de AFM1 em amostras de leite cru (n = 20) coletadas durante o mês de novembro de 2017 em fazendas de Pelotas-RS, bem como a sua correlação com parâmetros de qualidade do leite (Contagem de células somáticas - CCS, gordura, proteína, lactose e sólidos totais). As determinações de AFM1 foram realizadas utilizando extração tipo QuEChERS e cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência (HPLC-FL), a CCS foi realizada por citometria de fluxo e por fim, as características físico-químicas através de infravermelho. Todas as amostras foram avaliadas em triplicata e a correlação foi analisada estatisticamente usando o PAST versão 3.02. A AFM1 foi detectada em 100 % das amostras na faixa de 0,14 - 1,32 µg L⁻¹ com nível médio de 0,68 µg L⁻¹. Das amostras analisadas, 60 % excederam o limite máximo permitido para AFM1 no Brasil e no MERCOSUL (0,5 µg kg⁻¹). Quanto a CCS, 30 % das amostras estavam em desacordo com a Instrução Normativa nº 62 (NI 62) (400x10³ cels mL⁻¹). O conteúdo de gordura, proteína, lactose e sólidos totais foi em média de 3,60, 3,94, 4,14, e 12,71 (g/100g) (%). Apenas apresentou-se correlação significativa (p≥0,1) entre AFM1 detectada no leite cru coletado e o conteúdo de gordura, esta correlação foi baixa, com coeficiente de correlação de 0,37. No entanto, é necessário monitorar e estudar a presença de AFM1 no leite produzido buscando definir políticas públicas para o controle de micotoxinas e sua influência nos parâmetros de qualidade.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Organização dos Estados Americanos (OEA).

MI345

Avaliação da atividade antifúngica da curcumina sobre isolados de *Penicillium sp.* deteriorantes do pão

Mendes Poliana Dos Santos¹, Gonçalves Odinei Hess¹, **Marques Leila Larisa Medeiros¹**, Marchi Livia Benossi², Dos Santos Adriele Rodrigues¹, Leimann Fernanda Vitória¹, Perdoncini Márcia Regina Geraldo¹. ⁽¹⁾ Departamento de Alimentos, UTFPR, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, BR. ⁽²⁾ Programa de Pós-graduação em Ciências de Alimentos, UEM, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, BR.

O açafrão (*Curcuma longa L.*), conhecido também como cúrcuma, pertence à família das *Zingiberaceae*. Seu rizoma contém compostos curcuminoides onde se destaca a curcumina, que tem apresentado várias propriedades farmacológicas, dentre elas a antimicrobiana. Produtos de panificação são suscetíveis à contaminação fúngica, necessitando desta forma de conservantes para o prolongamento da vida de prateleira. Dentre os fungos deteriorantes do pão estão algumas espécies do gênero *Penicillium*, como *P. citrinum* e *P. panemum*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da curcumina sobre a inibição do crescimento de dois isolados *Penicillium* isolados de pães deteriorados, o *Penicillium panemun* e o *Penicillium citrinum*. Para identificação dos fungos foram feitas análises morfológicas e identificação molecular baseada no sequenciamento da região ITS1-5.8S-ITS2. Os ensaios de concentração inibitória mínima (CIM) seguiram a norma M38A-CLSI. Para verificação do crescimento micelial e do peso seco, utilizou-se meios testes, com diferentes concentrações de curcumina e meios controle, sem curcumina. Na CIM, foi possível observar que em concentrações mais elevadas de curcumina houve maior inibição fúngica. *Penicillium panemun* apresentou maior inibição pela curcumina onde a CIM foi 1,25% e *Penicillium citrinum* foi 5%. Todos os isolados inoculados em meio teste obtiveram diferença significativa no tamanho do micélio e peso seco quando comparados ao meio controle, demonstrando uma diminuição do crescimento micelial em relação ao aumento concentração da curcumina no meio. Em concentração de 3% de curcumina a porcentagem de inibição micelial (IM) para *Penicillium panemun* foi 56,25% e inibição de peso seco (IPS) foi 97,35%, enquanto que *P. citrinum* a IM foi 23,07% e IPS foi 82,75%. Em nenhuma das concentrações testadas houve inibição total do crescimento micelial e peso seco dos fungos. Conclui-se que a curcumina provoca inibição, diminuindo significativamente o crescimento de *Penicillium citrinum* e principalmente *Penicillium panemun*. Os resultados mostram o uso promissor da curcumina no prolongamento da vida de prateleira em produtos de panificação.

MI346

A atividade biológica de vinhos da variedade Merlot brasileiros em *Saccharomyces cerevisiae*

Mendes Sandra D.C.¹, Arcari Stefany Grützmann², Silvana Dallazem¹. ⁽¹⁾ Estação Experimental de Videira, Epagri, Videira, BR. ⁽²⁾ IFSC - Campus São Miguel do Oeste, Instituto Federal de Santa Catarina, São Miguel do Oeste, BR.

Os polifenóis são considerados responsáveis por alguns dos benefícios para a saúde resultado do consumo de vinho tinto. No entanto, a complexidade dos constituintes polifenólicos de diferentes vinhos torna difícil esclarecer a contribuição específica dos polifenóis para tais efeitos que atuam na manutenção do equilíbrio entre os níveis de ROS e as defesas antioxidantes celulares. Nesse estudo, foi avaliada a capacidade de vinhos Merlot brasileiros de proteger diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae* contra o estresse oxidativo causado pelo peróxido de hidrogênio. Dezesete amostras de vinho tinto da variedade Merlot, safras de 2006 a 2013, produzidos na região Sul do Brasil foram filtradas em membrana de 0,22 µm. Com os vinhos filtrados determinou-se o conteúdo fenólico total e atividade antioxidante *in vitro* pelo radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). *In vivo*, os vinhos foram avaliados quanto à capacidade de proteger as células de *S. cerevisiae* do estresse oxidativo induzido por H₂O₂. Foram usadas linhagens EG103 selvagem (WT) e seus mutantes isogênicos *ctt1Δ*, *sod2Δ*, *sod1Δ*, bem como uma linhagem comercial de *S. cerevisiae* (CLIB2048). Os resultados da determinação de conteúdo de polifenol foi entre 280 e 300 mg L⁻¹. O método DPPH verificou a alta atividade dos vinhos e indicou os sequestrantes de radicais mais ativos, representando aproximadamente 43,96% do total de eliminação. Além disso, houve uma significativa proteção antioxidante de polifenóis para a linhagem comercial CLIB2048, linhagem isogênica e os mutantes *sod1* e *cct1* em ambas as condições metabólicas ensaiadas conforme as regiões proveniente Planalto Catarinense (SC), Altos Montes (RS), Vale dos Vinhedos (RS) e Serra Sudeste (RS). Os tratamentos com os vinhos induziram um aumento significativo na atividade da enzima catalase, o qual foi revertido de forma dose-dependente pela adição prévia de vinhos como observado nos vinhos proveniente de Altos Montes (RS), especificamente na amostra de vinho AM08 com taxa de sobrevivência (9,55±0,01%). Não foram verificadas alterações significativas das linhagens *Sod2Δ* (0,26±0,00%) e WT (5,14±0,01%) tratada com H₂O₂. Estes dados indicam uma importante atividade antioxidante e/ou pró-antioxidante do conteúdo de polifenóis na variedade Merlot em função da região, safra ou condições de armazenagem.

Epagri e CAPES

MI347

Evaluation of the probiotic effect of *Saccharomyces cerevisiae* UFMG A-905 in a murine model of food allergy

Vivian Miranda¹, Spencer Santos¹, Karen Costa¹, Mônica Quintanilha¹, Rodrigo Morão¹, Gabriele Moreira¹, Jacques Nicoli¹, Denise Cara², Flaviano Martins¹. ⁽¹⁾ Microbiology, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽²⁾ Morphology, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, BR.

It is estimated that only in the US health care system billions of dollars are spent annually on the treatment of food allergy. Food allergy is triggered when the immune system is abnormally activated by food allergens. Symptoms of food allergy can range from abdominal pain to the most severe anaphylactic cases. The treatments to relieve these symptoms are not capable of prevent the allergic reactions. Therefore, the development of new strategies that attenuate the allergic reactions is essential to improve the life quality of the patients. One of the strategies that have been investigated is the use of probiotics due to its immunomodulatory properties. Due to the genetic similarity between *Saccharomyces boulardii*, that is already commercialized, and *Saccharomyces cerevisiae*, it is interesting to investigate the potential probiotic properties of others *S. cerevisiae* strains. Therefore, the aim of this study is to evaluate the probiotic effect of *S. cerevisiae* UFMG A-905 in an *in vivo* model of food allergy, analyzing clinical and immunological parameters. For this purpose, Balb/c mice were immunized subcutaneously with ovalbumin (OVA) (day 0). After 14 days they received a second immunization. The control group received only the adjuvant with saline by day 0 and only saline on day 14. On day 18, mice received daily an oral dose of 1×10^8 CFU of *S. cerevisiae* UFMG A-905 until the end of the experiment (day 28). The control group received only saline. On day 21 the mice were challenged with a diet containing OVA. On day 28 mice were euthanized. During all the experiment, the weight lost and food consumption were evaluated daily. For immunological parameters, myeloperoxidase and eosinophilic peroxidase activities were evaluated. Oral administration of *S. cerevisiae* UFMG A-905 led to significant ($p < 0.05$) and discrete decreases in the recruitment of neutrophil and eosinophil, respectively, in mice with OVA allergy, attenuating the inflammatory response.

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior



MI348

Bacteria láctica chilena antagoniza con *Pseudomonas* alterantes de pollo *in vitro* e *in situ*, pero no logra extender significativamente la vida útil de la carne para su uso industrial

Pabla Morales¹, Miriam Troncoso¹, Guillermo Figueroa¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Un método innovador para controlar patógenos y extender la vida útil de la carne bovina, es el uso de bacterias lácticas. Sin embargo, poco se conoce sobre su efecto en el pollo, y menos sobre bacterias alterantes. A nivel nacional, las principales alterantes del pollo envasado en aerobiosis son *Pseudomonas* sp. y principalmente *P. fragi*. Nuestro objetivo fue evaluar si cepas lácticas tienen potencial bio-controlador con *Pseudomonas* y evaluar si este antagonismo se trasunta en una mayor vida útil de la carne de pollo. Se enfrentó una *P. fragi* prevalente en carne de pollo nacional (≈ 103 UFC/mL o cm²), frente a 3 bacterias lácticas (≈ 106 y 108 UFC/mL o cm²) en TSBYE pH 5,7-5,9 y pollo irradiado. Posteriormente se inoculó carne de pollo cruda con la cepa láctica (108 UFC/cm²) antagonista en la fase anterior. Los ensayos se incubaron a 8°C, incluyeron recuentos de *Pseudomonas* en el tiempo utilizando agar selectivo CFC y utilizaron como control (T0) a *Lactobacillus sakei* CECT4808 por antagonizar a *Pseudomonas* sp. en carne bovina al vacío. Se evaluó si las cepas lácticas antagonizan con *Pseudomonas* en el tiempo mediante modelo lineal general y mixto (MLGM, Infostat®). Para evaluar la vida útil de la carne cruda se predijo el tiempo en que *Pseudomonas* alcanza los 107 UFC/cm² (límite de deterioro) mediante DMFit. En TSBYE 2/3 cepas tienen potencial bio-controlador a 108 UFC/mL y 1/3 a 106 UFC/mL, observándose hasta 5 log de diferencia en el recuento de *Pseudomonas* en el día 4 al comparar con T0. Esta diferencia se mantiene en el tiempo. En carne irradiada el efecto bio-controlador es menor, sólo 1 cepa a 108 UFC/cm² genera diferencias <1 log con respecto a T0 los días 2 y 3, pero no en el 4. En carne cruda la cepa potencial bio-preservante retrasa la multiplicación de *Pseudomonas* en el tiempo, aumentando la vida útil del pollo en ≈ 13 hrs. En conclusión, una cepa láctica chilena antagoniza con *Pseudomonas* en TSBYE y en carne de pollo crudo a 8°C, y aunque este efecto extiende su vida útil, la magnitud de la extensión no es suficiente para la industria.

Beca Conicyt folio número 21120298

MI349

Utilização de diferentes meios de produção para obtenção de xantana por *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* cepa 31

Munhoz Adriel Penha¹, Becker Jackson Gabriel², Montano Matheus Acevedo², Oliveira Patrícia Diaz³. ⁽¹⁾ Laboratório de Biopolímeros, Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimento, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Biopolímeros, Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR. ⁽³⁾ Laboratório de biopolímeros, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR.

A xantana utilizada no Brasil é oriunda de importações, entretanto o país dispõe de recursos para produção deste biopolímero industrialmente. O Laboratório de Biopolímeros (UFPel – Brasil) dispõe de uma bacterioteca com diferentes cepas de *Xanthomonas* com potencial aplicação industrial. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi analisar a produção de xantana sintetizada pela bactéria *Xanthomonas arboricola* pv *prunicepa* 31 em dois meios de produção. O inóculo foi preparado com meio Yeast Malt. Quando o valor de densidade óptica (DO600nm 1,0) foi atingido, 50 mL do inóculo foram transferidos para 200 mL dos meios de produção MPI+II (A) contendo (g.L-1): 50 sacarose; 1,5 NH₄H₂PO₄; 2,5 K₂HPO₄; 5,0 KH₂PO₄; 2,0 (NH₄)₂SO₄; 0,3 MgSO₄; 2,0 C₆H₈O₇; 0,006 H₃BO₃; 0,0024 FeCl₃; 0,002 CaCl₂.2H₂O; 0,012 ZnSO₄; e para o meio MPII (B) contendo (g.L-1): 50 sacarose; 1,5 NH₄H₂PO₄; 2,5 K₂HPO₄; 5,0 KH₂PO₄; 2,0 (NH₄)₂SO₄; 0,3 MgSO₄. Inicialmente, o pH dos meios foi ajustado para 7,0. Os cultivos foram realizados em triplicata em agitador orbital (28 °C - 200 rpm - 72 h). Alíquotas foram retiradas em 0, 24, 48 e 72 h, centrifugadas e o pH do sobrenadante mensurado. A precipitação foi realizada com etanol e o biopolímero seco em estufa. A produção foi avaliada pelo peso do produto seco em relação ao volume de caldo (g.L-1) e a viscosidade foi medida. A produção de xantana em 72 h atingiu valores de 10,57±0,69 e 18,19±0,55 g.L-1 para os meios A e B, respectivamente. Os valores de pH decresceram durante o cultivo, em 72 h foram de 5,07±0,02 para o meio A e 5,25±0,03 para o B. Na análise da viscosidade, para as amostras de 72 h, foi observado comportamento pseudoplástico característico e na taxa de cisalhamento de 19 s-1, foram obtidos valores de 47,3 e 68,2 mPa.s para os meios A e B, respectivamente. A literatura preconiza a utilização de meios contendo elementos traço como o meio A. Entretanto observou-se que, para esta cepa, a utilização do meio com composição mais simples (B) levou a melhores resultados e que a diferença entre as composições influenciou na produção e viscosidade da xantana.

Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)



MI350

Antimicrobial activity of wheat gluten films added of turmeric extract

Daiane Nogueira¹, Das Neves Claudia Bandeira¹, Martins Vilásia Guimarães¹. ⁽¹⁾ Escola de Química e Alimentos, Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, BR.

The use of natural materials in the development of food packaging has increased significantly in the last decade. Among these raw materials, wheat gluten presents interesting characteristics for the development of biodegradable films. These films could be added of antimicrobial compounds, which will interact with the packaged product, increasing its shelf life. Turmeric is a natural compound with antimicrobial and antioxidant activity and has a high potential to be used in the development of active packaging. Thus, the objective of the present study was to evaluate the antimicrobial activity of the wheat gluten film added of turmeric extract. The wheat gluten films were produced through the casting method in a concentration of 5%. The turmeric extract was added in the filmogenic solution in different concentrations (0, 1, 5 and 10%). The antimicrobial activity of the extract and the films was evaluated by the disc diffusion test, in viable strains of *Staphylococcus aureus* (ATCC 832) and *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 43895). Inhibition halos formed by the turmeric extract in the *S. aureus* colonies were significantly higher when compared to the halos formed in *E. coli*, 17 mm and 8 mm, respectively. Wheat gluten films without extract, with 1%, 5% and 10% of extract showed no antimicrobial activity against strains of *E. coli*, however films with 10% of extract formed 7 mm inhibition halo for *S. aureus* strains. The higher activity against to *S. aureus* can be attributed to the fact that it is a Gram positive bacterium, which has a simpler cell wall when compared to Gram negative *E. coli*, which has a complex cell wall with a higher lipid content. The low antimicrobial activity presented by the films can be attributed to the low concentration of turmeric extract in the filmogenic solution or the interaction between the gluten proteins and the phenolic compounds of the extract, leaving less amount of compounds available for antimicrobial action. The results suggest the possibility to develop an active packaging using wheat gluten and turmeric extract, leading to an increase in the shelf life of food products.

MI351

Qualidade microbiológica de saladas cruas, cozidas e mistas de restaurantes hospitalares

Velame Marise Santiago¹, Sampaio Aryele Nunes¹, Garcia Lorena Natalino¹, Santos Amanda Oliveira¹, Maeda Isabel Cabral¹, Oliveira Sarah Cristina¹, Castro Bruna Godoi¹, Possebon Fábio Sossai¹, Baldini Eduardo Delbon¹, Martins Otávio Augusto¹. ⁽¹⁾ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu, BR.

Uma dieta rica em legumes, verduras e frutas é importante para a manutenção da saúde de pacientes e de profissionais em restaurantes hospitalares. Os perigos microbiológicos são as principais causas de contaminação dos alimentos e a manipulação realizada de forma inadequada poderá levar a um comprometimento da segurança do alimento. O presente trabalho tem por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de diferentes saladas fornecidas em restaurantes hospitalares. Foram três tipos de saladas: salada crua (SCr), salada cozida (SCo) e salada mista com ingredientes de origem vegetal e/ou animal (SVA). As saladas SCr ($n = 67$), SCo ($n = 69$) e SVA ($n = 23$) foram coletadas de restaurantes hospitalares de órgãos públicos e privados nas regiões de Bauru e Botucatu do Estado de São Paulo, Brasil, totalizando 159 amostras. Os ensaios microbiológicos foram contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, NMP de coliformes a 35°C, NMP de coliformes a 45°C e pesquisa de *Salmonella* sp. de acordo com os métodos microbiológicos para análise de alimentos da Instrução Normativa no 62 de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil. As saladas SCo e SVA apresentaram contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva superior a 10^3 UFC/g de 1,49 % e 4,35 %, respectivamente. NMP de coliformes a 35°C das saladas SCr, SCo e SVA superiores a 10^2 /g foram 86,57 %, 68,12 % e 86,96 %, respectivamente. No que diz respeito aos NMP de coliformes a 45°C, os resultados das saladas SCr, SCo e SVA superiores a 10^2 /g foram 1,49 %, 14,49 % e 4,35 %, respectivamente. *Salmonella* sp. estava ausente nas saladas SCr, SCo e SVA. Com base nesse trabalho, concluímos que (a) qualidade microbiológica das saladas SCr, SCo e SVA é preocupante para o consumo de pacientes e profissionais nos restaurantes hospitalares pela péssima condição higiênica; e (b) os gestores precisam intensificar a fiscalização sanitária na produção de saladas evitando possíveis contaminações.



MI352

Identificación de enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* aisladas desde matrices ambientales durante los años 2011-2018

Esteban Paredes-Osses¹, Fernanda Escobar¹, Gonzalo Sanhueza¹, Maria Cristina Martinez¹. ⁽¹⁾ Salud Ambiental, Microbiología de Alimentos, Microbiología de Alimentos, Instituto de Salud Pública, Santiago, CL.

Introducción: *Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram positiva que es llevado por cerca de un tercio de la población general. Este microorganismo es responsable tanto de enfermedades comunes como complejas, dentro de las que se incluye la intoxicación alimentaria y el síndrome de shock tóxico que son causados por enterotoxinas producidas por *S. aureus*. Hasta la fecha se han identificado 23 diferentes tipos de enterotoxinas y sus mecanismos de acción involucran actividad como superantígenos y propiedades eméticas. Estas proteínas son resistentes a denaturación lo que les permite permanecer intactas en comida contaminada y por tanto generar brotes de intoxicación. Para su detección los métodos moleculares son los más utilizados. **Métodos:** En el presente estudio se dispuso de 299 cepas obtenidas a partir de muestras de alimentos (provenientes de intoxicaciones alimentarias y también producto de vigilancia desde las SEREMIs de Salud del país). Las muestras fueron analizadas utilizando la técnica de PCR múltiple convencional con partidores específicos para las enterotoxinas A, B, C, D, E, G, H, I e J. **Resultados:** Los resultados indican que las enterotoxinas más frecuentes son la A (44%), B (33%) y también G y H (26% cada una), mientras que los perfiles enterotoxigénicos más frecuentes fueron A (20.4%), B (11.7%), BH (10%), y AH (8.3%). **Conclusiones:** Estos resultados nos permiten identificar la presencia de una variedad de cepas de *S. aureus* que circulan en nuestro país, específicamente en nuestros alimentos. El estudio posterior de otros factores de virulencia, en conjunto con la identificación de enterotoxinas, podría permitir una temprana alerta de casos de intoxicación que suceden en nuestra población.

MI353

Caracterización fenotípica y molecular de cepas chilenas de *Cronobacter sakazakii*

Miriam Rosa Troncoso¹, Pabla Morales¹, Julio Parra², Fabiola Cerda², Juan Aguirre⁴, Wladimir Vega³, Pamela Martínez³, Francisca Castro¹, Guillermo Figueroa¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Grupo de Epidemiología y Microbiología molecular de patógenos en Alimentos, Facultad Ciencias de la Salud y de los Alimentos, Universidad del Bío-bío, Chillán, CL. ⁽³⁾ Escuela de Industria Alimentaria y Biotecnología, Facultad de Ciencias Naturales, Matemática y del Medio Ambiente, Universidad Tecnológica Metropolitana, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Departamento de Agroindustria y Enología, Universidad de Chile.

Introducción: *Cronobacter sakazakii* es un patógeno emergente ubicuo, causante de infecciones mortales en lactantes menores por consumo de fórmulas contaminadas. La resistencia a antibióticos y factores de virulencia están directamente relacionada con la severidad de la enfermedad causada por este patógeno. **Objetivo:** Caracterizar 32 cepas de *C. sakazakii* mediante estudios fenotípicos y moleculares, aisladas en Chile entre 2013 y 2018. **Metodologías:** Las cepas provenían de leche (n=23), medio ambiente (n=4) y otros alimentos (n=5). Los cultivos se realizaron con la metodología propuesta por la BAM-FDA. En las colonias se determinó la producción de pigmento y los morfotipos en medio cromogénico (Merck). La susceptibilidad a antibióticos se investigó mediante el test de Kirby & Bauer. Todas las cepas fueron sometidas a un PCR múltiple basado en los genes *rpoB* y *gyrB* de *Cronobacter*. Finalmente, todas ellas se caracterizaron mediante PFGE (*XbaI*) según protocolo recomendado por la PulseNet-CDC. **Resultados:** Todas las cepas resultaron pigmentadas de amarillo y 31/32 presentaron un fenotipo típico en medio cromogénico. Se detectó alta resistencia a Cefalotina (79%), y menores a Ceftazidima (45%), Ampicilina (34%), Amoxi-clavulánico (10%) y Ácido Nalidíxico (10%). Todos los aislados fueron sensibles a Ciprofloxacino, Gentamicina, Tetraciclina y Cloranfenicol. Los ensayos de PCR confirmaron a 31/32 aislados como *C. sakazakii* (amplicones 151 y 554 pb). La caracterización por PFGE detectó 18 grupos clonales con >90% similitud; 11 incluyeron un genotipo único y 7 entre 2 o 5 subtipos con perfil genético similar. Llama la atención que en 2 muestras de leche se detectó 2 pulsotipos diferentes en cada una y ambas se relacionaban clonalmente con las detectadas en el ambiente de la misma planta. En 3 grupos clonales se incluyeron muestras provenientes de distintas fuentes. **Conclusiones:** El complemento de un medio cromogénico y la PCR múltiple fueron útiles para confirmar cepas de *C. sakazakii*. El PFGE permitió evidenciar gran variabilidad entre las cepas y contaminación cruzada en una planta procesadora de leche. Los resultados muestran la urgencia con que la industria láctea debería aplicar planes HACCP para asegurar la inocuidad de los productos que se entregan al mercado.

MI354

Detección de *Escherichia coli* productora de toxina shiga (STEC) en carnes de vacuno y cerdo de producción nacional por metodología iso/ts 13136:2012

Leonardo Farias Farias⁴, Maricel Vidal¹, Esteban Paredes⁴, Viviana Cachicas⁴, Marcelo Ulloa², Mónica Jara⁴, Alda Fernandez⁴, Sergio Duarte³, Daniel Ibañez³, María Cristina Martínez⁴. ⁽¹⁾ Laboratorio Ambiental, Seremi Salud Región Metropolitana, Santiago, CL. ⁽²⁾ División de Políticas Públicas Saludables y Promoción, Subsecretaría de Salud Pública, Santiago, CL. ⁽³⁾ Biomédico Nacional, Bacteriología Clínica, Instituto de Salud Pública, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Salud Ambiental, Microbiología de alimentos, Instituto de Salud Pública, Santiago, CL.

Introducción: *E. coli* productora de toxina Shiga es un patógeno emergente asociado a enfermedades transmitidas por alimentos, responsable de cuadros intestinales y síndrome hemolítico urémico en niños. **Objetivo:** Determinar la frecuencia de aislamiento de STEC en carnes de vacuno y cerdo de producción nacional. **Materiales y Métodos:** Entre julio-2016-mayo-2017 en la Sección Microbiología Alimentos, se analizaron 222 muestras de carne (209 vacuno, 13 cerdos) procedentes de SEREMIs Salud. La detección de genes de virulencia *stx1*, *stx2* y *eae* se realizó por PCR tiempo real ISO/TS 13136, en pre-enriquecidos (25g muestra + 225 mL APT), en *pools* de cepas y en cepas aisladas. Los pre-enriquecidos presuntivos positivos (presencia genes *stx1*, *stx2* y/o *eae*) se traspasaron a agar MacConkey-Sorbitol y Cromogénico EHEC para aislamiento. Se analizaron hasta 100 cepas por muestra presuntiva, realizando *pools* de hasta 10 cepas. Fueron serotipificadas en Bacteriología Clínica del ISP y confirmadas para los genes *stx1*, *stx2*, *eae* y *ehly*. **Resultados:** En 40 pre-enriquecidos se detectó presencia de genes: *stx1* (9), *stx2* (40) y *eae* (19). De los 40 pre-enriquecidos, se aislaron 22 cepas de STEC provenientes de 18 muestras (8.1%). Los serogrupos aislados: **O113** *stx2*, *ehly* (vacuno); **O116** *stx2*, *ehly* (vacuno), **O76** *stx1* (vacuno); **O22** *stx2* (vacuno); **O83** *stx2* (vacuno); **O121** *stx2* (vacuno); **O171** *stx2* (vacuno); **O185** *stx2* (vacuno) y 11 cepas no tipificables con presencia de alguna de las toxinas. **Conclusión:** En 18 de 40 muestras con detección presuntiva fue posible aislar STEC, indicando una buena recuperación del método. El gen *stx2* fue detectado en 20/22 cepas aisladas, siendo el gen que codifica la toxina de mayor virulencia. En Chile, el principal aislamiento clínico corresponde a *E. coli* O157, O26 y O111. En este trabajo los serotipos identificados (O113, O121, O116, O76, O22, O83, O171 y O185) no corresponden a los más prevalentes, esto se explicaría porque la identificación clínica no está dirigida a estos serotipos. La detección de STEC en muestras de carnes consumidas en nuestro país, constituye información epidemiológica relevante que permitirá fortalecer y mantener las políticas de inocuidad de alimentos promovidas por la autoridad de salud.



MI355

Caracterización de toxinotipos presentes en cepas de *Clostridium perfringens* aisladas desde matrices alimentarias, año 2016–2018

María Cristina Martínez¹, Constanza Aroca¹, Leonardo Farías¹, Mónica Jara¹, Esteban Paredes¹. ⁽¹⁾ Salud Ambiental, Sección Microbiología de Alimentos, Instituto de Salud Pública de Chile, Santiago, CL.

Introducción: *Clostridium perfringens* es una bacteria Gram positiva, anaerobia y formadora de esporas. Entre sus factores de virulencia se encuentra la producción de toxinas. En base a la presencia de una o más toxinas, se han descrito 5 tipos de cepas o toxinotipos (A-E). En Chile no se ha descrito cuál sería el toxinotipo prevalente. Las SEREMI de Salud regionales realizan la vigilancia de alimentos, en el caso de detección de *C. perfringens* ya sea por vigilancia o intoxicación alimentarias, las cepas son enviadas al ISP para el análisis de toxinas. El objetivo de este estudio fue conocer los toxinotipos presentes en cepas de *C. perfringens* aisladas de matrices alimentarias. **Métodos:** Entre 2016 y 2018, en la Sección Microbiología de Alimentos se recibieron y analizaron 25 cepas de *C. perfringens*. Se verificó pureza y viabilidad en caldo Cooked meat a 35°C en condiciones de anaerobiosis. Se les realizó extracción de ADN utilizando kit comercial (QIAGEN). Por PCR se evaluó la presencia de genes específicos para las siguientes toxinas: alfa, beta, beta2, épsilon, iota y enterotoxina. Los productos PCR fueron visualizados a través de electroforesis y transiluminador UV. **Resultados:** Las 25 cepas contenían el gen *cpa* que expresa la toxina alfa, además dos de éstas contenían el gen *cpb2* para la toxina beta2 y una el gen *cpe* de enterotoxina. **Conclusiones:** Estos resultados indican que las cepas de *C. perfringens* aisladas de matrices alimentarias, se identificarían principalmente con el toxinotipo A, debido a la presencia de gen de toxina alfa (*cpa*). Por otro lado, se detectaron 3 cepas poco comunes, que incluyen la presencia de una cepa que contiene el gen de enterotoxina (*cpe*). Estudios posteriores de análisis genómico podrían ayudar a entender el origen de estas cepas y su relación con cepas clínicas.



MI356

Evaluación de la calidad microbiológica y fisicoquímica de leche cruda de pequeños productores del Departamento de Risaralda – Colombia

Adalucy Alvarez-Aldana¹, Fernando Siller-López¹, Diana Marcela Castro Giraldo¹, Keren Maria Arango Montoya¹.

⁽¹⁾ Programa de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Libre, Pereira, CO.

Introducción: Para el año 2016, la ENA (Encuesta Nacional Agropecuaria) del DANE, reportó que el Departamento de Risaralda tiene un hato vacuno de 15.112 hembras en ordeño que producen 169.749 litros diarios. El Decreto 616 de 2006 y el Decreto 1880 de 2011 establece para la determinación de la calidad fisicoquímica, microbiológica y sanitaria de leche cruda el porcentaje de grasa y densidad, recuento de células somáticas y recuento de microorganismos mesófilos. Esto con el fin de establecer la calidad de la materia prima que se emplea en la producción del queso fresco. Esta investigación se llevó a cabo con el fin de fortalecer el sector ganadero de la región, principalmente al sector lechero más vulnerable como son los pequeños productores. **Objetivo:** Evaluar la calidad microbiológica y fisicoquímica de leche cruda de pequeños productores del Departamento de Risaralda, Colombia. **Metodología:** Se analizaron 47 muestras pertenecientes a los municipios de Apia, Guática, Quinchía, Santuario, Marsella, Santa Rosa, Pereira y Dosquebradas. Se tomaron 10 mL para el análisis microbiológico (mesófilos aerobios) mediante recuento en placa, 25 mL para análisis fisicoquímico (porcentaje de grasa, sólidos, proteína, lactosa y densidad) mediante la lectura en quipo ECOMILK. El análisis sanitario (recuento de células somáticas, RCS) se le realizó a 12 muestras por citometría de flujo y realizado por el Consejo Nacional de la Calidad de la Leche y Prevención de la Mastitis (CNLM). **Resultados:** De las 47 muestras analizadas, 14 presentaron recuentos de microorganismos mesófilos altos (29.87%), seis muestras presentaron porcentaje de grasa por debajo del valor mínimo (12.8%) y 40 muestras no cumplen con el valor de densidad (85.1%). En cuanto al recuento de células somáticas (RCS), 7 muestras presentan recuentos altos (58.3%). **Conclusiones:** La calidad microbiológica de las muestras en general cumplen la normatividad colombiana. Por el contrario, en cuanto a la calidad sanitaria en Colombia no hay normatividad, y asumiendo los estándares internacionales, la mayoría estuvo por encima de 400.000 células/ml. Se debe entonces seguir trabajando en el control de mastitis subclínica, brindar capacitación y mejorar las condiciones de producción y transformación lechera que influencia directamente el rendimiento quesero.

Fondo de Ciencia y Tecnología del Sistema General de Regalías de Colombia



MI357

Bacterias Ácido Lácticas capaces de inhibir *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* en carne molida de bovino

Saúl Hernández-Aquino¹, Luis Alberto Miranda Romero¹. ⁽¹⁾ Departamento de Zootecnia, Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, MX.

Un problema recurrente que afecta la calidad y la vida útil de la carne y sus derivados, es la contaminación microbiológica. La contaminación por patógenos es un problema recurrente y el rompimiento de la cadena de frío aumenta la probabilidad de adquirir una enfermedad transmitida por alimentos. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad inhibitoria de bacterias ácido lácticas nativas de carne sobre *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* Se muestrearon diferentes comercializadoras de carne molida de bovino en la ciudad de Texcoco, mediante cultivo selectivo se aislaron 49 cepas de bacterias ácido lácticas (BAL), y como bacterias de referencia se aisló *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* Las BAL se identificaron por medio del API 50ch (BioMérieux). Por la técnica de difusión por disco de Kirby Bauer y el ensayo de difusión por disco de agar se seleccionaron las BAL capaces de inhibir ambas cepas de referencia. Posteriormente se realizaron cinéticas de crecimiento en monocultivo y cultivo mixto en infusión de corazón y cerebro para cuantificar la inhibición de las bacterias de referencia. Adicionalmente, se inoculó, a carne de bovino, con las bacterias de referencia (3 log UFC g⁻¹), y a su vez también BAL (4 log UFC g⁻¹). La carne inoculada se incubó a 37°C y 4°C y se determinó la capacidad inhibitoria de las bacterias ácido lácticas. Las curvas de crecimiento se ajustaron mediante el modelo logístico logístico (Fujikawa, 2010). De las 49 bacterias ácido lácticas solo cinco mostraron capacidad inhibitoria para ambas bacterias de referencia en medio de cultivo, mientras que solo tres en carne. El efecto inhibitorio se observó en ambas temperaturas, y fue mayor a temperatura de refrigeración. Por lo que se concluye que la carne bovina contiene una microbiota natural de BAL con capacidad de inhibir patógenos, y estas podrían utilizarse como bio-conservadores de carne.

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), México.

MI358

Condições microbiológicas e sensoriais do pescado para consumo no mercado público de Macau, Rio Grande do Norte

Sandja Fernandes¹, Lílian Vieira¹, Sara Cordeiro¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

Introdução: Em Macau, cidade localizada no litoral norte potiguar, as condições higiênico-sanitárias insatisfatórias do mercado público Municipal atrelada à falta de conhecimento das boas práticas pelos manipuladores comprometem a qualidade do pescado, que é muito procurado naquele local, para consumo da população, bem com uma das principais fontes de renda e de alimentação é o pescado. O peixe não agrega só valor econômico e sim acrescenta um valor nutricional e melhor qualidade de vida. Sabe-se. **Metodologia:** Para o desenvolvimento do trabalho, foi necessário inicialmente identificar as espécies de maior comercialização no município. Após essa identificação, que foi realizada através de pesquisa direta com os comerciantes de pescado do mercado de peixe de Macau, foi realizada a coleta das amostras dos peixes Carapeba, Salema e Tainha no mercado público municipal, para enviá-las ao laboratório do Instituto. Em seguida as amostras do pescado foram enviadas ao laboratório para que fossem analisados seus parâmetros sensoriais e microbiológicos, transportadas em caixa térmica e com gelo para refrigeração das amostras. **Resultados:** Com relação à análise sensorial, todas as amostras obtiveram os mesmos resultados, quanto as características microbiológicas, houve um resultados diferente. Esses resultados mostram que os peixes estavam com bom aspecto e em condições visuais de consumo, obedecendo aos padrões de comercialização. Os resultados obtidos após a realização da análise feita nas colônias crescidas em meio Agar SS, em cada placa das amostras dos peixes Carapeba, Salema e Tainha, comercializados no mercado municipal de Macau, para a presença de *Salmonella*, *Shigella* e *E. coli* estão apresentados na tabela 2, num total de 90% das com contaminação pela bactéria entérica *Salmonella*, 8% de *E. coli* e 0% de *Shigella*. **Conclusão:** Partindo deste pressuposto torna-se indispensável à elaboração e aplicação de um programa que apresente como objetivo a conscientização bem como a orientação dos manipuladores do pescado, através de treinamentos e a distribuição de cartilhas contendo informações sobre o manuseio adequado, a higiene das instalações, dos manipuladores e dos equipamentos, informações sobre o manuseio adequado, a higiene das instalações, dos manipuladores e dos equipamentos.

MI359

Detección y caracterización genotípica de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) y *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) en terneros neonatales

Julia Ruiz¹, Rocío Colello¹, Hernan Moscuza², Guadalupe Alvarez², Analía Etcheverría¹, Padola Nora Lía¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), CONICET, CICPBA, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA ⁽²⁾ Cátedra de Clínica Médica y Quirúrgica de Rumiantes, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA, CABA, AR

Las ETA constituyen un problema sanitario y económico de relevancia mundial debido a la ingestión de alimentos o agua contaminados. STEC está asociado a casos esporádicos de colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. Su principal reservorio es el bovino. Tiene la capacidad de producir y liberar toxinas Shiga (Stx1 y Stx2), otros factores de virulencia como la intimina, codificada en el gen *eae* y el gen *ehxA* codificado en un megaplásmido. ETEC causa patologías en el humano por desequilibrio hidroeléctrico de las células de la mucosa intestinal por producción de toxinas termolábil (LT) y/o termoestable (ST) codificadas en los genes *lt* y *st*, respectivamente. La utilización de antibióticos ha sido de suma importancia para resolver infecciones, pero la presión sobre las poblaciones bacterianas condujo a la aparición de mecanismos de resistencia tales como los integrones. Estos son elementos genéticos capaces de integrar genes de resistencia a antibióticos. El objetivo fue detectar y caracterizar STEC y ETEC en terneros neonatales de tambo de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Se realizaron dos muestreos de 8 y 15 animales mediante hisopado rectal. Los hisopos fueron diluidos en 2 ml de solución fisiológica y sembrados en placas de agar MacConkey a 37°C durante 24 h. La presencia de genes de virulencia de STEC: *stx1*, *stx2*, *ehxA*, *eae* se determinó por PCR multiplex. La detección de los genes *lt* y *st* de ETEC e integrasas *int1* e *int2* se determinaron por PCR monoplex. Se lograron caracterizar 93 aislamientos. Se detectó 18,3% de STEC con los genes *stx1*, *ehxA* y *eae*, 3,2% con los genes *stx1* y *eae*, y 3,2% con el gen *eae*. En cuanto a ETEC, se detectó 2,15% de genes *st*. Del total de STEC y ETEC se obtuvo 28% que portaban el gen *int1* y 1,1% portaban los genes *int2*. Estos resultados indican que los terneros son portadores de cepas STEC y ETEC. Se detectaron aislamientos que poseían genes que codifican integrasas, siendo importante ya que la selección de cepas resistentes a los antibióticos contribuye al incremento de la emergencia de patógenos multiresistentes, incrementando la patogenicidad y morbilidad de estas cepas.

MI360

Factores de resistencia y adherencia encontrados en *Staphylococcus aureus* asociados a mastitis subclínica y su relación con aspectos clínicos en tambos de la cuenca lechera uruguaya

De Los Santos Rosario Isabel¹, Gonzalez Revello Alvaro Martin¹, Lucia Majul¹, Dario Hirigoyen^{2,1}, Andrés Gil Rodriguez³, Pablo Zunino⁴. ⁽¹⁾ Ciencia y tecnología de la leche, Facultad de Veterinaria., UDELAR, Montevideo, UY. ⁽²⁾ Director Regional, INIA La Estanzuela, Colonia, CL. ⁽³⁾ Estadística, Facultad de Veterinaria., UDELAR, Montevideo, UY. ⁽⁴⁾ Microbiología, IIBCE, Ministerio de Educación y Cultura, Montevideo, UY.

La mastitis, es una enfermedad endémica que genera grandes pérdidas en la cadena láctea. *Staphylococcus aureus* es el agente etiológico más común de la mastitis bovina. El biofilm que forma éste en la glándula mamaria de vacas con mastitis, contribuye a impedir la acción del sistema inmune del hospedero y los agentes antimicrobianos, permitiendo que la infección sea crónica. El locus *ica*, está involucrado en el sistema quórum sensing y juega un rol significativo en la producción de biofilm. La resistencia a la penicilina se asocia al gen regulador accesorio (*agr*) tipo I, donde las células no dependen tanto de la producción de biofilm, sino que también, se internalizan en las células epiteliales y persisten en mayor número en la glándula mamaria, que las de tipo II. Las cepas de *S. aureus* pertenecientes al *agr* tipo II tienden a una mayor formación de biofilm y a ser sensibles a la penicilina. En el presente trabajo, el objetivo fue identificar la presencia de factores de adherencia (genes *icaA* e *icaD*, formación de limo, producción de biofilm) en *Staphylococcus aureus* asociados a mastitis subclínica, y evaluar su susceptibilidad a la penicilina en relación con el tipo de *agr*. De 11 tambos pertenecientes a la cuenca lechera uruguaya, se identificaron fenotípicamente y molecularmente 21 *S. aureus*, determinándose su capacidad de producción de limo y biofilm a las 24 horas, la sensibilidad a la penicilina, así como la presencia de los genes *icaA*, *icaD* y tipo de *agr*. Todos los aislamientos presentaron los genes *icaA* e *icaD*. Asimismo, 2% fueron no productores de biofilms, 33% levemente productores, 60% moderados y 5% fuertemente productores. No se encontraron las asociaciones esperadas de tipo de *agr*, resistencia a penicilina y producción de biofilm. Sin embargo, estos aislamientos presentan características asociables a las mastitis subclínicas y crónicas que tienden en su mayoría a complicar el resultado del tratamiento según los antibióticos ensayados en cada tipo.

Comité de Coordinación en Investigación en Salud Animal (CCISA)

MI361

Detecção molecular do DNA de *Brucella* spp. no sangue de bovinos destinados ao abate sanitário no Brasil

Fernandes Thais Alves¹, Paulino Patrícia Gonzaga², Mota Júnior Miguel Angelo Leite², Gitti Clayton B.³, Santos Huarrisson Azevedo³, Nogueira Eduardo Bruno⁴, Sousa Márcio Reis P. De³. ⁽¹⁾ Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA), Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, BR. ⁽²⁾ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, BR. ⁽³⁾ Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública (DESP), Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, BR. ⁽⁴⁾ Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Estado do Paraná, Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR), Curitiba, BR.

A brucelose é uma zoonose com distribuição mundial que apresenta diversas vias de transmissão, ocorrendo principalmente por contato direto com animais infectados ou consumo de produtos de origem animal. Com mais de 500 mil casos anuais no mundo, causa impactos à saúde pública e prejuízos na produção animal. A prevenção desta patologia ocorre pela vacinação dos animais e controle da contaminação dos alimentos. A detecção da doença é feita de forma presuntiva nos animais, por testes sorológicos. No Brasil, as carcaças de bovinos reagentes positivos ou não a testes diagnósticos para brucelose, com lesão localizada, são destinadas ao consumo em natureza, após remoção das áreas atingidas. A ausência de sinais patognomônicos e a elevada prevalência de resultados inconclusivos suscita a necessidade do uso de métodos rápidos e mais específicos tal qual a PCR quantitativa em tempo real (qPCR). O objetivo deste trabalho foi verificar a presença do DNA de *Brucella* spp. no sangue de bovinos reagentes positivos em teste sorológico para brucelose destinados ao abate sanitário. As amostras de sangue de 29 bovinos, foram submetidas a análise de qPCR. A extração do DNA foi realizada com kit comercial DNeasy Blood and Tissue, Qiagen®. Os controles positivos e negativos foram obtidos por extração de DNA da vacina B19 e de um animal comprovadamente negativo respectivamente. Na realização da qPCR utilizou-se *primers* já descritos na literatura científica. Os dados de fluorescência e a construção de perfis de dissociação foram realizadas utilizando o StepOne™ software v. 2.3. Os produtos de qPCR amplificados foram identificados por análise da curva de dissociação obtendo-se 75,86% de animais positivos em contraste com 100% obtido nos métodos sorológicos. Os testes sorológicos de diagnóstico apresentam um baixo custo, entretanto podem gerar resultados falso-positivos ou ainda inconclusivos, devendo ser interpretados no contexto da incidência e fase clínica da doença, pelo uso de vacinação ou reações cruzadas devido infecções por outros micro-organismos. Com a qPCR foi possível identificar a presença do DNA de *Brucella* spp. no sangue dos bovinos avaliados podendo ser utilizado como método auxiliar na determinação do critério de julgamento assertivo pelo Serviço de Inspeção Sanitária no abate de bovinos.

Os autores gostariam de agradecer às seguintes Agências de fomento, Instituições e Laboratórios: CNPq; CAPES; UFRRJ; LASAVE-DESP/IV/UFRRJ; LIPOA-DESP/IV/UFRRJ; ADAPAR-PR e PPGCTA-UFRRJ.

MI362

Efecto de la administración de probióticos nativos sobre la microbiota intestinal y la diarrea neonatal en terneros de lechería

Sofía Fernández¹, Ignacio Ferrés², José Sotelo³, Pablo Zunino¹. ⁽¹⁾ Dpto. de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC, Montevideo, UY ⁽²⁾ Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur, Universidad de la República, Montevideo, UY ⁽³⁾ Dpto. de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC, Montevideo, UY

El uso de microorganismos nativos con capacidad probiótica puede ser una herramienta alternativa para el tratamiento y prevención de diversas patologías animales, como la diarrea neonatal de terneros. Las cepas TP1.3B (*Lactobacillus reuteri*) y TP1.6 (*Lactobacillus johnsonii*) fueron seleccionadas utilizando técnicas *in vitro* de evaluación de potencialidad probiótica (resistencia pH bajo, sales biliares, adhesión, entre otros). Luego fueron administradas en forma oral a terneros de lechería en dos ensayos *in vivo*, uno en primavera y otro en otoño. En cada ensayo se emplearon tres grupos de cinco animales (un grupo control, uno tratado con TP1.3B y otro con TP1.6). La administración empezó a los 5-8 días de vida y consistió en una dosis diaria (1×10^9 UFC) durante 10 días consecutivos. Se realizó el seguimiento de los animales por un mes (score fecal diario, incidencia de diarreas y peso) y se analizó la microbiota por secuenciación masiva del gen ribosomal 16S en los días 0, 10 y 21. La medida de score fecal consiste en la clasificación de las deposiciones diarias en una escala de 1 a 4 según su aspecto visual de consistencia, siendo el valor de 4 la consistencia más acuosa. En esta escala, valores de 3 y 4 se consideran diarreas. En ambos ensayos, el score fecal diario de ambos grupos tratados fue significativamente menor que el control. No se observaron diferencias significativas en los pesos de los animales aunque se observó una tendencia al aumento en los animales tratados. En cuanto a la incidencia de diarreas, el grupo tratado con la cepa TP1.3B presentó significativamente menos diarreas y el grupo tratado con la cepa TP1.6 mostró una tendencia de disminución de diarreas ($p=0,069$). La comunidad microbiana de los animales tratados con TP1.6 presentó índices de diversidad menores que el grupo control al día 10. Se encontraron diferencias en grupos bacterianos particulares, incluyendo una disminución de *Clostridium* spp. y un aumento de productores de butirato. Estos resultados indican que ambas cepas se presentan como promisorias para utilizarse como probióticos para terneros de lechería.

Este trabajo fue financiado con fondos de INIA (FPTA 325) y ANII (beca de Doctorado)

MI363

Evaluación de perfiles de virulencia de *Escherichia coli* asociada a mortalidad y diarrea neonatal en Uruguay

Magali Fernández¹, Déborah Ernst¹, Cecilia Monesiglio², Martín Fraga², Ana Umpiérrez¹, Pablo Zunino¹.

⁽¹⁾ Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, UY

⁽²⁾ Plataforma de Salud Animal, INIA La Estanzuela, Colonia, UY

Escherichia coli es un componente comensal de la microbiota intestinal de animales y humanos. Sin embargo, algunas cepas presentan genes que les confieren la capacidad de adaptarse a nuevos nichos y causar enfermedades. El objetivo del trabajo fue caracterizar aislamientos de *E. coli* provenientes de terneros neonatos fallecidos y compararlos con aislamientos de heces de animales con diarrea neonatal. Se caracterizaron 221 aislamientos provenientes de 17 animales fallecidos entre 2010 y 2017. Junto a 2 de los casos de mortalidad se procesaron 24 aislamientos de heces de terneros del mismo establecimiento, que no habían muerto, pero presentaban iguales síntomas que los 2 terneros fallecidos. Para la caracterización, se amplificaron secuencias parciales de genes de virulencia que codifican para intimina (*eae*), fimbrias F41 (*f41*), F5 (*f5*), F17 (*f17*), y Pap (*papC*), adhesinas no fimbriales CS31A (*clpG*) y Afa-VIII (*afa8E*), toxinas Shiga (*stx1/2*), factores necrotizantes (*cnf1/2*), enterotoxinas (*elt/estA*), toxinas de distensión citoletal (*cdt-III/IV*), hemolisina (*ehxA*) y aerobactina (*iuc-D*). La prevalencia de los genes fue: *iucD* (63%), *ehxA* (31%), *eae* (29%), *stx1* (27%), *afa8E* (25%), *papC* (20%), *f17A* (19%), *clpG* (13%), *f17GII* 10%, *f17GI* y *cnf1/2* (3%), *cdtIII* (2%) y, *stx2* y *cnf2* (1%). No se detectaron los genes *sfaD-E*, *saa*, *f41*, *f5*, *cdtIV*, *elt* ni *estA*. Se identificaron 39 perfiles de virulencia. Los más prevalentes fueron: *eae/stx1/ehxA/iucD* (14%); *iucD/afa8E* (10%); *iucD/clpG/papC* (7%); *papC* (6%); y *eae/stx1/ehxA*, *f17A/f17G(II)/iucD/afa8E* y *eae/stx1/ehxA/iucD/afa8E* (5%). Dos de los animales con diarrea presentaron aislamientos con igual perfil de virulencia que los del animal fallecido con el que convivían (*eae/stx1/ehxA*). La prevalencia de *eae*, *stx1* y *ehxA* en los aislamientos de mortalidad fue significativamente más elevada respecto de aquellas reportadas en estudios previos a partir de aislamientos de bovinos con diarrea neonatal (p -valor < 0,05). Los resultados sugieren una asociación positiva entre la presencia de estos genes y la mortalidad de los animales. Sin embargo, diversos factores como el estado inmunológico del animal o el manejo del establecimiento inciden en la evolución de una infección. Finalmente, es necesario realizar estudios que permitan determinar asociaciones clonales entre los aislamientos circulantes en animales con diarrea y fallecidos dentro del mismo establecimiento.

Financiación: INIA La Estanzuela, Proyecto “Estimación de la mortalidad de terneros en Uruguay” 2015-2017.

MI364

Isolamento de *Staphylococcus* spp. no leite de glândulas mamárias de vacas após o tratamento alternativo da mastite bovina

Ferreira Elka M.¹, Luiz Francisco Zafalon², Cunha Maria De Lourdes R.S.³, Lea Chapaval², Wilson Malagó Junior², Teresa Cristina Alves⁴. ⁽¹⁾ Medicina Veterinária Preventiva, Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, BR. ⁽²⁾ Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, São Carlos, BR. ⁽³⁾ Departamento de Microbiologia e Imunologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, BR. ⁽⁴⁾ Setor de Manejo Animal, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, São Carlos, BR.

A mastite é a principal doença nos rebanhos leiteiros por acarretar perdas econômicas ao produtor e às indústrias de laticínios devido à diminuição da produção e qualidade do leite. Estudos epidemiológicos destacam o gênero *Staphylococcus* no envolvimento de aproximadamente 50% dos casos de mastite bovina, com prevalência do *S. aureus* nas formas subclínica e clínica. Com objetivo de verificar a ocorrência de espécies de *Staphylococcus* spp. em vacas com mastite subclínica tratadas e não tratadas com homeopatia, coletou-se mensalmente um *pool* de leite dos quartos mamários de vacas em rebanho bovino leiteiro experimental da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, São Paulo, Brasil. Distribuiu-se as vacas em dois grupos, tratadas com formulação homeopática e não tratadas, de modo que animais com contagem de células somáticas superior e inferior a 200.000 células ml⁻¹ de leite estivessem nos dois grupos. Acrescentou-se formulação homeopática à alimentação de 25 vacas e outras 25 receberam placebo. Em laboratório semeou-se 10µL de leite em ágar sangue, incubado a 37°C/24-48h, e avaliou-se as colônias quanto às características morfológicas. Submeteu-se os cocos Gram-positivos às provas de catalase e coagulase. Cepas catalase e coagulase positivas foram submetidas às provas de produção de acetoina e fermentação da maltose e trealose e as coagulase negativas aos testes de sensibilidade à furazolidona e oxidase. A confirmação genotípica dos *S. aureus* ocorreu pela detecção do gene SA442. Identificou-se 121 cepas estafilocócicas, 44 em animais do grupo sem tratamento e 77 em vacas do grupo com tratamento. Conforme provas diagnósticas executadas até o momento, o *S. aureus* apresentou maior ocorrência (26/grupo com tratamento e 18/grupo sem tratamento), seguido do *S. simulans* (19/grupo com tratamento e 6/grupo sem tratamento) e *S. epidermidis* (4/grupo com tratamento e 4/grupo sem tratamento). Para os isolados remanescentes testes bioquímicos complementares serão realizados para a identificação das espécies. Dentre os 44 isolados identificados preliminarmente como *S. aureus*, 34 foram confirmados genotipicamente para esta espécie (20/grupo com tratamento e 14/grupo sem tratamento). Conclui-se que o *S. aureus* foi o principal agente envolvido em casos de mastite subclínica tanto em animais tratados como não tratados, com maior ocorrência no grupo com tratamento.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), Processo no 2017/08979-7



MI365

Formación de biofilm en aislados STEC provenientes de materia fecal de ganado bovino del Paraguay

Melisa Florentin¹, Claudia Salinas¹, Patricia Acuña¹, Federico Escobar¹, Fátima Rodríguez¹, Rosa Guillén¹.

⁽¹⁾ Microbiología, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, San Lorenzo, PY.

El ganado bovino es reservorio de *E. coli* productor de toxina Shiga (STEC). Ciertas cepas STEC tienen la capacidad de formar biofilm en alimentos y contaminar superficies, aumentando su tolerancia a los antibióticos y desinfectantes, siendo un problema grave de seguridad alimentaria. Este estudio descriptivo de corte transversal se realizó con el objetivo de describir la frecuencia de portación de los genes *stx1*, *stx2*, *eae*, *hlyA* y *saa*, además de evaluar la capacidad de formación de biofilm en aislados STEC provenientes de muestras de materia fecal de ganado bovino paraguayo. Se analizaron 248 aislados STEC provenientes de un biobanco de más de 1000 aislados *E. coli* colectados en el año 2016. Se amplificaron por PCR los genes *stx1*, *stx2*, *eae*, *hlyA* y *saa*. La determinación de la capacidad de formación de biofilm se realizó por ensayos en microplacas de poliestireno. La portación de los genes *stx2* y *stx1* fue del 58% y 7% respectivamente. Los factores de virulencia accesorios se detectaron en 86% y 81% para *hlyA* y *saa* respectivamente y sólo el 0,4% resultó ser portador de *eae*. El 74% de los aislados mostró capacidad de formar biofilm. La capacidad de formación de biofilm y la portación de varios factores de virulencia de forma simultánea por parte de aislados STEC puede representar un riesgo potencial de persistencia de estos patógenos en sitios de expendio de alimentos y por ende un problema tanto en la industria cárnica como para la salud pública de país.

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)

MI366

Identification of *Streptococcus sanguis* in bovine subclinical mastitis in the State of Rio de Janeiro, Brazil

Sabrina Fontanezi¹, Silva Aline Souza¹, Chagas Nayrana Manhães¹, Folly Márcio Manhães¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Sanidade Animal - LSA/CCTA, Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, BR.

The *Streptococcus sanguis* is common in human oral cavity infections. During the research on subclinical bovine mastitis in the farms of Rio de Janeiro State, Brazil, the bacteria of the genus *Streptococcus* was identified. Other species of bacteria were also identified. Using *California Mastitis Test* (CMT), it was identified positive animals for subclinical mastitis, which had samples of milk collected for the identification of etiological agents through routine laboratory tests. In the routine diagnosis were characterized 3 beta-hemolytic bacteria of the genus *Streptococcus*. Bacteria were then submitted to computerized diagnosis (VITEK BioMérieux, France) with a 97% probability of identification for *Streptococcus sanguis*. Susceptibility to antibiotics of the identified bacteria was also performed through the antibiogram test according to the Kirby Bauer method. Of the CMT results in 80 cows, 52 cows (65%) presented subclinical mastitis and had samples collected. Regarding bacterial samples collected, 16 (30.7%) were identified as *Staphylococcus* sp., 10 (19.2%) *Staphylococcus aureus*, 8 (15.4%) *Streptococcus agalactiae*, 7 (13.5%) *Streptococcus* sp., 3 (5.8%) *Streptococcus sanguis*, 1 (1.9%) presented growth of two different colonies, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*, 3 (5.8%) were contaminated plaques and 4 (7.7%) sterile plaques. The antibiogram demonstrated resistance to penicillin in 5 (62.5%) strains of *Staphylococcus aureus* and 1 (12.5%) to penicillin, tetracycline and cefalotin. From 7 strains of *Streptococcus agalactiae*, 2 (40%) showed resistance to tetracycline, 1 (20%) resistant to gentamicin and 2 (40%) sensitive to all antibiotics, 1 (33.3%) strain of *Streptococcus* sp. demonstrated resistance to penicillin. A strain of *Staphylococcus* sp. and 2 strains of *Streptococcus sanguis* showed to be sensitive to all antibiotics. It is concluded that *Staphylococcus* sp. and *Staphylococcus aureus* bacteria were the most isolated in the herds. *Streptococcus sanguis* was isolated in bovine subclinical mastitis and has not been described in the literature. Strains of *Staphylococcus aureus* were the most resistant to penicillin and *Streptococcus agalactiae* to tetracycline, gentamicin and penicillin.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Universidade Estadual do Norte Fluminense

MI367

Evaluación de la expresión de citoquinas en respuesta a una vacuna contra la *septicemia rickettsial salmonídea*

Yazmín Fuentes¹, Daniela Escrig¹, Aarón Oyarzún¹, Carolina Tambley¹, Beatriz Valenzuela¹, Deborah Vargas¹, Ana Sandino^{2,1}. ⁽¹⁾ Consorcio Tecnológico de Sanidad Acuícola ICTIO Biotechnologies S.A., Centro de Biotecnología Acuícola (CBA), Universidad De Santiago de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Virología, Centro de Biotecnología Acuícola (CBA), Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL.

Piscirickettsia salmonis es una bacteria gram negativa intracelular, facultativa, causante del síndrome rickettsial salmonídeo (SRS), responsable del 74,1% de las muertes por enfermedades infecciosas en Salmón del Atlántico. Las estrategias de vacunación no son completamente eficaces contra el patógeno, por esto, existe controversia respecto a cómo los peces responden a la inmunización. En este trabajo, se evaluó el efecto de una vacuna comercial contra *P. salmonis*, en la respuesta inmune de peces de un centro de cultivo del sur de Chile. Para esto, se tomaron muestras de riñón de dos grupos de peces (**G1** y **G2**) previo a la vacunación y después de 5, 15 y 45 días desde la vacunación. Mediante qRT-PCR se analizó la expresión de genes marcadores de inmunidad innata: C3 (factor del complemento), IFN α (anti-viral), IFN γ (anti-viral, pro-inflamatoria) y de inmunidad adaptativa: CD4 y CD8 (linfocitos T helper), IL-10 y TGF β (anti-inflamatorias). Los resultados obtenidos fueron correlacionados con los datos de mortalidad ocasionada por SRS en los centros de cultivo. Los resultados mostraron que 5 días post-inmunización ambos grupos aumentaron significativamente los transcritos de C3. En G1 se observó un aumento en los transcritos de IFN γ y un incremento en los niveles de CD8 y CD4, lo que evidencia una respuesta de tipo celular. En el caso de G2, 5 días post-inmunización se observó un aumento significativo de los transcritos de TGF β e IL10 y una disminución en la expresión de CD4. Mientras que, 10 días post-inmunización disminuye significativamente IFN γ , lo que podría estar relacionado con la activación de las citoquinas inmunosupresoras IL-10 o TGF β . En conclusión, ambos grupos de peces presentan diferencias en su respuesta inmune, lo que también se vio reflejado en las curvas de mortalidad posteriores a un brote de SRS, ya que la vacuna estimuló la respuesta inmune en un tiempo inicial en G1, mientras que los peces de G2 aparentemente estaban inmunosuprimidos y comenzaron a morir antes que los peces de G1, por lo tanto, se sugiere que en estos peces la vacunación no fue estímulo suficiente para otorgar protección a largo plazo frente a una infección.

CORFO 13CTI-21527

MI368

Spatial dispersion of *Mycobacterium bovis* between 2011 and 2017 in the state of Mato Grosso, Brazil

Barcelos Flávio G¹, Carvalho Ricardo CT², Vieira Bruno S², Santos Jociane CQ³, Figueiredo Eduardo ES². ⁽¹⁾ Graduate Program in Animal Science, Faculty of Agronomy and Animal Science, Federal University of Mato Grosso, Cuiabá, BR. ⁽²⁾ Nutrition, Food and Metabolism Post Graduate Program, Faculty of Nutrition, Federal University of Mato Grosso, Cuiabá, BR. ⁽³⁾ State Program for the Control and Eradication of Animal Brucellosis and Tuberculosis, Institute of Agricultural Defense of the State of Mato Grosso, BR, Cuiabá, BR.

M. bovis is the causative agent of bovine tuberculosis (bTB), a zoonotic disease that causes significant economic losses. Brazil has a low prevalence of bTB (1.3%), yet robust actions are needed to track the remaining *foci* of infection in the country, especially in the state of Mato Grosso, that comprises the largest cattle herd in Brazil and exports the highest amount of meat in the country. Analyzing the spatial dispersion of *M. bovis* is of great importance, since this would allow for the identification of risk factors. In this study, we aimed to generate graphics on the spatial dispersion of *M. bovis* in Mato Grosso. Identification records for *M. bovis* in bTB lesions collected between 2011 and 2017 in officially inspected slaughterhouses were obtained from the Institute of Agricultural Defense of the State of Mato Grosso (INDEA). The bTB lesions were analyzed for the presence of *M. bovis* by both bacteriological assays and PCR. The origin of carcasses with confirmed bTB lesions were georeferenced and plotted on geopolitical maps highlighting the dispersion of *M. bovis* across the state using the QGIS 2.18 software. In 2011, *M. bovis* infections were detected in approximately 9.0% of the cities of Mato Grosso (13/141). Most of these *foci* were located in the Southeast and lower Northern regions of the state, where dairy production and breeding, respectively, are predominant. In the following years, a progressive dispersion of *M. bovis* within the state was noticed, resulting in the isolation of this pathogen in over 43% of the state's cities (61/141) until 2017. Most of these cases were located in the Southeast, Southwest and North regions. During the same period, several regulations establishing mandatory diagnosis of all presumptive bTB lesions collected in Mato Grosso slaughterhouses were enforced. This situation favored the collection of that can be associated with the transit of bTB-positive animals within the cities identified herein. Thus, the maps generated in this study allow for the identification of the fact that, with the exception of the Northeastern region, all the other Mato Grosso regions require urgent and specific actions to control or eradicate bTB.

To INDEA for providing the data used in this study and the license requested for professional qualification.

MI369

Muerte súbita asociada a daño necrótico intestinal causado por *Clostridium septicum* en modelo ratón

Guerra Rodrigo A¹, Soria Jose M¹, Vega Orozco Adriana S¹, Walter Berón², Maria Cecilia Villa¹. ⁽¹⁾ Ciencias Básicas, Escuela de Salud, Universidad Nacional de Villa Mercedes, Villa Mercedes, San Luis, AR. ⁽²⁾ IHEM-CONICET, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, AR.

La definición del término “Síndrome de Muerte Súbita” (SDS, por sus siglas en inglés) a menudo incluye ganado en corral de engorde muerto inesperadamente. Las causas específicas de muerte con frecuencia se pueden determinar mediante necropsia. La etiología y las medidas preventivas están mal definidas. La literatura actual indica que la muerte súbita a menudo se asocia con trastornos digestivos. Recientemente, la SDS se ha asociado con infecciones específicas por cepas de *Clostridium perfringens*. *Clostridium septicum* es un bacilo Gram positivo, anaerobio y esporulado, agente causal del edema maligno y gangrena gaseosa traumática en el ganado vacuno, ovejas y cabras. Es endémico en Argentina y afecta a muchos animales en todo el mundo. Su principal factor de virulencia es la toxina alfa. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la infección endógena causada por esporas de *C. septicum* administradas por vía oral. Se obtuvieron esporas de *C. septicum* ATCC 12464 en un medio optimizado para clostridios modificado, cultivadas cinco días a 37°C y 13 días a temperatura ambiente en condiciones anaeróbicas. Grupos de 4 ratones BALB-C fueron administrados por vía oral con 103, 104 y 105 esporas en soporte de gelatina y leche durante dos meses. Se sacrificó un ratón de cada lote cada 10 días. El tracto gastrointestinal fue extraído, fijado e incluido en cera de parafina, posteriormente se tiñó con hematoxilina - eosina. Se recolectó líquido intraperitoneal para buscar células de *C. septicum*. Los ratones tratados mostraron una pérdida de peso significativa ($p \leq 0.05$) en comparación con los ratones de control. Todas las concentraciones de esporas ensayadas en este estudio indujeron daño intestinal en ratones. El análisis macroscópico e histológico mostró áreas necróticas en intestino grueso y delgado. No se encontraron células de *C. septicum* en el fluido intraperitoneal. Nuestros resultados sugieren que las esporas de *C. septicum* germinan y colonizan el intestino, lo que conduce a una absorción deficiente de nutrientes, daño necrótico de la mucosa, pérdida de peso. Estudios adicionales determinarán si *C. septicum* podría estar asociado con SDS en animales.

Universidad Nacional de Villa Mercedes, San Luis, Argentina. IHEM-CONICET

MI370

Preliminary study of potential biofilm inhibitors in *Piscirickettsia salmonis*

Ricardo Hübner^{1,3}, Natacha Santibañez^{1,3}, Johana Spies^{1,4}, Matias Vega¹, Tatiana Pérez^{1,3}, Ricardo Enríquez¹, R González-Stegmaier^{1,2,3}, Jaime Figueroa^{2,3}, Alejandro Yañez^{2,3}, Alex Romero^{1,3}. ⁽¹⁾ Patología Animal, Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽²⁾ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽³⁾ Interdisciplinary Center for Aquaculture Research, INCAR, Concepcion, CL. ⁽⁴⁾ Instituto de Ciencias Marinas y Limnológicas, Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Piscirickettsia salmonis is a facultative intracellular pathogen and causative agent of Piscirickettsiosis in salmonid species, a systemic disease that threatens the sustainability of Chilean salmon farm industry, since its appearance in 1989. Attempts to control this disease have been unsuccessful, because existing vaccines have not achieved the expected effectiveness and the antibiotics used fail to completely eradicate the pathogen. The lack of scientific information about the mechanisms used by this bacterium to overcome infected-cell responses and induce a productive infection in macrophages open new challenges to study of this pathogen. It has been described that *P. salmonis* can produce biofilm, related to adaptive strategies for survival and persistence under stress conditions. This study aims to evaluate the inhibitory effect of maprotiline hydrochloride and toremifene citrate on *P. salmonis* biofilm production. The inhibitors selected were described previously as the most effective for *Francisella novicida*, a gammaprotobacteria closely related to *P. salmonis*. The *P. salmonis* strain LF-89 was grown in modified Marine Broth medium NaCl 24.6 g/L, with the selected inhibitor at 50 and 100 μ M and incubated at 18°C for 4, 8 and 12 days, for further planktonic growth and biofilm formation analysis. Planktonic growth was measure by determining optical density at 620 nm and biofilm formation was quantified using the crystal violet assay at 595 nm. Our preliminary results shown that from both inhibitors tested, toremifene decreased notoriously the biofilm formation by 54 % at day 4 compared to the control, without affecting its planktonic growth. Therefore, toremifene may be a suitable candidate as biofilm formation inhibitor in the LF-89 strain of *P. salmonis*. Further studies will evaluate toremifene effects on biofilm formation for different bacterial isolates currently affecting the salmon industry in Chile.

FONDECYT 1171357, FONDAP 15110027

MI371

Natural products derivatives are able of biofilm breakage *in vitro* of bacteria isolated from mare uterus

José Junior¹, Maciel Nadine Gabryella², Ewerton Renner³, Pedro Oliveira⁴, Izaura Fernandes⁴, Valdenio Oliveira⁴, Gustavo Carneiro⁵, Correia Maria Tereza⁶. ⁽¹⁾ Biochemistry, PhD in biological sciences, Federal University of Pernambuco. ⁽²⁾ Public Health, postgraduate degree in public health, Universidade de Pernambuco, Garanhuns, BR. ⁽³⁾ Animal Reproduction, Rural Federal University of Pernambuco, Garanhuns, BR. ⁽⁴⁾ Public Health, Universidade de Pernambuco, Garanhuns, BR. ⁽⁵⁾ Animal Reproduction, Rural Federal University of Pernambuco, Garanhuns, CL. ⁽⁶⁾ Biochemistry, Federal University of Pernambuco, Recife, CL.

Background: The formation of biofilm is a survival strategy for bacteria and fungi to adapt to their living environment. Under the protection of biofilm, microbial cells become tolerant and resistant to antibiotics and the immune responses, which increases difficulties for treatments. Treatment of biofilm infections represents a challenge for microbiologists and clinicians. Bacterial infections that act at endometrium of mares are constantly associated to its ability to form biofilm with treatments being less effective. In this context, there is a great need to search new therapies for control or preventing infections targeting the biofilm formation. Plant derived products still provide a potential source of new drugs due to their structure diversity which has evidence in the literature about their effectiveness on antimicrobial action on biofilm. The objective of this study was to evaluate *in vitro* the activity of natural products against clinical isolates of endometritis in mares. **Methods:** In order to eradicate biofilms, the bacterium *Klebsiella pneumoniae* was cultured for 24 hours to observe the formation of bacterial biofilms, afterwards the entire culture medium was removed and new culture medium was added, as well as the addition of major compounds (decanoic, dodecanoic and octanoic acid) of essential oils from caatinga in concentrations of 4mg and 2mg for 12h, in order to verify if there was eradication of the preformed biofilm, for the evaluation of biofilm eradication a technique of violet crystal staining was done to compare it with the control, how much biofilm the natural product was able to reduce. **Results:** we observed biofilm breakage activity in all extracts, with variations between 44% and 97% at 4mg and between 29% and 77% at 2mg. The compound that presented the best biofilm breakage was the octanoic acid, presenting a biofilm breakage of 97% ($p < 0.05$). **Conclusion:** our study demonstrated that octanoic acid, a natural product derivative oil from Caatinga of Northeast of Brazil proved to be a potent agent in biofilm breakage. The combination with alternative therapies using natural products may have a great potential to enhance antibiotic treatment in bacterial biofilm infections in the uterus of mares.



MI372

Optimización del procedimiento para la concentración y detección de protozoos y helmintos en grandes volúmenes de agua

Ríos-Tobón Sandra², López Juliana^{1,2}, Campo-Polanco Laura F.², Agudelo-Cadavid Ruth M.², Gutiérrez-Builes Lina A.²

⁽¹⁾ Grupo de Investigación en Salud y Ambiente, Facultad Nacional de Salud Pública, Universidad de Antioquia, Medellín, CO. ⁽²⁾ Grupo Biología de Sistemas, Facultad de Medicina, Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, CO.

El agua es esencial para la vida y su contaminación está determinada por la presencia de microorganismos con potencial patógeno, que pueden estar implicados en afectaciones a la salud. Cuando el agua está contaminada con heces, tiene la capacidad de actuar como un vehículo de transmisión de microorganismos potencialmente patógenos causantes de enfermedades que constituyen causas principales de muerte a nivel mundial. Las formas parasitarias como quistes, ooquistes y huevos, poseen alta capacidad de supervivencia a diversos factores ambientales, tratamientos físico-químicos y desinfección, debido a la variabilidad de sus tamaños y a la resistencia a oxidantes usados comúnmente como el cloro, lo que les permite seguir siendo viables y mantener su capacidad patógena en el agua de consumo incluso después de su tratamiento y potabilización. Para detectar parásitos en grandes volúmenes de agua, es necesario concentrarlos mediante el uso de reactivos tradicionales, instrumentos y protocolos especializados. Se han descrito varios métodos diferentes basados en el gradiente de densidad, que permiten la separación de fases y el consecuente recuperación de formas; sin embargo, estudios comparativos han determinado que estas técnicas tienen baja especificidad y proponen la implementación de alternativas más eficientes en la detección de la carga parasitaria en el agua potable. En este trabajo se optimizó un protocolo para la detección de parásitos intestinales en grandes volúmenes de agua. Este incluye: filtración por membrana, agitación mecánica con detergente, centrifugación, concentración química con Mini Parasep® y examen microscópico. En muestras de agua contaminada con heces que contenían formas parasitarias, se obtuvo un porcentaje de recuperación total del 85.7 % de estas formas después de aplicar el protocolo. El procedimiento constituye un método alternativo que podría someterse a validación como metodología habitual para el diagnóstico de la calidad microbiológica del agua.

Centro de Investigaciones para el Desarrollo y la Innovación (CIDI), Universidad Pontificia Bolivariana. Fondo de Apoyo Docente de la Facultad Nacional de Salud Pública de la Universidad de Antioquia.

MI373

Breve estudo sobre a epidemiologia da tuberculose bovina no estado do Paraná, Brasil

Maczuga Juliana Maria¹, Rodrigues Diego Leonardo², Galvão Julia Arantes¹. ⁽¹⁾ Medicina Veterinária, Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, BR. ⁽²⁾ Serviço de Fiscalização de Insumos e Serviços Pecuários e Saúde Animal/DDA/SFA-PR, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Curitiba, BR.

A tuberculose bovina, causada pela bactéria *Mycobacterium* sp., é uma enfermidade crônica, de interesse econômico tendo em vista os prejuízos que gera na eficiência produtiva dos animais infectados, e de interesse na saúde pública por se tratar de uma zoonose de importância global. O objetivo deste trabalho foi reunir e analisar informações relacionadas a epidemiologia da tuberculose bovina no estado do Paraná, através dos registros de notificações do Sistema Nacional de Informação Zoossanitária, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, considerando os focos da doença e os casos de animais positivos notificados ao Serviço Veterinário Oficial. As informações foram coletadas de dois setores distintos da Defesa Agropecuária, sendo o primeiro relacionado aos casos da doença confirmados por meio de exames laboratoriais ou considerados suspeitos: 464 casos ou 4,3% do total de enfermidades encontradas na inspeção *post mortem* em abatedouro sob inspeção federal notificados pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, de janeiro de 2011 a abril de 2016; e o segundo, abrangendo os focos para a doença e os casos de animais positivos notificados a campo por meio dos testes com tuberculina, no período de janeiro de 2014 a outubro de 2015, tendo registrados 736 focos com 5.973 animais TB-positivos, sendo 95,36% fêmeas, sendo as origens dos casos notificados em maioria de regiões leiteiras. Na análise das informações, foi considerado que os abatedouros foram ponto fundamental na vigilância epidemiológica ativa da tuberculose bovina. As exigências sanitárias para fornecimento de leite combinadas com as condições da produção da bovinocultura leiteira contribuem para que haja maior susceptibilidade e maior número de animais testados nesse gado com consequente aumento do número de casos da enfermidade notificados nesses rebanhos.

MI374

Análise do resistoma de *Vibrio* spp. em ambientes de carcinicultura

Menezes Francisca Gleire R¹, Carvalho Fátima C T¹, Rocha Rafael Santos², Rebouças Rosa Helena³, Ernesto Hofer⁴, Vieira Regine H S F⁴, Sousa Oscarina Viana⁴. ⁽¹⁾ Departamento de Engenharia de Pesca, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, BR. ⁽²⁾ Instituto de Ciências do Mar - Labomar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, BR. ⁽³⁾ Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Piauí, Piauí, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Bacteriologia, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, BR.

As bactérias pertencentes ao gênero *Vibrio* são habitantes naturais dos ecossistemas marinho e estuarino, onde geralmente se localizam as fazendas de cultivo de camarão. A presente pesquisa teve como objetivo estabelecer perfis de multiresistência a diferentes antimicrobianos e detectar integrons, genes cassetes e genes de resistência a fármacos usados na medicina veterinária e humana, em estirpes de *Vibrio* spp. isoladas de amostras de água, sedimento do rio e músculo, hemolinfa e hepatopâncreas de camarões marinhos. Foram realizadas coletas em seis fazendas de carcinicultura, localizadas no Estado do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte. A identificação fenotípica foi através de chave dicotômica. O maior número de isolados de *Vibrio* spp. foi originário do Rio Grande do Norte (74), seguido por Ceará (53) e Piauí (41). Entre os isolados cultiváveis, a espécie mais abundante foi *Vibrio coralliilyticus* (47), seguido de *V. calviensis* (26), *V. mimicus* (18), *V. littoralis* (15), *V. diabolicus* (11), *V. parahaemolyticus* (10), *V. fischeri* (10) e *V. harveyi* (7). As cepas testadas apresentaram índices de resistência a penicilina (65%), ampicilina (49%), cefalotina (28%), tetraciclina (7%), aztreonam e oxitetraciclina (6%), ácido nalidíxico (5%), estreptomicina e cefotaxima (2%), ceftriaxona (1,5%), e gentamicina, sulfazotrim e eritromicina (1%). Das 38 cepas de *Vibrio* spp. que foram submetidas a identificação genotípica usando primers específicos para a identificação de integrons de Classe 1, apresentaram os genes *in* (100%), *int1* (100%) e *qacEΔ1* (100%), seguidos por *sul1* (97%) e *blaP1* (94%). Para os genes de resistência aos fármacos tetraciclina e oxitetraciclina os resultados foram: gene *otr* (A) (23%) e *otr* (B) (23%), seguidos por *tet* (S) (5%) e *tetM* (2%). Todos os genes de resistência à quinolonas (*qnrA*, *qnrB* e *qnrS*) estudados, apresentaram a mesma frequência (2%). Quando utilizados iniciadores específicos para genes de resistência a β-lactâmicos (*blaTEM*, *blaSHV* e *blaOXA*) foi verificada apenas a presença do gene *blaSHV* (34%). Por fim, o gene CTX-M, representante dos genes dos β-lactâmicos de espectro estendido, foi encontrado no Estado do Rio Grande do Norte (31%) e Piauí (15%). A presença desses genes é relevante para o entendimento da transferência de resistência no ambiente aquático.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)



MI375

Fungal identification and biofilm formation of clinical isolates from mare uterus

Pedro Oliveira¹, Junior José Adelson², Ewerton Oliveira³, Nadine Pontes⁴, Rosangela Falcão¹, Valdenio Oliveira¹, Gustavo Carneiro³, Maria Correia³. ⁽¹⁾ Pernambuco, Universidade de Pernambuco, Universidade de Pernambuco ⁽²⁾ Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽³⁾ Reprodução Animal, Universidade Rural de Pernambuco, Garanhuns, BR. ⁽⁴⁾ Saúde Pública, Universidade de Pernambuco, Garanhuns, CL.

Reproductive efficiency in mares is closely related to the ability of the uterus to maintain an environment compatible with embryo development and fetal growth, which is susceptible to the development of inflammatory processes subsequent to uterine invasion. One of the factors that make embryonic survival impossible, affecting pregnancy rate, is endometritis which is an infectious process that affects the uterus of the mares. This study aimed to diagnose endometritis in mares through microbiological evaluation and identification of biofilm formation in clinical case mares examined in our laboratory. Seventy mares were examined by rectal palpation and ultrasonography with a history of recent infertility after artificial insemination or embryo transfer collection. Samples were collected for uterine cytology and microbiological examination. Samples were cultured for fungi on sabouraud dextrose agar 2% (Difco laboratories, Detroit, M) with chloramphenicol and incubated at 30°C for 5 days. Biofilm formation determination has made by spectrophotometric methods as described by Shin. From the 70 mares diagnosed with endometritis 43 (61%) had either bacterial and/or fungal infection. From those 43/70 (31.4%) presented a fungal infection, within the fungi most evidenced being *Aspergillus spp* and *Candida albican*, that are described as highly virulent and biofilm forming agents followed by *Curvularia spp*, *Cladosporium spp* and *Zygomices spp*. From those identified fungi 30/43 (69.7%) formed biofilm. These numbers are considered to be high and may indicate that endometritis are more common in tropical regions because the environment is more prone to fungal development throughout the year, in addition to substantial increase in reproductive biotechnology, especially Embryo Transfer with a more exacerbated manipulation of the reproductive tract, which may contribute to the increase of fungal infections. Identification of the agent and knowledge of the pharmacological susceptibility is of most importance during the course of treatment, due to increase number of drug resistant animals by indiscriminate use, thus reducing cost in the treatment with a efficient drug choice.

MI376

Diversidade de espécies e determinantes de virulência em *Enterococcus* sp. isolados de fezes de graxaim-do-campo - *Lycalopex gymnocercus* (G. Fischer, 1814)

Luana Oliveira Godoy Da Silva¹, Gabriella Oliveira De Araujo², Marina Ochoa Favarini³, Ana Paula Guedes Frazzon⁴.

⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia - Laboratório 222-C, Instituto de Ciências Básicas da Saúde- ICBS/ UFRGS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul -UFRGS, Porto Alegre, BR. ⁽²⁾ Departamento de microbiologia - Laboratório 222-C, Instituto de Ciências Básicas da Saúde - ICBS/UFRGS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽³⁾ Consultoria Ambiental, Empresa - Área de Vida, Porto Alegre, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Microbiologia -Laboratório 222-C, Instituto de Ciências Básicas da Saúde - ICBS / UFRGS, Universidade Federal Do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR.

Enterococos são bactérias Gram-positivas presentes na microbiota intestinal de humanos e de animais, assim como no solo, em plantas e água. Apresentam como característica, uma grande variedade de plasmídeos e transposons que estão envolvidos na transferência de genes de resistência a antimicrobianos e fatores de virulência. Devido ao perfil da resistência antimicrobiana de bactérias comensais em animais selvagens ser pouco conhecido, especialmente no caso do Graxaim-do-campo (*Lycalopex gymnocercus*), o presente trabalho objetivou avaliar a distribuição e o perfil de resistência antimicrobiana de *Enterococcus* sp. isolados de fezes desses animais. Além disso, presença de genes de fatores de virulência e resistência também foi analisada. Para o referido estudo, foram coletados suabes retais de 5 espécimes de Graxaim-do-Campo selvagens entre os meses de agosto de 2017 e janeiro de 2018 em diferentes fragmentos florestais de regiões do Rio Grande do Sul, Brasil. Os isolados foram identificados por PCR e Maldi-TOF e submetidos ao teste de antibiograma, onde 12 antibióticos comumente empregados na clínica humana e veterinária foram testados. Dentre os 76 isolados selecionados, *Enterococcus faecalis* (37) foi a espécie mais frequente, seguida de *Enterococcus faecium* (19), *Enterococcus durans* (1) e *Enterococcus* spp. (19). Cepas resistentes foram observadas para Rifampicina (97,5%), Eritromicina (85%), Ciprofloxacina (47,5%), Linezolida (10%) e Norfloxacina (10%). Todos os isolados foram susceptíveis à Ampicilina, Clorafenicol, Nitrofuratoína, Tetraciclina. Em conclusão, cepas resistentes aos antibióticos nestes animais poderiam estar relacionadas com as interações humanas, origem antropogênica ou mesmo resistoma ambiental. Diante dos resultados apresentados torna-se importante a atenção e avanço nos estudos de resistência bacteriana no ambiente, a fim de selecionar, identificar e determinar fatores de virulência em microrganismos que oferecem potencial risco à saúde humana e animal.

MI377

Avaliação da ação antiviral de compostos sintéticos e naturais na infecção do ZIKV *in vitro*

Martins Daniel Oliveira Silva¹, Suely Da Silva^{2,1}, Shimizu Jacqueline Farinha², Regasini Luís Octávio^{3,4}, Lima Caroline Sprengel^{3,4}, Assis Leticia Ribeiro De^{3,4}, Andres Meritis⁵, Jardim Ana Carolina Gomes^{6,2}. ⁽¹⁾ Microbiologia, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade do Estado de São Paulo “Júlio Mesquita Filho”, São José do Rio Preto ⁽²⁾ Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, CL.

⁽³⁾ Química, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade do Estado de São Paulo “Júlio Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, CL. ⁽⁴⁾ Química, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade do Estado de São Paulo, São José do Rio Preto, BR. ⁽⁵⁾ Instituto de Tecnologia, Universidade de Tartu, Tartu, EE ⁽⁶⁾ Microbiologia, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade do Estado de São Paulo “Júlio Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, CL.

O vírus Zika (ZIKV) pertence à família *Flaviviridae* e o gênero *Flavivirus*. É um vírus envelopado, medindo 25-30 nm, de fita de RNA simples e polaridade positiva com aproximadamente 22 kb. O vírus é responsável por causar a febre Zika, uma arbovirose que foi considerada pela Organização Mundial da Saúde um grave problema da saúde pública, devido ao número de casos de má formação congênita e distúrbios neurológicos vinculados à infecção, como microcefalia e síndrome de Guillain-Barré. Não existe atualmente antiviral específico contra o ZIKV. Neste sentido há uma corrida na busca de possíveis candidatos antivirais contra a infecção do ZIKV. Esse estudo teve como objetivo avaliar a atividade antiviral de doze compostos naturais ou sintéticos na infecção do ZIKV *in vitro*. Foram produzidas partículas do ZIKV com repórter de luminescência *nano luciferase*. Células vero foram infectadas com ZIKV *nanoluciferase* (MOI=0.1) e tratadas com concentrações não tóxicas de 12 compostos por 72 horas. DMSO foi utilizado como controle não tratado. A atividade antiviral foi avaliada em ensaios de luminescência pela quantificação da atividade da enzima *Renilla luciferase*. Os resultados demonstraram que dois compostos, um natural extraído da *Pterogyne nitens*, conhecida com amendoim bravo, e um sintético inibiram 60 e 70 % a infecção do ZIKV em células vero, respectivamente, demonstrando que esses compostos são potentes candidatos para o tratamento de infecções com ZIKV. Ensaios adicionais estão sendo realizados para um melhor entendimento de como esses compostos atuam no ciclo replicativo do ZIKV.

CNPQ445021/2014-4, 2017BIO026; FAPEMIG APQ00587-14, SICONV 793988/2013, Royal Society - Newton Advanced Fellowship NA 150195, CAPES



MI378

Diagnosis of leptospirosis in cohabiting cows and bulls from a Brazilian farm

Gabriela Pacheco Sánchez¹, Fabio Almeida Lemos², Mirian Dos Santos Paixão-Marques³, Maria Fernanda Alves-Martin³, Lívia Maísa Guiraldi³, Wesley José Santos³, Simone Baldini Lucheis⁴. ⁽¹⁾ Department of Preventive Veterinary Medicine and Animal Health, School of Veterinary Medicine and Animal Husbandry, University of São Paulo, São Paulo, BR. ⁽²⁾ Department of Veterinary Hygiene and Public Health, School of Veterinary Medicine and Animal Husbandry, São Paulo State University, Botucatu, BR. ⁽³⁾ Department of Tropical Diseases, Botucatu Medical School, São Paulo State University, Botucatu, BR. ⁽⁴⁾ Department of Animal Health, Paulista Agency for Agribusiness Technology, APTA, Bauru, BR.

Background Leptospirosis is a worldwide zoonosis of high impact in both animal and public health, mostly disturbing tropical regions. Bovine leptospirosis commonly appears as a reproductive disorder, such as abortion, stillbirth and infertility; causing depletion in the economic balance of livestock farms, thus representing a health risk problem for farm workers. In view of these consequences, we aimed to evaluate the sanitary status of leptospirosis in both cows and bull herds from a Brazilian farm. **Methods** We analyzed blood and serum and semen samples from 155 cows (4 herds) and 12 bulls (1 herd) belonging to one livestock farm in Bauru, São Paulo – Brazil. This farm presented clinical historical of reproductive disorders and no vaccination program for leptospirosis. We used three diagnostic methods – Culture by Fletcher’s semisolid medium, Microscopic Agglutination Test (MAT) with a panel of 19 serovars representing 17 pathogenic serogroups and two local isolates, and Polymerase chain reaction (PCR) targeting 16 S RNA encoding gene. **Results** All animals were negative for bacteriological culture in Fletcher’s semisolid medium; 58.1% (97/167) animals were seropositive to at least one of 19 serovars (17 pathogenic serogroups) of *Leptospira* spp. by MAT, given that serogroup Hardjo was the most frequent (47.4%; 46/97); 36.5% and 8.3% of animals presented titers against brazilian isolates Guaricura and Nupezo, respectively. Furthermore, two cows from two different herds were positive for blood PCR and negative to MAT; also two bulls were positive for semen PCR, given that one of these bulls was also positive for MAT. **Conclusion** These results suggest the coexistence of acute and possible chronic leptospirosis in the same environment. Results also advise for diagnosis improvement when using two or more diagnostic tools. Prophylactic measures, such as systemic vaccination, treatment of animals and improvement of hygienic-sanitary conditions in this livestock farm, which is representative of livestock production in this region, should be installed for improvement of sanitary status.

MI379

Influencia del gen *hes* en la formación de biofilm en cepas *Escherichia coli* productor de toxina Shiga portadoras del Locus de Adherencia y Autoagregación

Velez María Victoria¹, Rocío Colello¹, Etcheverría Analía Ines¹, Roberto Vidal², **Padola Nora Lía**¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), CONICET, CICPBA., Facultad de Cs. Veterinarias, UNCPBA, Tandil, AR. ⁽²⁾ Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas/ Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) es considerado un patógeno transmitido por alimentos asociado a colitis hemorrágica y Síndrome Urémico Hemolítico. Una característica que tienen las cepas STEC es su capacidad de adherencia a superficies vivas o inertes mediante la formación de biofilm. Estas estructuras son matrices poliméricas que tienen la capacidad de proteger a los microorganismos que lo conforman de condiciones adversas. Se conocen varios genes que codifican para estructuras que participan en la formación de biofilm. Recientemente se ha identificado un nuevo antígeno de membrana externa que estaría involucrado en la formación de biofilm en cepas STEC LEE-negativas, que se lo denominó *hes*. Cabe destacar que el gen *hes* está localizado en una nueva isla de patogenicidad denominada Locus de Adhesión y Autoagregación (LAA). El objetivo de este trabajo fue investigar la participación del gen *hes* en la formación de biofilm de cepas STEC LAA-positivas. Se comparó en tres eventos independientes la formación de biofilm *in vitro* entre cepas O91. Una de ellas fue la cepa **silvestre**, otra mutante con la delección de LAA y la inserción del plásmido con *hes* (**Δ LAA pVB1 *hes***), y una mutante con la delección de *hes* (**Δ *hes***). El ensayo se realizó sobre matrices de poliestireno de 96 pocillos por triplicado. Las cepas se cultivaron en LB a 37°C-48h de incubación. Se realizaron clasificaciones según su capacidad de formar biofilm en no formadoras, débiles, moderadas, o fuerte según DO. Se pudo observar que todas las cepas fueron fuertes formadoras de biofilm. Sin embargo, la cepa que más formación presentó fue la **silvestre**. En el caso de **Δ LAA pVB1 *hes*** formó levemente menos que la autóctona, y **Δ *hes*** formó una notable menor cantidad de biofilm que el resto. Estos resultados preliminares aportan evidencia que *hes* podría estar involucrado en la formación de biofilm en cepas STEC-LEE negativas/LAA positivas. Lo anterior es relevante, considerando que no se han esclarecido los mecanismos de colonización y/o formación de biofilms en infecciones en humanos, en su reservorio ni en superficies inertes para este grupo de cepas STEC emergentes.



MI380

Sensibilidad antimicrobiana de cepas de *Lactobacillus sp.* aisladas de semillas de *Vigna radiata* germinadas

Pariona Delia Rosa¹, Johanna Sánchez Dávila¹, Zavaleta Amparo Iris¹, Zamudio Karim Lucia². ⁽¹⁾ Laboratorio de Biología Molecular, Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, PE. ⁽²⁾ Investigación y desarrollo, Amazon Andes Export SAC, Lima, PE.

Introducción: El ensilaje es un método tradicional de conservación de forrajes húmedos con base en la fermentación ácido láctica. El proceso de ensilados con inóculos bacterianos incrementa el potencial nutritivo de los vegetales y su conservación. En este aspecto, las Bacterias Acido lácticas (BAL) promueven una fermentación rápida y eficiente de los forrajes ensilados. **Objetivo:** En el presente trabajo se evaluó la sensibilidad antimicrobiana de cepas de *Lactobacillus sp.* aislados de semillas de *Vigna radiata* germinadas. **Metodología:** Muestras de *Vigna radiata* proveniente del distrito de Lima fueron cultivadas en caldo Man Rogosa Sharpe (MRS) e incubadas a 30° C por 48 horas; las colonias aisladas fueron seleccionadas según las características diferentes de color, borde, tamaño y consistencia. Seguidamente, se realizaron pruebas confirmatorias tales como prueba tinción Gram, catalasa y producción de acidez. Asimismo, la sensibilidad antimicrobiana fue evaluada mediante el método de difusión en disco utilizando amoxicilina (10 ug), ampicilina (10 ug), cloranfenicol (30 ug), vancomicina (30 ug), kanamicina (30 ug), sulfametoxazol trimetoprima (25 ug), tetraciclina (30 ug), gentamicina (10 ug), clindamicina (2 ug), penicilina (5 ug) y eritromicina (15 ug). Además las cepas se identificaron mediante secuenciación parcial de los genes ribosómicos 16S. **Resultados:** Se aislaron 13 bacilos Gram positivos de semillas de *Vigna radiata* germinadas, los cuales fueron productores de acidez y catalasa negativo. Todas las BAL mostraron sensibilidad a amoxicilina, ampicilina, cloranfenicol, tetraciclina, eritromicina y penicilina; y resistencia natural a kanamicina, vancomicina, clindamicina, bacitracina, gentamicina y sulfametoxazol trimetoprima. Las BAL fueron identificadas como *Lactobacillus sp.* **Conclusión:** La sensibilidad antimicrobiana de las cepas de *Lactobacillus sp.* aisladas permite controlar los procesos fermentativos de alimentos vegetales, así como la producción de probióticos. Palabras claves: bacterias acido lácticas, sensibilidad antimicrobiana, *Vigna radiata*, *Lactobacillus sp.*

736-INNOVATEPERU-PIEC1-2017

MI381

Investigation on bacterial pathogens in Brazilian wild boars (*Sus Scrofa*)

Mayer Fabiana Q¹, Andrade Juliana S¹, Loiko Márcia R², Maciel Anna Luiza G², Roseli Kuhn¹, Rodrigues Rogério O¹, Cristine Cerva¹, Bertagnolli Angélica C¹. ⁽¹⁾ Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária, IPVDF, Eldorado do Sul, BR. ⁽²⁾ Departamento de Microbiologia, imunologia e Parasitologia, UFRGS, Porto Alegre, BR.

The presence of wild boars in Brazil, as well as their rapid population growth and dispersal, is cause for concern because of their negative impact on nature and agriculture. These animals have been considered potential reservoirs of pathogens and may be related to their maintenance and spread to other animal species, including humans. One example is tuberculosis, for which recently our group showed to occur in Brazilian wild boars; yet, there may be other disease-causing bacteria in these animals such as *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Brucella* spp. and *Leptospira* spp., which may be of concern for swine industry. To date there are no reports on occurrence of these pathogens in Brazilian wild boars; thus, the aim of this study was to investigate their frequency in samples from Rio Grande do Sul, south Brazil. Quantitative polymerase chain reaction was applied in lungs' DNA to study *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* and *H. parasuis* and serological tests were used to access anti-leptospiral and anti-brucela antibodies. This study was approved by local Ethics committee (CEUA nº 10/13) and by "Authorization System and Information on Biodiversity" (SISBIO nº 28741745). The frequencies of positivity were 87.3% (55/63), 3.8% (3/79) and 1.3% (1/79) for *Leptospira* spp., *H. parasuis* and *A. pleuropneumoniae*, respectively. All evaluated samples were negative for *M. hyopneumoniae* (n = 79) and *Brucella* spp. (n = 73). Higher positivity was observed for *Leptospira* serovars Norma (57.1%), Celledoni (30.2%) and Tarassovi (28.6%), which are commonly find in bovine, swine and rodents. The present study brings epidemiological data on occurrence of pathogens important for swine industry in wild boars. The reactivity with observed *Leptospira* serovars indicates that these animals may have contact with domestic species. Thus, the data may be used as support for biosafety measures to be taken to avoid the introduction of these agents into domestic animals. Future studies are necessary to elucidate the role of wild boars as pathogens' reservoirs in Brazil.

FINEP, FAPERGS, CAPES and CNPq.

MI382

Evaluación de una PCR en Tiempo Real para el diagnóstico de la brucelosis ovina en Patagonia

Melisa Homse¹, Lucía Alvarez², Carlos Robles³. ⁽¹⁾ Grupo de Salud Animal, EEA Bariloche, INTA, Centro Regional Universitario Bariloche, Universidad Nacional del Comahue, San Carlos de Bariloche, AR ⁽²⁾ MABBLEv, IPATEC, CONICET-UNCo, San Carlos de Bariloche, AR ⁽³⁾ Grupo de Salud Animal, EEA Bariloche, INTA, San Carlos de Bariloche, AR

La brucelosis ovina causada por *Brucella ovis* es una enfermedad crónica que genera epididimitis e infertilidad en carneros y abortos en ovejas, produciendo un impacto negativo sobre la producción de la majada. El cultivo bacteriológico es el método diagnóstico considerado estándar de oro, sin embargo presenta ciertas limitaciones como el tiempo que demanda hasta obtener un resultado y la posible contaminación de muestras, entre otros. El objetivo de este estudio fue evaluar una PCR en tiempo real (qPCR) para *B. ovis* sobre muestras de semen de carneros y compararla con el cultivo bacteriológico. Se trabajó con 43 muestras de semen provenientes de carneros con aislamiento positivo para *B. ovis* y 17 muestras de un establecimiento libre de brucelosis ovina. Se diseñó una qPCR que se evaluó a partir de ADN extraído con dos métodos: Chelex (qPCR-CH) y Fenol-Cloroformo (qPCR-FC). Además, se evaluó con ADN de *Actinobacillus seminis* e *Histophilus somni*, bacterias que también causan epididimitis. Mediante la curva de ROC se estableció el valor del punto de corte para discriminar entre carneros positivos y negativos. Los resultados para las qPCR-CH y qPCR-FC con respecto al cultivo bacteriológico fueron, respectivamente: punto de corte, 31.07 y 30.62; sensibilidad diagnóstica, 76.7% y 100%; especificidad diagnóstica, 93.7% y 100%; capacidad discriminativa entre carneros positivos y negativos (valor de área bajo la curva de ROC), 0.838 ($P < 0.0001$) y 1.000 ($P < 0.0001$). Ambas qPCR presentaron un límite de detección de 0.01 ng/ μ l de ADN y fueron específicas, ya que las qPCR sobre *Histophilus somni* y *Actinobacillus seminis* resultaron negativas. Estos resultados muestran que la qPCR-FC fue capaz de detectar *B. ovis* en muestras de semen con alta sensibilidad y especificidad, además de ser un método rápido y práctico. Por lo tanto, se propone a la qPCR-FC como técnica diagnóstica alternativa al cultivo bacteriológico en los casos en que se requiera un diagnóstico rápido o no se pueda asegurar la correcta conservación de las muestras.

El estudio fue financiado por los siguientes proyectos: PNSA 1115052; PICT Joven 2013-0366; PICT 2016-0636

MI383

Consortio bacteriano asociado al sistema digestivo del langostino *Macrobrachium carcinus* L, Tabasco, México

María Concepción De La Cruz-Leyva¹, Temani Durán-Mendoza ¹, Karla Susana Escalante-Herrera², Carolina Pérez-Sánchez¹, José Ulises González-de La Cruz¹. ⁽¹⁾ Ing. en Alimentos, Division Academica Multidisciplinaria de los Ríos, Universidad Juarez Autonoma de Tabasco, Tenosique, Tabasco, MX ⁽²⁾ Depto. Ciencias, Unidad Académica Yucatán., Universidad Autónoma de México, Mérida, MX

Los microorganismos interactúan en múltiples funciones en su hábitat, manteniendo un balance adecuado y permitiendo la estabilidad del consorcio. Su identificación es de interés para la selección de inóculos con potencial biotecnológico. Se conoce muy poco sobre la diversidad microbiana asociada a *Macrobrachium carcinus* y la función que desarrollan en este crustáceo, así como su variación según la etapa de desarrollo morfológico y de los cambios relacionados con el hábitat. Este langostino es una especie potencialmente comercial, lo cual se ve limitado por la baja supervivencia larvar en cautiverios, lo cual puede deberse al desconocimiento de condiciones fisicoquímicas, nutricionales y flora microbiana que coadyuvan en el sistema de inmuno-estimulación. El objetivo de este trabajo fue conocer la diversidad bacteriana asociada al sistema digestivo (intestino y estómago) del langostino *Macrobrachium carcinus* L. Los ejemplares se capturaron en el río Usumacinta y río San Pedro, Tabasco, México. Los consorcios microbianos se aislaron con medios de cultivos selectivos para bacterias ácido lácticas, el ADN total de los aislados se extrajo con un kit comercial. La amplificación y el análisis de pirosecuenciación 454/Roche se realizó en un laboratorio externo. Se construyó un árbol filogenético por alineación de secuencias múltiples con el programa MUSCLE y el software *FastTree*. Se utilizó la plataforma Krona para la visualización del análisis taxonómico de tubería. Se detectaron principalmente bacterias Gram negativas, tales como *Enterococcus faecium*, *E. casseliflavus*, *Lactococcus lactis*, *L. brevis*, *E. faecalis*, *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus*; en menor proporción *Citrobacter* sp, *Weissella cibaria*, entre otros. Entre la flora bacteriana detectada se ubican especies que poseen efectos probióticos en peces: *L. lactis*, *L. brevis*, *L. plantarum* y *P. pentosaceus*, los cuales podrían ser utilizadas para mejorar el índice de supervivencia larval en *M. carcinus*, por su efecto antagónico o reforzamiento del sistema inmune. Estos resultados son las primeras evidencias de la flora bacteriana asociada al sistema digestivo de *M. carcinus*.



MI384

Prevalencia de microorganismos patógenos en aguas de consumo en centros educativos en tres municipios de Norte de Santander

Martínez Karen Piedad¹, Díaz Claudia Elizabeth¹. ⁽¹⁾ Bacteriología y laboratorio Clínico, Salud, Universidad de Santander, Cúcuta, CO

El agua es un recurso esencial para la supervivencia de todo ser vivo, por lo que genera preocupación en países desarrollados debido a que se ha convertido en un problema de salud pública. El objetivo de la presente investigación fue determinar la presencia *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Pseudomonas spp* en el agua de consumo de 20 centros educativos de tres municipios de Norte de Santander, a los que se les aplicó una encuesta para conocer el estado de los tanques de almacenamiento de agua, se tomaron muestras de grifo, bebederos y filtros que se procesaron por el método de filtración por membrana, sembrados en Agar plate count, Agar chromocult. Para la determinación de *Pseudomonas spp*, se utilizó el método de número más probable (NMP) realizando una prueba presuntiva en caldo asparagina y una prueba confirmatoria en Agar cetrimide. Se empleó el método horizontal para la detección de *Salmonella spp*. Como resultados se obtuvieron crecimiento para aerobios mesófilos seguido de Coliformes totales con un 84%, y Coliformes fecales 72%, *Pseudomonas spp* con 73% de hallazgo en las muestras analizadas, *Escherichia coli* 21%, y finalmente el que se halló en menor proporción fue *Salmonella spp* con 10, 52%. Esto demuestra que no existe cumplimiento respecto a la normatividad vigente de calidad microbiológica del agua.

El proyecto fue financiado por convocatoria interna focalizada 2016 -2017 de la Universidad de Santander, en conjunto con el Comercial GENTECH de Medellín,

MI385

Expression of Toll-like receptors 2 and 4 and matrix metalloproteinases in symptomatic and asymptomatic apical periodontitis

Alejandra Fernández^{1,2}, Peter Gebicke-haerter³, Jessica Astorga¹, Paulina Olivares², Patricio Merino¹, Daniel Pino⁴, Reyes Daniel Court⁵, Marcela Hernández^{1,6,7}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Biología Peridontal, Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento Patología y Medicina Oral, Odontología, Universidad Andrés Bello ⁽³⁾ Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Departamento de Cirugía, Odontología, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽⁵⁾ Departamento de Cirugía, Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁶⁾ Departamento de Patología y Medicina Oral, Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁷⁾ Unidad de Odontología, Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma, Santiago, CL.

Background: Apical periodontitis (AP) is an infectious disease that manifests in chronic inflammatory symptomatic or asymptomatic apical lesions, where the former might correspond to the active form. Toll-like receptors (TLR) 2 and 4 are key for pathogen recognition. MMP-1, -2, -8, -13 are essential to degrade type I collagen, main component of alveolar bone. However, their participation in AP activity is unknown. **Objective:** To determine mRNA expression levels of TLR2, TLR4 and MMPs in asymptomatic apical periodontitis (AAP), symptomatic apical periodontitis (SAP) and healthy controls. **Materials and methods:** AAP (n=35), SAP (n=35) and healthy periodontal ligament controls (n=11) were obtained from chronic apical periodontitis and healthy patients with indication of tooth extraction, respectively, in the Surgery Clinic of the Faculty of Dentistry of Universidad Andrés Bello and Hospital de Urgencia Asistencia Pública. mRNA expression levels of TLR2, TLR4, MMP -1, -2, -8 and -13 were determined by quantitative real-time PCR. Quality of mRNA was assessed by Bioanalyzer. Results were analyzed with K. Wallis, Post-hoc and Dunn's test. **Results:** Gene expression of TLR2, MMP1, -2 and -13 were the highest in SAP followed by AAP and the lowest in controls ($p < 0.05$). TLR4 and MMP8 revealed higher mRNA expression levels in AAP and SAP compared to controls ($p < 0.05$). TLR2, TLR4, MMP -8 and -13 were positively correlated in SAP ($p < 0.05$). **Conclusions:** PAS can represent a progressive state which may be induced in part by TLR-mediated MMPs overexpression.

FONDECYT 1160741.



MI386

G6PD deficiency, primaquine treatment, and risk of haemolysis in malaria-infected patients

Gustavo Fontecha¹, Sara Ávalos¹, Mejía Rosa Elena², Engels Banegas³, Cesar Salinas⁴, Lester Gutierrez⁴, Marcela Fajardo⁴, Suzeth Galo⁴, Alejandra Pinto¹, Ángel Mejía¹. ⁽¹⁾ Instituto de Investigaciones en Microbiología, Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Tegucigalpa, HN ⁽²⁾ Enfermedades transmisibles, Organización Panamericana de la Salud, Tegucigalpa, HN ⁽³⁾ Vigilancia epidemiológica, Ministerio de Salud de Honduras, Tegucigalpa, HN ⁽⁴⁾ Medicina, Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Tegucigalpa, HN

The incidence of malaria in the Americas has decreased markedly in recent years. Honduras and other countries of Mesoamerica and the Hispaniola have set the goal of eliminating native malaria by 2020. To achieve this goal, Honduras has recently approved national regulations including a shortened double dose primaquine treatment for vivax malaria. Considering this new anti-malarial treatment, the high frequency of G6PDd genotypes in Honduras, and the lack of routinely assessment of the G6PD deficiency status, this study aimed at investigating the association between the intake of primaquine and haemolysis in malaria-infected G6PDd subjects. This was a prospective cohort study. Participants with malaria were recruited. *P. vivax* infection was treated with 0.25 mg/kg of primaquine daily for 14 days. Safety and signs of haemolysis were evaluated by clinical criteria and laboratory values before and during the 3rd and 7th day of PQ treatment. G6PD status was assessed by a rapid test (CareStart™) and two molecular approaches. Overall 55 participants were enrolled. The frequency of G6PD deficient genotypes was 7/55 (12.7%), where 5/7 (71.4%) were hemizygous A- males and 2/7 (28.6%) heterozygous A- females. Haemoglobin concentrations were compared between G6PD wild type and G6PDd A- subjects, showing a significant difference between the means of both groups in the 3rd and 7th days. Furthermore, a significant difference was evident in the change in haemoglobin concentration between the 3rd day and the 1st day for both genotypes, but there was no statistical difference for the change in haemoglobin concentration between the 7th day and the 1st day. None of the patients showed signs or symptoms associated with severe haemolysis, and none needed to be admitted to a hospital for further medical attention. The findings support that the intake of primaquine during 14 days of treatment against vivax malaria is safe in patients with a class III variant of G6PDd. It is advisable to be alert of potential cases of severe haemolysis that could occur among G6PD deficient hemizygous males with a class II mutation such as the Santamaria variant, previously reported in the country.

Funding for this study was provided by UNAH's Scientific Research Directorate (DICYP-UNAH), Honduras, and the Panamerican Health Organization office in Honduras.

MI387

Rhenium (I) tricarbonyl complexes as new molecular fluorescent dyes for yeasts and bacteria

Alexander Carreño¹, Carolina Otero², Rubén Polanco³, Manuel Gacitúa⁴, Ramiro Arratia-Pérez¹, Fuentes Juan A.⁵

⁽¹⁾ Center of Applied Nanosciences (CANS), Ciencias Exactas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽²⁾ Escuela de Química y Farmacia, Medicina, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽³⁾ Centro de Biotecnología Vegetal (CBV), Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Departamento de Química, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL. ⁽⁵⁾ Departamento de Ciencias Biológicas, Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Luminescent transition compounds based on rhenium (I) tricarbonyl complexes can be used in fluorescence microscopy to observe mammal eukaryotic cells due their kinetic stability and other properties. Despite the great potential of the rhenium (I) complexes for fluorescence imagery, much less is reported regarding the use of these complexes to stain bacterial and fungal cells since it has been reported that this kind of compounds are unable to enter walled cells. In this work, we reported the synthesis and characterization of *fac*-[Re(CO)₃(bpy)L]⁺ (**C3**) and *fac*-[Re(CO)₃(dmb)L]⁺ (**C4**) complexes, where L is an ancillary ligand *E*-2-((3-amino-pyridin-4-ylimino)-methyl)-4,6-diterbutylphenol. The complexes were characterized using chemical techniques such as UV-Vis, ¹H-NMR, TOCSY, FT-IR, cyclic voltammetry, and X-ray crystallography. Complexes showed luminescent emission with a large Stokes shift (λ_{ex} = 372 nm; λ_{em} = 573 nm for **C3** and λ_{ex} = 370 nm; λ_{em} = 538 nm for **C4**), remarking their potential as biomarkers. Both **C3** and **C4** were tested as luminescent biomarkers compounds in walled cells, including in bacteria (*Salmonella enterica*) and yeasts (*Candida albicans* and *Cryptococcus* spp.), as well as eukaryotic cells (SKOV-3) as control. We found that both **C3** and **C4** acted as efficient biomarkers for walled cells, requiring only 15 min to stain cells without the need of additional steps of permeabilization. By contrast, **C3** and **C4** only stained SKOV-3 cells after 48 h of co-incubation, suggesting that these compounds could be used as differential fluorescent dyes with no need of antibodies.

This work was funded by FONDECYT 11170637 and Proyecto Núcleo UNAB DI-1419-16/N; J. A. Fuentes thanks FONDECYT 1181638; R. Arratia-Pérez thanks FONDECYT 1150629, M. Gacitúa thanks FONDECYT 11170300.

MI388

Anticariogenicidad de la ovoalbúmina sobre un biofilm dual de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*

Natalia García¹, Angela Alarcón¹, Carla González¹, Natalia Díaz¹, **Rodrigo Giacaman¹**. ⁽¹⁾ Departamento de rehabilitación Oral, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, CL.

Existe una exclusión competitiva dentro del biofilm dental entre *Streptococcus mutans* (Sm) y *Streptococcus sanguinis* (Ss), la que es dependiente de la secuencia de colonización de los tejidos duros del diente. No obstante, el cómo afecta la presencia de moléculas como las proteínas de la dieta en dichas relaciones de competición, es desconocido, y es el propósito de este estudio. La ovoalbúmina, con reportadas propiedades anticariogénicas, fue utilizada para crear distintas condiciones medioambientales en un biofilm dual, formado con distintas secuencias de inoculación, en un modelo de biofilm dual sobre esmalte bovino con SmUA 159 y SsSK36. Las secuencias de colonización fueron: Ss seguido de Sm (Ss-Sm), Sm y Ss inoculados al mismo tiempo (Ss=Sm) y como controles; Sm seguido por Sm (Sm-Sm) y Ss seguido por Ss (Ss-Ss). Una vez maduros, los bloques y sus biofilms fueron expuestos 3 veces al día a 10% de sacarosa, durante 5 minutos y luego a ovoalbúmina 1 mg/mL, por 5 minutos adicionales. Los controles anticaries y negativo fueron expuestos a 0,05% de NaF o 0.9% de NaCl, respectivamente. El experimento se extendió por 5 días consecutivos. Al final de los experimentos se evaluó: acidogenicidad, desmineralización de los bloques y se analizaron los biofilms para determinar: biomasa, formación de polisacáridos y conteo de células viables de ambas especies. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y Tukey con un nivel de significancia del 95%. Los biofilms expuestos a ovoalbúmina indujeron una reducción global de alrededor del 60% de la acidogenicidad y la desmineralización, independientemente de la secuencia de inoculación. Cuando Ss fue el primer colonizador, esta reducción fue mayor que en el control Sm-Sm e incluso menor que la inducida por el control positivo anticaries. No se observaron diferencias en la formación de biomasa y polisacáridos en las muestras ($p>0,05$). En comparación con la exposición a sacarosa, los biofilms tratados con ovoalbúmina mostraron menos células viables de Sm cuando Ss colonizó primero el esmalte. Se confirma que la ovoalbúmina podría modificar el biofilm generando un cambio en las relaciones de competición entre especies, traduciéndose finalmente en una disminución de la cariogenicidad.

FONDECYT 1140623

MI389

***In vivo* studies of the immunomodulatory and anti-*Helicobacter pylori* activities of *Lactobacillus fermentum* UCO-979C**

Valeria García¹, Patricia Clua², Susana Salva², Leonardo Albarracín², Haruki Kitazawa³, Susana Alvarez², Apolinaria García¹, Julio Villena². ⁽¹⁾ Microbiology- Laboratory of Bacterial Pathogenicity, Biological Sciences, Universidad de Concepción, Concepcion, CL. ⁽²⁾ Laboratory of Immunobiotechnology, Reference Centre for Lactobacilli (CERELA-CONICET), Tucuman, AR ⁽³⁾ Food and Feed Immunology Group, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai, JP

Previously, we performed a detailed *in vitro* characterization of the probiotic properties and the anti-*Helicobacter pylori* activity of *Lactobacillus fermentum* UCO-979C isolated from human stomach. We demonstrated that the UCO-979C strain strongly inhibited the adhesion, growth and urease activity of *H. pylori* in gastric adenocarcinoma human (AGS) cells. Moreover, *L. fermentum* UCO-979C was able to beneficially modulate the cytokine response of AGS cells and macrophages after *H. pylori* infection. However, no *in vivo* studies had been performed with this strain in order to confirm effects on immune response related with *H. pylori* infection. Therefore, the aim of this work was to evaluate whether *L. fermentum* UCO-979C improves protection against *H. pylori* infection in mice and modulates the innate immune response. For this purpose, adult Swiss mice were treated with 10^8 cells/mouse/day of *L. fermentum* UCO-979C in the drinking water during two consecutive days. Lactobacilli-treated and untreated control mice were then challenged with *H. pylori* SS1 (100 μ l of an inoculum containing 10^8 cells/ml by oral route). The resistance to the infection as well as the innate immune response were studied at day 2 post-infection. *H. pylori* was recovered from the gastric tissue of all the infected animals. However, UCO-979C-treated mice showed significantly lower bacterial cell counts ($p < 0.05$) as well as urease activity ($p < 0.01$) in gastric tissue when compared to controls. Moreover, histological studies showed that the potential immunobiotic strain significantly reduced gastric tissue damage and inflammatory cells infiltration. *H. pylori* infection increased the levels of TNF- α , IL-8, MCP-1, IFN- γ and IL-10 in the gastric tissue as well as in serum in all the infected mice. Of note, lactobacilli-treated mice had significantly lower levels of gastric and serum TNF- α , IL-8, and MCP-1, and higher values of IFN- γ and IL-10 than control mice. Our studies confirmed *in vivo* the anti-*H. pylori* activity of *L. fermentum* UCO-979C and its capacity to beneficially regulate the production of cytokines, ameliorating gastric inflammation.

Study supported by grants PICT-2013-3219 and PICT-201-16 0410 to Julio Villena, and CONICYT 21150603 to Valeria García.



MI390

Detección del virus epstein barr en escolares adolescentes en la ciudad de Cali, Colombia

Sebastian Giraldo¹, Osorio Julio Cesar², Adrian Fernandez³, Andres Castillo¹. ⁽¹⁾ Biología, Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle, Cali, CO. ⁽²⁾ Ciencias basicas, Salud, Universidad del Valle, Cali, CO. ⁽³⁾ Salud publica, Salud, Universidad del Valle, Cali, CO.

Introducción. El virus Epstein Barr (EBV) es uno de los siete virus oncogénicos actualmente reconocidos en infectar humanos; es clasificado como un carcinógeno del grupo 1 por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC). Este patógeno se ha asociado con una amplia variedad de enfermedades, entre las más importantes están el linfoma de Burkitt (variable endémica), linfoma de Hodgkin, mononucleosis infecciosa, carcinoma gástrico, desordenes linfoproliferativos postrasplante y cáncer de cabeza y cuello. En Latinoamérica poco se sabe de este virus en personas aparentemente sanas, además de no haber un sistema de vigilancia para este agente. **Objetivo.** Detectar el EBV en estudiantes entre 14 y 17 años de la ciudad de Cali, Colombia y su posible asociación a factores de riesgo como la ingesta de alcohol, consumo de tabaco, genero, entre otros. **Métodos.** Se analizaron 605 muestras de enjuague bucal proporcionadas por el biobanco del Registro Poblacional de Cáncer de Cali (RPCC), cada una con información sobre características demográficas y factores de riesgo de los participantes que fue recolectada mediante encuestas de auto-diligenciamiento. El análisis se realizó mediante PCR en tiempo real amplificando un fragmento del gen BNFR1, el cual codifica una de las proteínas del tegumento viral. **Resultados.** La frecuencia relativa del EBV en esta población fue del 43% (260/605). La frecuencia de detección del virus fue mayor en los grados escolares menos avanzados, en estudiantes de género masculino, en los que consumen marihuana y en los que ingieren alcohol. En estos últimos se encontró que la frecuencia de detección es directamente proporcional al número de ingesta de alcohol por día. **Conclusiones.** Hasta donde se tiene conocimiento, este es el primer estudio en detectar en EBV en muestras de enjuague bucal de adolescentes aparentemente sanos mediante técnicas moleculares. Hay una aparente asociación entre la detección del virus y algunos factores de riesgo, por lo cual estudios como el presente trabajo pueden convertirse en la base de la implementación de futuros sistemas de vigilancias de este virus.

Proyecto financiado por la Vicerrectoria de Investigaciones de la Universidad Del Valle - Convocatoria Interna 71114.

MI391

Evaluation of inhibitory action of *Synaptic acid*, *Lupeol* and *Betulinic acid* on SOS response induced by ciprofloxacin in *Staphylococcus aureus*

Carvalho Junior Aleksander Rodrigues¹, Martins Arthur Lima De Berredo², Cutrim Brenda Da Silva¹, Santos Deivid Martins¹, Cantanhede Filho Antonio Jose³, Fernandes Elizabeth Soares⁴, Da Silva Luís Cláudio Nascimento¹.

⁽¹⁾ Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas e Parasitárias, Biomedicina, Universidade do CEUMA, Sao Luis, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas e Parasitárias, Medicina, Universidade do CEUMA, Sao Luis, BR. ⁽³⁾ Departamento de Química, Instituto Federal do Maranhão, Sao Luis, BR. ⁽⁴⁾ Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas e Parasitárias, Universidade do CEUMA, Sao Luis, BR.

Staphylococcus aureus (as other bacteria) have evolved a sophisticated mechanism to repair DNA damage induced by certain antibiotics (such as fluoroquinolones and β -lactams) called SOS response. The first step in this pathway is the recognition of the damage by RecA leading to auto-cleavage of LexA repressor and consequently expression of SOS response related genes. SOS response activation has been pointed as promoter of antibiotic resistance and virulence genes expression *S. aureus*. The present work aimed to evaluate the inhibitory action of plant-derived compounds on the induction of the SOS response induced by ciprofloxacin in *S. aureus*. The first step of the work was to determine the minimum inhibitory concentrations (MIC) of the compounds tested (*synaptic acid*, *lupeol* and *betulinic acid*). After that we analyzed the effect of these compounds on the expression of *recA* induced by ciprofloxacin using a *S. aureus* mutant strain where the *recA* gene is fused with *lacZ* (*S. aureus recA::lacZ*). The effect of active compound on ciprofloxacin activity was assessed by MIC determination. Morphological and phenotypical alterations were analyzed by flow cytometry and fluorescence microscopy. *Synaptic acid* showed a MIC of 25 $\mu\text{g/mL}$, whereas for the compounds *Lupeol* and *Betulinic Acid* did not inhibit the growth of *S. aureus* (MIC > 5000 $\mu\text{g/mL}$). On the other hand, *betulinic acid* (200 $\mu\text{g/mL}$ and 100 $\mu\text{g/mL}$) reduced the SOS response induced by ciprofloxacin ($p < 0.05$), presenting a reduction rate of approximately 60%. *Betulinic acid* also increased the action of ciprofloxacin against three *S. aureus* strains. For the ATCC 6538 lineage, the MIC of ciprofoxacin was 0.39 $\mu\text{g/mL}$ and the MIC of ciprofloxacin together with BA was 0.195 $\mu\text{g/mL}$ (BA 100 $\mu\text{g/mL}$) and 0.097 $\mu\text{g/mL}$ (BA 200 $\mu\text{g/mL}$). This additive action was also observed for clinical *S. aureus* strains. This effects seems to be related to the hyperpolarization induced by *betulinic acid* (alone or in combination with ciprofloxacin). The Morphological alterations induced by ciprofloxacin was inhibited by co-treatment of the bacteria with ciprofloxacin and both concentrations of *betulinic acid* (200 $\mu\text{g/mL}$ and 100 $\mu\text{g/mL}$). Our results indicated the potential of *betulinic acid* as an inhibitor of the SOS response.

FAPEMA

MI392

Efeito antifúngico do óleo essencial e do extrato hexânico do resíduo sólido de *Cyperus articulatus* L. (priprioca) sobre *Candida albicans* e *Candida krusei*

Kasper Aline Aparecida München¹, Sousa Sara Freitas¹, Liberal Talita Cunha², San Martin Breno Sena¹, Sousa Jr. José Jeosafá Vieira², Nunes Kariane Mendes³, Escher Sílvia Katrine Silva³, Barata Lauro Euclides Soares¹. ⁽¹⁾ Laboratório P&DBio - Pesquisa & Desenvolvimento de Produtos Naturais Bioativos, Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Microbiologia, Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Farmacotécnica, Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, BR.

Rizomas e tubérculos de priprioca (*Cyperus articulatus*) são muito utilizados na medicina tradicional na África e no Brasil para o tratamento de diversas enfermidades. Na Amazônia a priprioca vem sendo utilizada a décadas no preparo de colônias artesanais e, recentemente, tornou-se matéria-prima da indústria da perfumaria e cosmética nacional, o que conferiu a espécie importância socioeconômica, já que passou a ser cultivada em escala comercial e tornou-se fonte de renda de agricultores familiares. Na extração do óleo essencial de priprioca são geradas grandes quantidades de resíduo sólido, massa vegetal que resultante da extração do óleo essencial sem valor agregado. Considerando o aproveitamento desta biomassa, como possível matéria-prima de novos produtos, o objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial e do extrato hexânico do resíduo sólido de priprioca frente a *Candida albicans* e a *Candida krusei*. Após higienização dos tubérculos de priprioca, secagem por 72 h a 40°C, e trituração em moinho de facas o óleo essencial foi obtido após 6h por hidrodestilação em equipamento de Clevenger. A biomassa residual foi seca em temperatura ambiente e submetida a extração dos metabólitos secundários com o solvente hexano em Soxhlet durante 8h, e posteriormente o extrato foi concentrado em evaporador rotativo a pressões reduzidas. Foi determinado a Concentração Mínima Inibitória (CMI) e a Concentração Fungicida Mínima (CFM) do óleo essencial e do extrato hexânico de priprioca, utilizando a nistatina como controle positivo. Apenas o óleo essencial foi ativo contra *C. albicans* na concentração mínima de 1000 µg/mL, sendo fungistático. O óleo essencial de priprioca apresentou ação inibitória frente à *C. krusei* na concentração mínima de 250 µg/mL, sendo fungicida em 500 µg/mL, em contrapartida o extrato hexânico foi inibitório na concentração mínima 1000 µg/mL, no entanto o tratamento apresentou apenas ação fungistática. Desta forma, constatou-se efeito antifúngico dos metabólitos secundários presentes na priprioca, sendo os tratamentos avaliados mais efetivos sobre *Candida krusei*.

À Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

MI393

Avaliação *in vitro* do potencial antiviral de extratos de *Xylopia benthamii* R.E. Fr. e *Xylopia cf. frutescens*

Morales Rafael L.¹, Santos Cristiangela S.¹, Bronzoni Roberta V. M., Andrighetti Carla R., Valladão Dênia M.S.², Ribeiro Elton B.², Pires Aline F. P.³. ⁽¹⁾ Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular, Instituto de Ciências da Saúde - ICS, Universidade federal de Mato Grosso, Sinop, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Tecnologia Farmacêutica e Controle de Qualidade, Instituto de Ciências da Saúde - ICS, Universidade federal de Mato Grosso, Sinop, BR. ⁽³⁾ Herbário Centro-Norte-Mato-Grossense (CNMT), Instituto de Ciências Naturais, Humanas e Sociais - ICNHS, Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop, BR.

Doenças infecciosas virais são consideradas problemas de saúde pública, principalmente pela carência de terapias medicamentosas, como por exemplo, para a dengue, ou pelo aparecimento de cepas resistentes aos fármacos de primeira escolha, como é o caso dos herpesvírus que tem apresentado resistência ao aciclovir. O objetivo deste trabalho foi avaliar a potencial atividade antiviral dos extratos hexânicos, acetato de etila e metanólicos obtidos a partir das folhas e dos ramos de *Xylopia benthamii* R.E. Fr. e dos extratos hexânicos, acetato de etila e metanólicos das folhas, ramos e frutos de *Xylopia cf. frutescens* contra os vírus Herpes simplex vírus (HSV) tipo 1 cepa KOS e Dengue (DENV) sorotipo 1. A triagem da potencial atividade antiviral e a avaliação da citotoxicidade frente às células Vero E6 dos extratos foram realizadas através do ensaio do MTT. O aciclovir foi utilizado como controle positivo para o HSV-1. As concentrações efetivas a 50 % (CE50) e as concentrações citotóxicas a 50% (CC50) foram calculadas para os extratos que apresentaram atividade antiviral. Os extratos brutos metanólicos dos ramos, folhas e frutos de *Xylopia cf. frutescens*, apresentaram inibição da replicação do HSV-1 apresentando valores de CE50= 14,29±4,55; 27,05±10,84; 27,59±2,83 µg.mL⁻¹ e CC50= 215,17±76,05; 200,50±32,59; 461,00±15,08 µg.mL⁻¹, correspondendo a um índice de seletividade (IS=CC50/CE50) igual a 15,02; 7,41 e 6,70, respectivamente. Enquanto que os extratos metanólico e acetato de etila dos ramos de *X. benthamii*, apresentaram valores de CE50=69,64±39,09 e 34,28±2,76 µg.mL⁻¹ e uma CC50= 213,63±26,30 e 105,17±20,94 µg.mL⁻¹, correspondendo a um IS igual 3,07 e 3,06, respectivamente. Os extratos acetato de etila dos ramos da *Xylopia cf. frutescens* e *X. benthamii* inibiram 31,56±5,12% e 52,4±24,35% da replicação do DENV-1, na concentração de 50 µg.mL⁻¹. Os demais extratos apresentaram baixos valores de inibição da replicação viral ou não foram ativos. Quanto maior o valor de IS, mais seletivo é o material teste sobre o vírus. Sendo assim, por apresentando IS superior a 5, os extratos brutos metanólicos dos ramos, folhas e frutos de *X. frutescens* foram considerados promissores e novos estudos estão em andamento para determinar o mecanismo envolvido nesta atividade de inibição do vírus HSV-1 cepa KOS.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) pela concessão da bolsa e à UFMT.

MI394

Bioprospection of metagenomic samples of the Amazon River and termite gut for expression and characterization of cellulolytic enzymes in *Escherichia coli*

Lima Raul Alcântara¹, Santana Renata Henrique², Thompson Fabiano Lopes³, Krüger Ricardo Henrique¹. ⁽¹⁾ Biologia Celular, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Brasília, BR. ⁽²⁾ Biologia, Instituto Federal de Brasília, Brasília, BR. ⁽³⁾ Microbiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR.

Cellulose is the most abundant biopolymer of the earth being the main constituent of the plant cell wall. Cellulases (endoglucanase, exoglucanase and β -glucosidase) are glycosyl hydrolases responsible for the hydrolysis of cellulose at β -1,4 bonds between glucose monomers. Termites are insects found on almost all continents and play a key role in the decomposition of lignocellulosic organic matter due to the presence of cellulolytic enzymes supplied by symbiotic microorganisms in their intestines. The Amazon River (AR) is the most extensive freshwater river in the world and presents large variations of microbial communities to be explored. Metagenomics allows the detection of general microbial communities that are participating in a particular habitat, for example. In this work, bacteria metagenomic sequences of termite gut (TG) and AR were used for the detection of cellulolytic enzymes that could be used in biotechnological processes such as the production of biofuels, paper, animal feed and the textile industry. These sequences were aligned (GENEIOUS) and subjected to BLAST protein-protein for the detection of conserved domains. At the end of the bioinformatics analyzes, four sequences referring to 2 endoglucanases (1TG and 1AR), 1 exoglucanase (TG) and 1 β -glucosidase (TG) were selected to be expressed in *Escherichia coli* BL21 (DE3). The computational analyzes showed that most domains were related to the GHs of families 3, 5, 9 and 10 with representatives of the phyla, Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes and Spirochaeta, among others. Genes were synthesized on pET24a (+), an expression vector plasmids, and transformed into *E. coli* BL21 (DE3) strains by electroporation. The strains were submitted to induction with 1mM IPTG, 3h at 37°C for enzymatic production. Expression was revealed on SDS-PAGE gel for confirmation of induction. All enzymes presented bands on the gel with the exception of the endoglucanase of RA. However, this was subjected to CMCase assay on Agar plate and activity was detected. Thus, we can conclude that the TG and RA metagenomics can be sources for the discovery of new cellulolytic enzymes that are able to participate in the degradation of lignocellulosic materials and still be used for the benefit of society with biotechnological values.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Decanato de Pós-Graduação da Universidade de Brasília (DPG-UnB).

MI395

Prospecção de enzimas extracelulares produzidas por *Streptomyces* sp

Lima Junior Apolonio Alves¹, Coelho Luana Cassandra ¹, Silva Daniele Ferreira ², Santana Raphael Ferrer³, Santos Irla Nogueira³, Oliveira Stherfanni Moura⁴, Corrêa Cássia Pinheiro⁴, Sousa Júnior José Vieira², Dias Adrielle Leal², Colares Cristiane Jati², Branco Felipe Lima², Araújo Janete Magali³, Amorim Elba Cavalcanti³, Borges Alexandre Escher², Escher Silvia Silva². ⁽¹⁾ Bioquímica e Fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽²⁾ Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal do Oeste do Pará, Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, BR. ⁽³⁾ Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽⁴⁾ Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal do Oeste do Pará, Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, BR.

Actinobactérias são microrganismos encontrados em diversos ambientes, principalmente no solo, onde desempenham papel fundamental na decomposição de matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes. São produtores de uma gama de enzimas de interesse industrial como: amilase, lipase, esterase, pectinase, celulase, xilanase, quitinase e hemolisinas. Diante disso, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a produção de enzimas extracelulares por *Streptomyces* sp. isolados de solo rizosférico amazônico do Brasil. Foram utilizados cinco linhagens de actinobactérias de solo de *Aniba parviflora* Syn *Fragans*, coletado em zona de transição entre Floresta Densa e uma área com características de cerrado (Latitude 20 28' 01.28"S de Longitude 540 49' 45.32"O) no município de Santarém/Pará-Brasil. Os microrganismos foram semeados em forma de tapete e incubados a 37° C por 7 dias. Em seguida, foram feitos blocos de gelose de 5 mm e colocados em contato com os substratos específicos para cada enzima: amido, caseína, gelatina, Tween 20 e 80, pectina e ágar sangue. As placas foram incubadas a 30°C por 10 dias. O aparecimento de um halo indicava a produção das enzimas. Logo após foi determinado o índice enzimático (IE), considerado o potencial enzimático com valores acima de 1,5. Todas as linhagens (100%) foram produtoras das enzimas caseinase, gelatinase e hemolisinas. Quatro (80%) produziram lipase com IE de 2,2, uma (20%) esterases com IE de 2,1, três (60%) foram capazes de amilase com IE de 3,3 e duas (40%) produtoras de pectinase com IE de 3,0. Em relação à produção de hemolisinas, todas as linhagens foram produtoras desta enzima, sendo que quatro apresentaram beta-hemólise e uma a alfa-hemólise. Diante dos resultados obtidos, podemos verificar o potencial enzimático das linhagens de *Streptomyces* sp. isoladas de solo rizosférico da Amazônia, possui um grande potencial biotecnológico, sendo portanto, preferência na geração de produtos oriundos de microrganismos.



MI396

Teste presuntivo para coliformes fecais na multiplicação caseira de *Azospirillum brasilense*

Heloise Daniele Silva Magalhães¹, Ana Clara Alves Souto², Daniela Tiago Da Silva Campos². ⁽¹⁾Laboratório de Microbiologia do Solo, Agronomia, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiaba, BR. ⁽²⁾Laboratório de Microbiologia do Solo, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiaba, BR.

A prática da multiplicação caseira de microrganismos para serem utilizados nas lavouras de soja (*Glycine max* L.) é algo comum nas propriedades rurais no estado do Mato Grosso, Brasil; porém pode trazer sérios riscos para quem a realiza, bem como para a lavoura que a recebe. Os maiores problemas estão relacionados à contaminação por outros microrganismos. O objetivo deste trabalho foi realizar o teste presuntivo para verificar a presença de coliformes fecais pela técnica do Número Mais Provável em amostras advindas da multiplicação de *Azospirillum brasilense* realizada em uma propriedade rural, da cidade de Itiquira, MT. O meio de cultura NFB foi utilizado para o crescimento da bactéria *Azospirillum brasilense* e colocado sob agitação por 14 horas com a injeção de ar. As amostras do meio de cultura foram coletadas de hora em hora, aferido o pH e colocadas em tubo plástico esterilizado, sendo acondicionadas em isopor com gelo. No laboratório, as amostras foram diluídas em solução salina (0,85%) e posteriormente utilizada a técnica do número mais provável com o meio de cultura caldo lactosado que continham tubos de Duham invertidos e incubados à 37 °C por 48 horas. O pH das amostras foi de 6,5 na primeira coleta, chegando a 4,8 com 14 horas de agitação. A formação de gás nos tubos invertidos e possivelmente a presença de coliformes fecais nas amostras foi observada a partir da décima hora de agitação do meio de cultura e com um número bem elevado, de 10^5 e manteve-se assim até a décima terceira hora de agitação. Na décima quarta hora de agitação foi quando o pH caiu para 4,8 e não foi observada a presença de coliformes fecais. Conclui-se que é preocupante a técnica de realizar a multiplicação caseira de inoculante, uma vez que foi detectada a presença de possíveis coliformes fecais; o produtor rural deve se equipar para uma multiplicação eficaz de microrganismos e a pessoa que realiza esta técnica tem que conhecer os riscos que corre realizando esta atividade.

MI397

Aumento da frequência de indivíduos infectados por Hepatite A através de praticas oro-anais

Mello Vinicius M.¹, Lago Barbara V.^{2,1}, Melgaço Juliana G.¹, Mello Francisco C. A.¹, Sousa Paulo S. F.¹, Villar Livia M.¹, Portilho Moyra M.¹, Ginuino Cleber F.¹, Fernandes Carlos A. S.³, Aguiar Shirlei F.³, Elisabeth Lampe¹, Lewis-Ximenez Lia L.¹. ⁽¹⁾ Laboratório/Ambulatório de Hepatites Virais, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos), Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, CL. ⁽³⁾ Laboratório Central de Saúde Pública Noel Nutels - LACEN-RJ, Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, CL.

Nos últimos anos, diversos surtos de Hepatite A (HAV) têm sido relatados em diversos países, ocorrendo principalmente entre homens que fazem sexo com homens (HSH) e sendo associados à transmissão sexual por práticas oro-anais. Mediante um número elevado de atendimentos a HSH com quadro agudo de HAV em um ambulatório de referência no último ano, este estudo teve como objetivo avaliar o comportamento sexual de indivíduos adultos apresentando infecção pelo HAV entre agosto de 2017 e janeiro de 2018. Com isso, foram avaliados possíveis vias de infecção pelo HAV, sendo considerados principalmente, as praticas sexuais. Um total de 28 indivíduos foram identificados com idade média de $33,3 \pm 9,5$, dos quais 24 eram do sexo masculino. Entre estes, 17/24 (70%) eram HSH. Foram obtidos dados quanto as praticas sexuais em 23/28 (82%) indivíduos, onde se verificou que 16/23 (70%) relataram praticas oro-anais. A caracterização molecular do HAV RNA pela PCR de transcriptase reversa qualitativa (RT-PCR) para a região VP1/2A foi realizada em 22 amostras das quais 18 (82%) tiveram HAV RNA detectado. Das 18, apenas 9 (HSH=8) foram sequenciadas e analisadas através de uma árvore filogenética, sendo comparadas com cepas brasileiras e internacionais, classificadas como genótipo IA. Das nove amostras sequenciadas, todas agruparam-se com cepas europeias identificadas em surtos entre HSH. Oito apresentaram elevada homologia entre si (>99,9%) e apenas uma agrupou-se com outra cepa identificada também na Ásia. Apesar da circulação do genótipo IA ser comum no Brasil, as sequências deste estudo apresentaram uma baixa similaridade genética com cepas brasileiras identificadas até o momento. É importante ressaltar que, oito pacientes foram diagnosticados com HIV durante a infecção aguda por HAV, e cinco co-detectados com sífilis. A vigilância da hepatite A em jovens-adulto, principalmente nos HSH é importante para prevenir novas transmissões nessa população, principalmente através de práticas sexuais oro-anais. A disponibilidade de vacinas contra hepatite A para HSH deve ser avaliada no Brasil, já que eles consistem em um grupo de risco para infecção por HAV no país.



MI398

Protective effect of glutathione against oxidative stress induced by desiccation in *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATTC 23270

Claudia Meliissa Muñoz¹, Sebastian Navarro¹, Gloria Levicán¹. ⁽¹⁾ Biología, Química y Biología, Universidad De Santiago de Chile.

Acidithiobacillus ferrooxidans is a Gram-negative, acidophilic, iron-oxidizing bacterium that has been broadly isolated from mining sites, where it participates in the sulphide ore bioleaching process. This bacterium can also be present in arid sites around the world, such as Atacama Desert in the northern region of Chile. The capacity of surviving this extreme environment suggests the occurrence of tolerance strategies against dryness and desiccation. Nevertheless, the study of the molecular and physiological mechanisms involved in desiccation tolerance has been scarcely addressed in this specie. In bacteria, adaptive mechanisms to respond to desiccation mainly involve synthesis and uptake of osmoprotectant compounds such as trehalose and ectoine, however in *At. ferrooxidans*, genes for biosynthesis of these compounds have not been identified. On the other hand, exposure to desiccation can elicit osmotic and oxidative stresses, therefore the response elements to these stresses may have a critical role to endure extreme dryness. We propose that tolerance to desiccation in *At. ferrooxidans* could be, at least in part, due to a robust antioxidant response. To address this hypothesis, we evaluated the effect of dryness condition on intracellular reactive oxygen species (ROS) generation and subsequently, the effect of pre-addition of antioxidants agents on desiccation tolerance. Exposure of cells to 80 minutes of desiccation at 30 °C led to a significant increase of ROS in comparison to cell control. Additionally, this stress condition led to a decrease of 50 % in bacterial growth after 24 h. Interestingly, when cells were pre-treated with 1 mM of the antioxidant agent glutathione, the ROS level and cell growth were re-established to similar levels to those observed in control cells. Pre-treatment also had a positive effect on iron-oxidation activity of cultures as deduced from oxidation/reduction potential determination. On the other hand, in agreement with absence of genes for trehalose and ectoine biosynthesis reported for *At. ferrooxidans*, pre-incubation with 0.5-10 mM of these compounds did not exert an effect on desiccation tolerance. Altogether these results suggest that the antioxidant response has a main role on tolerance to desiccation in this specie.

FONDECYT 1170799.

MI399

Número de bactérias totais na multiplicação caseira de *Azospirillum brasilense*: o que está sendo utilizado como inoculante caseiro

Alves Patricia N¹, Souto Ana Clara A¹, Filho Marcelo Augusto C¹, Campos Daniela T. S¹. ⁽¹⁾ Faculdade de Agronomia e Zootecnia, agronomia, Universidade federal de mato grosso, Cuiaba, BR.

A multiplicação caseira de microrganismos utilizados como inoculantes, promotores de crescimento e/ou no controle biológico de pragas e doenças nas lavouras no estado do Mato Grosso tornou-se uma prática recorrente nos dias atuais, feita muitas vezes na propriedade rural e sem as mínimas condições de assepsia. Este trabalho teve como objetivo quantificar o número de bactérias totais em uma multiplicação caseira de *Azospirillum brasilense* durante 24 horas. Na propriedade rural, fez-se o crescimento do *A. brasilense* em um tanque de inox, onde se colocou 5000 L de meio de cultura composto por: molibdato de sódio, açúcar cristal, aminoácido, K₂H₂PO₄, K₂HPO₄, MgSO₄.7H₂O, nitrato de cálcio, cloreto de ferro III, sulfato de zinco (21%), sulfato de manganês (29%), ácido bórico (17%), sulfato de cobalto, cobre quelatizado em EDTA e *A. brasilense* nas devidas proporções que o microrganismo necessita para o crescimento e o mesmo ficou sob agitação por 14 horas. O tanque é aberto e não passou por um processo de esterilização pelo calor úmido, apenas por uma assepsia química. As amostras foram coletadas de hora em hora onde o pH foi aferido e o material foi acondicionado em caixa de isopor e posteriormente levado para o laboratório para a realização da diluição seriada e a contagem do número de bactérias totais presentes nas amostras. Para a diluição seriada utilizou-se solução salina 0,85% e para a enumeração das bactérias totais utilizou-se o meio de cultura ágar nutriente e as placas foram incubadas à 28 °C por 24 horas. O pH das amostras variou de 6,5 a 4,8 (com 24 horas de agitação). A enumeração de *A. brasilense* também foi feita e os resultados mostram que desde a primeira coleta o número de bactérias totais (108 UFC/mL) foi superior ao número de *A. brasilense* (104 UFC/mL), sendo assim até o final das coletas. Conclui-se que a multiplicação caseira de *A. brasilense* na fazenda favorece a multiplicação de outras bactérias desconhecidas que podem ser prejudiciais ou não à lavoura e ao ser humano e não é aconselhável este tipo de multiplicação, sem assepsia e esterilização de todo o material a ser utilizado.



MI400

Role of *waaC* and *rfaE* genes in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Salmonella enterica* serovar Typhi in motility and envelope stability

Jan Christian Nevermann¹, Fuentes Juan A¹. ⁽¹⁾ Ciencias Biológicas, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello

Lipopolisaccharide (LPS) is an important agent in Gram-negative pathogenesis, and it has been reported that it also plays relevant structural roles. *waaC* and *rfaE* genes are involved in synthesis of the first LPS components. Specifically, RfaE protein is responsible for the first “inner core” precursors synthesis, while WaaC transports and anchors these precursors to lipid A. In *Escherichia coli*, the absence of *waaC* and *rfaE* genes generates strains lacking flagellum, and therefore, non-motile mutants. In addition, it has been shown that absence of these genes increase sensitivity to detergents and low pH. At present, little is known about *waaC* and *rfaE* functions in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) and *Salmonella enteica* serovar Typhi (*S. Typhi*). We propose that these genes might be also involved in motility, permeability and envelope stability. Performing motility assays, we were able to demonstrate that *S. Typhimurium* mutant in both genes showed non-motile phenotypes. Nevertheless, unlike the previous case, *S. Typhi* mutant showed a WT motility phenotype. Cytoplasmic protein secretion assays showed a high protein secretion phenotype in *S. Typhimurium* strains, whereas *S. Typhi* mutant strains offered a poor cytoplasmic protein secretion. Finally, we performed sodium dodecyl sulfate sensitivity assays. In these case, we obtained sensitive phenotypes in mutant strains of both serovars, comparing to their respective wild type strains. We concluded that *waaC* and *rfaE* were needed only in *S. Typhimurium* to preserve motility. We also concluded that both genes play a role in envelope stability in *S. Typhimurium* and *S. Typhi*. Nevertheless, they might be more important in *S. Typhimurium* for this purpose.

FONDECYT 1181638 and Proyecto Núcleo UNAB DI-1419-16/N.

MI401

Selección, caracterización y evaluación de un fragmento de anticuerpo humano, para el complejo proteico HLA-a*0201/peptido ag85b239-247 de *Mycobacterium tuberculosis*

Paola Ortega¹, Espitia Clara Ines^{3,2}, Cristina Parada^{3,2}. ⁽¹⁾ Instituto de Investigaciones Biomédicas, Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, MX ⁽²⁾ Instituto de Investigaciones Biomédicas, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, MX ⁽³⁾ Instituto de Investigaciones Biomédicas, Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, CL.

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa causada por *Mycobacterium tuberculosis* que continua siendo un problema de salud pública a nivel mundial, su erradicación se ha visto afectada por el surgimiento de cepas resistentes al tratamiento, que hacen imperativa la búsqueda de nuevas alternativas. **Antecedentes:** A partir del conocimiento de la importancia de los linfocitos T en el control de la infección y la identificación de antígenos reconocidos por estas células en el contexto del MHC-I, se está planteando el desarrollo de anticuerpos que reconozcan complejos péptido/MHCI llamados anticuerpos *TCR-like*, con posible potencial inmunoterapéutico. Uno de los antígenos micobacterianos más importantes es el Ag85b que pertenece al complejo proteico Ag85 que tiene actividad de micoliltransferasa implicada en el ensamblaje de la pared, es un antígeno de secreción en fase aguda de la infección, a nivel inmunológico es catalogado como inmunodominante e induce una alta proliferación de linfocitos T y secreción de IFN- γ , por lo que se ha considerado como un blanco antigénico para el diseño de vacunas, se han identificado epítopes de Ag85b que se presentan en el contexto de la proteína HLA-A*0201, reconocidos por los linfocitos T CD8+ **Hipótesis:** El dominio de anticuerpo seleccionado y caracterizado, mediante la técnica de despliegue en fago, identificará al complejo proteico formado entre la molécula HLA-A*0201 y el péptido Ag85b239-247 (C/Ag85b) expresado en la superficie de células THP1 infectadas con *Mycobacterium tuberculosis*. **Objetivo:** seleccionar, caracterizar y evaluar el reconocimiento de un dominio de anticuerpo, hacia el complejo C/Ag85b. **Conclusiones:** 1) El proceso de selección utilizando la técnica de despliegue en fago a partir de una biblioteca de dominios de origen humano, permitió identificar 2 clonas que evidenciaron reconocimiento específico hacia C/Ag85b mediante un inmunoensayo, 2) La transformación e inducción de expresión proteica en la cepa *E. coli* HB2151 permitió evidenciar los dominios de anticuerpo en forma soluble. 3) La aplicación de sefarosa acoplada a Proteína-A, permitió la purificación de dominios de anticuerpo a partir de las clonas seleccionadas. **Perspectivas:** se evaluará el reconocimiento específico de los dominios de anticuerpo purificados mediante un inmunoensayo y sobre la superficie de células THP1 infectadas con *Mycobacterium tuberculosis*.

Programa Institucional NUATEI, del Instituto de Investigaciones Biomédicas.



MI402

Detecção de *Staphylococcus aureus* na água de bebedouros e vaporizadores em parques públicos da cidade de São Paulo, Brasil

Santos Geysse Aparecida Cardoso^{1,2,3}. ⁽¹⁾ Saúde Ambiental, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo
⁽²⁾ Salud Publica, Salud Publica, Universidad de Antioquia ⁽³⁾ Saúde Ambiental, Facultad de Salud Publica, Universidade de São Paulo, São Paulo, BR.

Os parques urbanos desempenham um papel fundamental na qualidade de vida, promovendo bem-estar para a população. Em São Paulo existem mais de 100 parques municipais, contribuindo na melhora da qualidade do ar, redução de ruído e amenizando temperaturas. Proporcionam, especialmente, para crianças e idosos, ambiente ideal para práticas de atividades físicas, recreação, socialização e outras atividades. Dado a importância destes locais na cidade, esses espaços devem fornecer condições adequadas para os seus frequentadores tais como fontes de água de qualidade as quais são utilizadas em bebedouros e dispersores de água (vaporizadores) usados para se refrescar. O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade da água de bebedouros e vaporizadores em quatro parques municipais, por um período de doze meses. Foi analisado *Staphylococcus aureus*, em amostras de água de bebedouros (552) e de biofilmes formados nos vaporizadores (84). O método de investigação se baseou no Método Padrão para o Exame de Água e Águas residuais (22º, 2012) e o manual de “Detecção e identificação de bactérias de importância médica” (ANVISA, 2013) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). A confirmação *S. aureus* foi realizada pela presença de genes *nuc* e *coa* específicos da espécie e o potencial patogênico foi avaliado através da presença de genes *sea*, *seg* e *luk-PVL*, estes relacionados a enterotoxinas, através da Reação em Cadeia da Polimerase – PCR. Até o momento, 11 isolados das amostras de água foram positivos para *S. aureus*, representando 20% do total analisado, enquanto nas amostras de vaporizadores a frequência foi de 13%. Esses resultados destacam a importância de se investigar e controlar a presença deste patógeno em ambos os equipamentos urbanos, já que *S. aureus* é responsável pelo segundo maior número de infecções humanas e níveis elevados de resistência aos antibióticos em todo o mundo segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS). A perspectiva futura é identificar a resistência a antimicrobianos destes isolados. Estes resultados revelam que estes equipamentos urbanos devem ser monitorados constantemente, a fim de controlar contaminação microbiana e, em seguida, proteger a saúde dos usuários dos parques.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq

MI403

Diversity of endophytic fungi from guarana seeds (*Paullinia cupana*) cultivated in Amazonia, Brazil

Blenda Silva¹, Jânia Bentes¹, Carla Santos², Nelson Lima², Cledir Santos³. ⁽¹⁾ Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas. ⁽²⁾ Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho. ⁽³⁾ Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera.

Endophytic fungi are a potential source of important bioactive natural products. The analysis of the diversity of these microorganisms contributes to the delineation of the endophytic communities of host plants, helps in the discovery of new species of fungi and new bioactive compounds. The aim of this study was to analyze the diversity of endophytic fungi of guarana seeds. The seeds were extracted from healthy fruits of guaraná (*Paullinia cupana*), from the cultivars resistant (BRS-871) and susceptible (BRS-300) to anthracnose, were collected in the experimental fields of EMBRAPA Amazônia Ocidental located at the municipalities of Manaus and Maués (Amazonas, Brazil). The fungi were isolated, purified and identified by morphology and molecular biology technique based on the ITS1 and ITS4 regions. The calculated diversity analyzes were the Shannon-Wiener (H), Simpson dominance (D) and Margalef diversity indexes (Dmg). Seventy-two endophytic fungi were isolated from guarana seeds, which were separated into different morphotypes. Classical morphology together with molecular biology results led to 40 endophytic fungi isolated from guarana seeds resulted in the identification of 11 genera, the most frequent being: *Clonostachys* sp. and *Fusarium* sp. and the others distributed in the species: *Aspergillus flavus*, *Clonostachys rosea*, *Cladosporium halotolerans*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium concolor*, *F. polyphialidicum*, *F. decemcellulare*, *Lentinus swartzii*, *Pestalotiopsis microspore*, *Simplicillium lanosoniveum* and *Talaromyces amestolkiae*. Four endophytic fungi were identified only at the order level, inserted in the Agaricales and Polyporales orders. Nine isolates were not identified at the species level, inserted in the genus *Bionectria* sp., *Fusarium* sp. and *Phomopsis* sp. The analyzes resulted in 0.10 of D influenced by the most abundant species of the community, Dmg of 3.75 indicating diversity of endophytic fungi, and H of 2.45 which expresses species heterogeneity. In this way, guarana seeds are colonized by a highly diverse and heterogeneous community of endophytic fungi. The endophytic community originated from BRS-300 is more diverse, where all 10 fungal species belong to the phylum Ascomycota. In the endophytic community from BRS-871, the endophytes were distributed 50% in the phylum Ascomycota and 50% in the Basidiomycota, and added 4 species, thus demonstrating less diversity in this group.

CAPES Brazil For PhD Grant. Portuguese Foundation For Science And Technology, It Was Under The Scope Of The Strategic Funding Of The UID/BIO/04469/2013 Unit, COMPETE 2020 (POCI-01-0145-FEDER-006684) And The BioTecNorte Operation.



MI404

Activated sludge of a kraft-pulp mill as a source of microorganisms highly tolerant to aromatic inhibitors from lignocellulosic hydrolysates

Marcelo Araya-Nail¹, Raúl Donoso¹, Danilo Pérez-Pantoja¹. ⁽¹⁾ Programa Institucional de Fomento a la I+D+i (PIDi), Universidad Tecnológica Metropolitana, Santiago, CL.

Lignocellulosic material derived from plant biomass has a huge potential for the sustainable production of biofuels in the near future. Nevertheless, a class of compounds designated lignocellulosic derived inhibitors (LDIs) are generated as by-products during the acid hydrolysis of plant biomass and represent a key challenge in the production of biofuels. LDIs severely affect the physiology of microorganisms used in the production of biofuels lowering the yield of the bioprocess. Some of the most prominent LDIs are aromatic monomers such as guaiacol, vanillin and 4-hydroxybenzaldehyde which are released during the hydrolysis of lignin, one of the principal component of lignocellulose. This study focus in the search of microorganisms inhabiting activated sludge obtained from a treatment plant for kraft-pulp mill effluents, which is a very stressful environment due the high content of toxic chemicals derived from pulp bleaching process. We hypothesized that microbial communities adapted to this harsh environment will contain metabolic functions very useful for tolerance to LDIs. Consequently we used classical techniques of enrichment for the isolation of highly tolerant strains to aromatic aldehydes such as vanillin and 4-hydroxybenzaldehyde; and to guaiacol, one of the most prominent phenolics. We isolated several strains showing a very high tolerance to the indicated compounds. The strains were able to grow at concentrations higher than 25mM of 4HB, 30mM of vanillin and 30mM of guaiacol. The taxonomic identification of the strains was performed by 16S rRNA sequencing and genera identified correspond mostly to *Enterococcus* and *Bacillus*. The tolerance mechanisms on these bacteria are currently under study, preliminary revealing the importance of biotransformation for the resistance phenotype. In addition the genome sequencing of some of these strains is currently under way. This work open a way to study the molecular basis of the LDIs tolerance in highly resistant bacteria, allowing in the near future their exploitation for optimization of biofuel production.

FONDECYT 1161750 and CONICYT Research Ring N° ACT172128 from Chilean Government

MI405

Avaliação do desempenho do teste Quantiferon-tb Gold® para o diagnóstico da tuberculose latente em pacientes imunodeprimidos do estado de Pernambuco

Fabiana Santos², Marcela Salazar¹, Aline Peixoto¹, Gabriela Guedes³, Juliana Figueirêdo¹, Ilyana Coutinho¹, Leonardo Linhares¹, Romário Araújo¹, Michelle Rabello¹, Luanna Sousa¹, Lilian Montenegro¹, Haiana Schindler¹. ⁽¹⁾ Departamento de Imunologia, Instituto Aggeu Magalhães, Recife, BR. ⁽²⁾ PE, Fiocruz / Instituto Aggeu Magalhães, Recife, BR. ⁽³⁾ LACEN/PERNAMBUCO - Laboratório Central de Saúde Pública, Recife -Brasil, BR.

A infecção latente da tuberculose (ILTb) é o período entre a entrada do bacilo no organismo e o aparecimento da tuberculose (TB) ativa, onde o paciente não apresenta sintomas nem evidência clínica ou radiológica da doença. Pode ocorrer principalmente em pacientes imunodeprimidos, que tem os mecanismos imunológicos deficientes por doenças ou condições que alteram as defesas imunitárias. A ILTB é diagnosticada quando o indivíduo apresenta um teste tuberculínico (TT) positivo associado à exclusão da doença ativa. A metodologia que utiliza a dosagem de liberação de interferon-gama (IFN- γ) (*Interferon-Gamma Release Assays - IGRAs*) tem sido considerada um grande avanço no diagnóstico da ILTB. O princípio da técnica é avaliar a produção de IFN- γ em resposta à estimulação por antígenos específicos do *Mtb*. Foram analisados 106 pacientes, da região metropolitana do Recife foram 89 (82%) pacientes e 17 (18%) das mesorregiões de Pernambuco. Dos pacientes incluídos na pesquisa, 64 (60,4%) foram do sexo masculino e 42 (39,6%) do sexo feminino, com idade variando de 14 a 78 anos com média de 38 anos. Todos os pacientes realizaram o TT através da inoculação intradérmica do derivado proteico purificado (PPD) do *Mycobacterium tuberculosis (Mtb)* e coletaram sangue para realização do IGRA. Dentre as doenças imunossupressoras do estudo, a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (do inglês, *Human Immunodeficiency Virus - HIV*) foi a mais prevalente. Do total dos pacientes investigados, 19 pacientes apresentaram reatividade ao TT, com induração variando entre 6-23 mm, sendo assim classificados como portadores de ILTB. Considerando o resultado da TT como o padrão-ouro para o diagnóstico da ILTB, a sensibilidade e especificidade do teste QFT-GIT foram 73,68% e 93,85%, respectivamente. A concordância global entre os testes diagnósticos QFT-GIT e TT foi considerada substancial com o valor de κ 0.6881 ($p < 0,001$). O TT e o QFT-GIT são complementares principalmente em pacientes imunodeprimidos, onde o tratamento poderá ter impacto sobre a taxa de TB ativa e sobrevida desses pacientes.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)



MI406

Antifungal activity on *Botrytis cinerea* of quinolizidine-containing chemotypes from *Genista monspessulana* on modifying nitrogen availability

Ana Elizabeth Romero-Rincon¹, Ericsson Coy-Barrera¹. ⁽¹⁾ Bioorganic Chemistry Laboratory, Universidad Militar Nueva Granada.

Nitrogen (N) is the most important nutrient in plants, since it is involved on their physiological and biochemical processes. Most of the N that is fixed is due to those bacteria closely related to the roots of the legumes, which causes these plants to synthesize a large number of N-containing non-protein molecules intimately involved in N storage and other many cases in defending processes. Regarding this kind of compounds, quinolizidine alkaloids (QA) are mainly described for the *Genisteae* tribe plant. These metabolites are synthesized mainly in the leaves and are distributed throughout the plant; its expression is given depending on age and environmental factors such as light, humidity and N availability and other elements. These alkaloids have been highly studied for their toxicity against pathogens and insects. Taking into account these facts, in the present work is described the variation of quinolizidine content of extracts obtained from *Genista monspessulana* cultivated in greenhouse at different ages and nutritious solutions. The resulting extracts were evaluated against the phytopathogen *Botrytis cinerea* using the modified media protocol. Aphylline was found to be the most abundant QA in all samples, and it was evidenced that the N available in the substrate determined the QA presence/absence as well as their abundance, defining the QA-containing chemotypes. This fact impacted enormously the observed antifungal activity, since inhibitions greater than 90%, especially in the samples obtained at third age, where the highest abundance of QA was found regardless the fertilization type. This activity was therefore attributed mainly, due to its supervised correlation, to QA sparteine, lupanine and aphylline. Our findings indicated that *G. monspessulana*-derived subproducts varying the N availability might be used for controlling *B. cinerea*.

MI407

Structure and functions of hydrocarbon-degrading microbial communities in Bioelectrochemical systems

Anna Espinoza Tofalos¹, Matteo Daglio¹, Enza Palma², Giuseppina Bestetti¹, Federico Aulenta², Andrea Franzetti¹.

⁽¹⁾ Department of Earth and Environmental Sciences, University of Milano-Bicocca, Milan, IT ⁽²⁾ Water Research Institute (IRSA), National Research Council (CNR), Roma, CL.

Bioelectrochemical Systems (BESs) are an innovative technology that has been suggested to stimulate the anaerobic degradation of hydrocarbons. Understanding the microbial community structure and genetic potential of anode biofilms is of great interest to interpret the degradation mechanisms that take place in BESs. In this study, the removal of hydrocarbons (phenol, toluene and a mixture of BTEX) was assessed in continuous-flow BESs and the composition of the anodic microbial communities in the inoculum and after the treatment was characterized by high throughput sequencing of the 16S rRNA gene. Moreover, using a whole metagenome sequencing approach, taxonomic and functional diversity patterns of the microbial community were obtained. The system operated with phenol was inoculated twice: first with a municipal activated sludge (inoculum 1) and after 33 days was re-inoculated with a refinery wastewater from a petrochemical plant (inoculum 2). Inoculum 2 was further used to inoculate the runs with toluene and BTEX. The genus *Geobacter* was highly enriched on the anodes of the three systems due to their capacity to degrade hydrocarbons in absence of oxygen and to use the anode as solid electron acceptor. Binning of the contigs resulted in the reconstruction of 380 metagenomes, of which 8 have been selected for more in deep analyses, due to their high abundance in the reactors and the high percentages of completeness. The next step will be to determine if these genomes have the degradative pathways of the hydrocarbons of interest and also to study the mechanisms of respiration and electronic transfer. To functionally characterize the microbial community, the gene coding for benzoate-CoA ligase was selected as genetic marker for the anaerobic degradation of aromatic compounds. Benzoate-CoA ligase gene was more abundant in the inoculum 2 and on the anode of the phenol-BES. Moreover, 24%, 18% and 43% of the genes that encode for Benzoate-CoA ligase in the reactors with BTEX, phenol and toluene respectively, belongs to *Geobacter* sp., which is concordant with the taxonomic data. The metagenomic approach provided useful insights into the ecology and complex functions within hydrocarbon degrading electrogenic biofilms.

Italian National Institute for Insurance against Accidents at Work (INAIL)



MI408

Actividad inhibitoria de extractos etanólicos de especies vegetales (*Lauraceae*) sobre hongos fitopatógenos

Jose Gómez Díaz¹, Jorge Alberto Luna Fontalvo¹. ⁽¹⁾ Programa de Biología, Ciencia Básicas, Universidad del Magdalena, Santa Marta, CO.

La familia Lauracea comprende una amplia diversidad de especies que tienen gran potencial antimicrobiano, debido a que poseen estructuras orgánicas conocidas como extractos etanólicos, los cuales requieren ser estudiados constantemente para la aplicación biotecnológica, ecológica, industrial y medicinal. En ese sentido, esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto antifúngico de extractos etanólicos de tres especies de la familia Lauraceae (*Cinnamomum triplinerve*, *Persea caerulea* y *Ocotea longifolia*). Para tal fin, los extractos etanólicos se obtuvieron a partir de muestras de hojas, corteza y madera de las especies vegetales, a los cuales se les realizaron diluciones con Dimetil Sulfoxido ajustando a 50 µg/ml, 100 µg/ml, 150 µg/ml, 250 µg/ml y 500 µg/ml. Para la actividad antifúngica se emplearon las cepas de *Fusarium oxysporum* ATCC® 62506™ y *Alternaria alternata* TCC® 6663™, se realizaron ensayos a través de los métodos de crecimiento micelial en medio sólido PDA y pruebas de germinación de esporas. Los resultados muestran que los extractos de *C. triplinerve* y *O. longifolia* a partir de 150 µg/ml inhibieron el 70% del crecimiento micelial de *F. oxysporum* y *A. alternata*, mientras que los extractos de *P. caerulea* en concentraciones de 500 µg/ml inhibieron el 45% y 50% del crecimiento micelial de *F. oxysporum* y *A. alternata* respectivamente. Para todos los extractos vegetales se encontró que al menos afectan en un 65% la germinación de esporas de los hongos fitopatógenos ensayados. Con este estudio se demuestra que los extractos vegetales de especies de la familia Lauracea resultan como una alternativa para el control de hongos fitopatógenos asociados a cultivos de interés agrícola de la región del caribe colombiano.



MI409

Recuperación de suelos contaminados con toxafeno a través de sustratos orgánicos pretratados con hongos

Fontalvo Luna¹, Romero Isaac Manuel ², Vera Sandra Milena². ⁽¹⁾ Biología, Ciencias Básicas, Universidad del Magdalena.

⁽²⁾ Laboratorio de Calidad de Agua, Facultad de Ingeniería, Universidad del Magdalena, Santa Marta, CO.

El toxafeno es un plaguicida policlorado que se empleó por muchos años en los cultivos de algodón. Su uso fue restringido por su alto grado de toxicidad para el medio ambiente y salud humana a través de la Convención de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes. Luego de su prohibición, en la central de algodoneiros del corregimiento de Caracolicito (Departamento del Cesar, Colombia) realizaron prácticas de manejo inadecuadas que generaron la contaminación del suelo. Debido a esta problemática y a la importancia que tienen los hongos ligno-celulolíticos, esta investigación tuvo como objetivo evaluar la degradación del toxafeno presente en el suelo utilizando sustratos orgánicos inoculados con dos especies de hongos, *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum*. Para tal fin, se conformaron mezclas de suelo contaminado con aserrín y cascarilla de arroz inoculados con las cepas de hongos seleccionadas en proporciones p/p (1/1) durante cinco meses. La extracción de toxafeno del suelo se realizó a través de digestión con solventes y sonicación y la cuantificación por cromatografía de gases. Así mismo, se evaluaron los parámetros físico-químicos (humedad, pH, carbono, materia orgánica, fósforo y nitrógeno). Los resultados muestran que los hongos presentan capacidad para biodegradar toxafeno especialmente si actúan sinérgicamente sobre el sustrato de cascarilla de arroz y aserrín/cascarilla de arroz donde se observó un 90% de degradación. Así mismo, el suelo biotratado presentó aumento de carbono, materia orgánica, pH y contenido de nutrientes. Con este estudio se demuestra que los hongos ligno-celulolíticos masificados en sustratos orgánicos de origen agroforestal resultan como una alternativa para la recuperación o biorremediación de suelos contaminados con plaguicidas como el toxafeno.

MI410

Possíveis impactos da perda de um repressor transcricional na interação entre *Mycobacterium bovis* BCG Moreau e células hospedeiras

Maia Renata Monteiro¹, Correa Paloma Rezende¹, Pinho Rosa Teixeira ², Sousa-Vasconcelos Perieira Silva², Lima Leila Mendonça¹. ⁽¹⁾ Instituto Oswaldo Cruz, Laboratorio de Genomica Funcional e Bioinformatica, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, BR ⁽²⁾ Instituto Oswaldo Cruz, Laboratorio de Imunologia Clínica, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, BR

Mycobacterium bovis BCG é a única vacina disponível na prevenção da tuberculose, doença infecciosa causada pelo *M. tuberculosis* e responsável por 10,4 milhões de novos casos e 1,7 milhão de mortes em 2016. “BCG” compreende uma família de cepas geneticamente distintas pela perda de diferentes regiões genômicas (RD), além de outros tipos de mutações como inserções/deleções e SNPs. BCG Moreau, cepa usada no Brasil, perdeu a região genômica RD16, levando ao truncamento do gene que codifica o regulador transcricional Rv3405c, que regula negativamente a expressão de Rv3406, uma alquil sulfatase. Para avaliar o impacto da perda da *rv3405c*, uma cepa de BCG Moreau carreando apenas o vetor pUS977 (MD05c) e uma cepa complementada com uma cópia funcional de *rv3405c* de BCG Pasteur (M::05c) foram usadas para infectar macrófagos humanos da linhagem THP-1, para avaliar: a viabilidade das cepas recombinantes, o padrão de citocinas secretadas (TNF- α , MIP-1b, IL-1b, IL-6 e IL-8) e a viabilidade das células hospedeiras. Células THP-1 foram diferenciadas em macrófagos e infectadas com MOI de 1:1. Todas as variáveis foram analisadas nos tempos de 6, 24, 48, 72 e 96 horas após a infecção. Nossos resultados demonstram que a viabilidade de MD05c é maior do que M::05c tanto em meio axênico quanto no ambiente intracelular, sugerindo um possível ganho funcional associado à expressão constitutiva de Rv3406. Por outro lado, a viabilidade das células hospedeiras não apresenta diferenças significativas quando infectadas pelas cepas recombinantes. Observamos diferenças relativas ao perfil de secreção das citocinas IL-1 β and IL-6. Este trabalho contribui para elucidar o impacto da deleção genômica RD16 na fisiologia da cepa vacinal brasileira, BCG Moreau.

CAPES. CNPq. Fiocruz



MI411

Utilidad del papel filtro como medio de transporte para la preservación de muestras de esputo en el diagnóstico de tuberculosis en Colombia

Llerena Claudia¹, Puerto Gloria², Erazo Lina¹, **Rubio Vivian**², Valbuena Angelica¹, Zabaleta Angie¹, Jimenez Juliana³, Suarez Nicol³⁽¹⁾ Micobacterias, Dirección Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, CO. ⁽²⁾ Micobacterias, Dirección de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, CO. ⁽³⁾ Bacteriología y laboratorio clínico, Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogota, CO.

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa, transmitida por medio de aerosoles y gotículas de saliva provenientes de pacientes enfermos, que puede presentarse en personas de cualquier edad. Según la OMS, en el mundo para el año 2016 se notificaron 6,6 millones de casos de tuberculosis, de los cuales solo 3,6 millones casos fueron confirmados bacteriológicamente. En Colombia, se notificaron al Sistema Nacional de Vigilancia 14.187 casos, donde los cuales 74,1% fueron confirmados por laboratorio, 24,7% por clínica y 1,2% por nexo epidemiológico. Durante este mismo año se detectaron 359.773 sintomáticos respiratorios, a los que se les realizaron 883.914 baciloscopias, diagnosticando 7.331 casos de TB. Los principales desafíos que debe afrontar Plan Nacional de Control de la Tuberculosis del país están ligados al control de la enfermedad en zonas geográficas con altas tasas de TB y difícil acceso a los servicios de atención y prestación en salud, donde se deben mejorar las alternativas diagnósticas, dado el bajo aporte que ofrece la baciloscopia, siendo la metodología empleada en estas zonas de difícil acceso. Se ha recomendado el uso de papel de filtro para el diagnóstico de algunas enfermedades infecciosas, lograron ampliar la cobertura de pruebas diagnósticas. Por esto, se pretendió evaluar la utilidad del papel filtro como medio de transporte para la preservación de muestras de esputo baciloscopia positiva para la recuperación de *M. tuberculosis*, en cuatro departamentos en Colombia. Se han obtenido 11 muestras de esputo en el mes de mayo de 2018, donde se realizó a partir del papel filtro impregnado con la muestra, pruebas fenotípicas y moleculares para diagnóstico de TB; de estas, se ha obtenido crecimiento en medio sólido de 6 muestras y medio líquido 9. Hasta el momento se han procesado 4 muestras por la metodologías BACTEC MGTI 960®, Genotype® MTBDR^{plus} V2.0 y qPCR diseñada en el laboratorio, identificado *Mycobacterium tuberculosis* sensibles a isoniacida y rifampicina en todas. Los resultados hasta el momento son alentadores y promisorios para la implementación de esta técnica en el transporte de las muestras, con el objetivo de aumentar la capacidad diagnóstica del país y brindar diagnóstico y tratamiento oportuno a los pacientes

MI412

Micobacteriosis asociadas a procesos invasivos e injurias en piel en un Laboratorio de Referencia Nacional en el período 2010-2017. Agentes causales y su perfil de sensibilidad.

Paul Roxana¹, Sandoval Alexandra¹, Lafuente Griselda¹, Wainmayer Ingrid¹, Paolo Jose¹, Mazzeo Francisco¹, Simboli Norberto¹. ⁽¹⁾ Departamento de Bacteriología, Servicio Micobacterias, INEI ANLIS "Dr. C. G. Malbrán", Ciudad Autónoma de Buenos Aires, AR.

Introducción. Las micobacterias no tuberculosis (MNT) rara vez causan patología en individuos inmunocompetentes. En los últimos años se ha observado un incremento de las infecciones por MNT por traumatismos que alteran la barrera cutánea, procedimientos dermoestéticos e intervenciones médicas invasivas. **Materiales y Métodos.** Se analizaron los resultados de 222 aislamientos clínicos de pacientes con procedimientos invasivos e injurias en piel causantes de micobacteriosis durante el período 2010-2017. Los aislamientos fueron identificados por PRA y en algunos casos además, por MALDI-TOF y pruebas bioquímicas. Para cada especie se determinó la concentración inhibitoria mínima a los antibióticos recomendados en las normas de la CLSI. **Resultados.** De los 222 aislamientos, 49 (22.1%) procedían de pacientes con injurias en piel y 173 (77.9%) de pacientes sometidos a procedimientos invasivos. De estos últimos, 101 (58,4%) se debieron a procedimientos estéticos y 72 (41,6%) a intervenciones médicas. Las especies más frecuentes asociadas a injurias en piel fueron *M. marinum* (n=17); seguida por las especies de rápido desarrollo *M. chelonae* (n=10), *M. fortuitum* (n=8) y *M. abscessus* (n=3). Las especies más frecuentemente asociadas a pacientes con procedimientos invasivos fueron las MNT de rápido desarrollo (92%), *M. fortuitum* (n=67), *M. abscessus* (n=43), *M. chelonae* (n=36), y dentro de las nuevas especies descritas *M. senegalense* (n=13) y *M. mageritense* (n=8). Más de la mitad de los aislamientos de *M. fortuitum*, *M. abscessus* y *M. mageritense* resultaron resistentes a claritromicina, mientras que *M. chelonae* y *M. senegalense* fueron sensibles. *M. abscessus* es la especie que presenta mayor nivel de resistencia a fluoroquinolonas, amikacina, tobramicina, linezolid y doxiciclina, pero muestra sensibilidad variable a cefoxitina. *M. marinum* resultó sensible a claritromicina, fluoroquinolonas, amikacina y rifampicina, pero aproximadamente el 50% de los aislamientos fueron resistentes a tetraciclinas. **Conclusiones.** Si bien todas las especies de MNT pueden causar infecciones, las micobacterias de rápido crecimiento son los principales agentes causales de las micobacteriosis asociadas a procesos invasivos y *M. marinum* a injurias de la piel. Como muestran una gran variabilidad en su respuesta a los antibióticos, es necesario realizar la identificación a nivel de especie y determinar su perfil de sensibilidad *in vitro*.

MI413

Atividade antibacteriana e anti-biofilme de geraniol e timol contra *Pseudomonas aeruginosa*

Furlanetto Alessandra¹, Alves Fernanda Cristina Bérghamo¹, Pereira Ana Flávia Marques¹, Albano Mariana¹, Andrade Bruna Fernanda Murbach T.¹, Fernandes Junior Ary¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências de Botucatu (IBB), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, BR

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria Gram-negativa, encontrada majoritariamente na água e no solo, altamente patogênica, possuindo um caráter oportunista, especialmente em indivíduos imunologicamente comprometidos. Um de seus principais fatores de virulência é o biofilme, que simboliza uma forma protetora de seu crescimento. Como métodos alternativos ao combate de bactérias patogênicas, os óleos essenciais e seus componentes majoritários são bastante estudados, entre eles, o geraniol e o timol. Assim, o objetivo desse trabalho foi de determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos produtos frente às bactérias pela metodologia de microdiluição (Resazurin Microtiter Assay – REMA) em microplacas de Elisa e de avaliar a produção de biofilme pela cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853 por meio de concentrações subinibitórias de timol e geraniol. Foram adicionados TSB, glicose, timol e geraniol às microplacas contendo a *P. aeruginosa*. O resultado do biofilme produzido foi quantificado após 48 horas de experimento por meio do leitor Microplate Reader Biotek Epoch-2 a uma densidade óptica de 570 nm. A CIM para 90% das cepas testadas (CIM90%) foi de 570 µg/ml para o timol e 200 µg/ml para o geraniol. Quanto ao biofilme, os resultados mostraram que tanto o geraniol quanto o timol foram capazes de reduzir significativamente a produção inicial de biofilme pela cepa de *P. aeruginosa*, sendo que o timol provocou uma redução de 66,1% e o geraniol uma redução de 40%. Pode-se então concluir que a ação dos óleos essenciais e de seus componentes majoritários possuem significativo impacto na inibição do crescimento bacteriano e na produção de biofilme por bactérias patogênicas e, assim, pode servir como uma alternativa para o controle da patogenicidade desses microrganismos.

FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo auxílio à pesquisa (2015/14278-6)



Jueves 15 de Noviembre 2018

CONFERENCIAS



PLE7

Molecular interference with immunological and neurological synapses as virulence mechanisms of hRSV. Implications for vaccine design

Alexis Kalergis M, PhD¹. ⁽¹⁾Full Professor at the Department of Molecular Genetics and Microbiology, School of Biological Sciences and the Department of Endocrinology, School of Medicine, at the Pontificia Universidad Católica de Chile. Director of the Millennium Nucleus and Institute on Immunology and Immunotherapy, Santiago, CL Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Santiago, CL

Email: akalergis@bio.puc.cl

Web: <http://www.imii.cl/en/biografia-del-director/>

The human Respiratory Syncytial Virus (hRSV) is the leading cause of bronchiolitis and pneumonia in young children worldwide. The recurrent hRSV outbreaks and reinfections are the cause of significant public health burden and associate with an inefficient viral immunity, even after disease resolution. hRSV can cause severe symptoms both in the respiratory and nervous systems, such as bronchiolitis and encephalopathy, respectively. We have observed that hRSV infection prevents the proper function of immune cells, such as T lymphocytes and Dendritic cells, by a mechanism involving the nucleoprotein. After hRSV infection, the nucleoprotein is expressed on the surface of epithelial and dendritic cells, reduces TCR signaling and pMHC clustering and prevents immunological synapse assembly between dendritic cells and T lymphocytes. These data suggest that the hRSV nucleoprotein expression at the cell surface of infected cells alters T lymphocyte activation, which could work as a major virulence factor by impairing host immunity and enhancing susceptibility to reinfection by this virus. Based on these findings a hRSV vaccine was generated, which induces protective immunity in various animal models and was successfully evaluated in human clinical trials. Furthermore, hRSV infection causes a learning impairment due to inflammation at the central nervous system (CNS) and reduction of long term potentiation in the hippocampus of infected animals. Due to alterations on the blood brain barrier after hRSV infection, elements of the immune system enter the CNS impairing the normal function of neurons and astrocytes in mice. These data from laboratory animals have prompted studies to evaluate whether hRSV infection can affect learning in humans, which showed a significant impairment in learning in infants that suffered severe disease after hRSV infection.

FONDECYT 1150862 and Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy



PLE8

Una travesía por el mundo microbiano

Roberto Kolter, PhD¹. ⁽¹⁾ Dept. of Microbiology and Immunobiology. Harvard Medical School, USA.

Email: roberto_kolter@hms.harvard.edu

Web: <http://gasp.med.harvard.edu/>

Aunque son en gran medida invisibles, los microbios están presentes en cada rincón de la biósfera. Como consecuencia tienen una enorme influencia en nuestra vida cotidiana, a menudo de maneras inesperadas. Partiendo del entorno familiar de nuestros hogares, el Profesor Kolter guiará a la audiencia a través de un recorrido virtual en el cual analizará en detalle el notable y maravilloso universo de los microbios. Desde los chefs invisibles que preparan muchos de nuestros alimentos favoritos, pasando por los microbios que habitan en nuestros cuerpos y nos mantienen sanos, y llegando a las innumerables formas en que los microbios han moldeado la historia natural de nuestro planeta, el recorrido dejará claro que este planeta Tierra es realmente el planeta de los microbios.



PLE9

Host-pathogen interactions in tuberculosis

Geanncarlo Lugo. ⁽¹⁾UMR5089 Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale (IPBS), Toulouse, France.

We and others previously reported that the *Mycobacterium tuberculosis* ancestor underwent massive episodes of horizontal gene transfer (HGT), mostly from environmental species (Becq et al. 2007 *Mol Biol Evol*; Jang et al. 2008 *Trends microbiol*). Here, I will discuss our recent published and unpublished discoveries that light on the role of ancient HGT in *M. tuberculosis* evolution, physiology and virulence



Jueves 15 de Noviembre 2018

SIMPOSIOS



SMP25.1

Host (gut microbiota)-pathogen interaction: Role of the microbiota in the virulence regulation of enteropathogens

Mauricio J Farfán¹. ⁽¹⁾ Departamento de Pediatría y Cirugía Infantil, Facultad de Medicina, Campus Oriente-Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna, Universidad de Chile, Chile

Expression of virulence factors by enteropathogens is a highly regulated process, controlled by environmental conditions in the intestinal tract, such as nutrient availability, temperature and microbiota composition. Most human microbiota resided in the intestine, usually in a commensal relationship and play an important role in human health. However, several gastrointestinal diseases, such as diarrhea, induce changes in the composition of intestinal microbiota. Recent reports suggested that components of the intestinal microbiota may modulate the expression of virulence factors in enteric bacteria pathogens, in contrast to the classical concept that intestinal microbiota protect against enteric infections. Our group has focused in seeking intestinal microbiota strains associated with Diarrheogenic *E. coli* (DEC) infection induce the expression of virulence factor in reference DEC strains and the effect on the adherence of these DEC strains to intestinal cells as well as the induction of an inflammatory response in infected cells. Our data suggest the involvement of intestinal microbiota in virulence gene expression on pathogenic bacteria that might explain the role of environmental factors found in the intestine, such microbiota that regulate pathogenesis at a specific time or place. The achievement of the goals described in this study, will increase our knowledge of the pathogenic mechanisms of DEC, and eventually, lead to the development new strategies to protect us against these pathogens.



SMP25.2

Studying and understanding the cellular microbiology of bacterial enteropathogens

Fernando Navarro-García¹. ⁽¹⁾ Department of Cell Biology, CINVESTAV, Mexico City, Mexico

Enteropathogenic bacteria utilize a variety of mechanisms to cause intestinal disease in human hosts. Bacterial pathogens secrete a wide range of molecules that bind host cell targets to facilitate their colonization and infection leading a variety of different host responses. The molecular strategies used by bacteria to interact with the host can be conserved across several different species or unique to specific pathogens. A key to fighting bacterial disease is the identification and characterization of all these different strategies. A more detailed understanding of how these pathogenic microbes infect their hosts and how the host responds to infection could ultimately lead to new therapeutic strategies to help control these significant enteric pathogens. Cellular microbiology is a discipline that bridges microbiology and cell biology. Cooperation and mutual dependency between microbiology and cell biology had been increasing used to understand the pathogenicity of microbes in the years. In this talk, I will present some data related to strategies used by diarrheagenic *Escherichia coli* to interact with the host as well as some host responses to infection by these bacteria. I will highlight these molecular and cellular strategies of *E. coli* pathotypes by showing data from my lab regarding to colonization factors, toxins, secretion systems, effector proteins and its relation with epithelial cell damage as well as epithelial responses against infection.



SMP25.3

Exploring new virulence attributes of dispersin - a surface protein of *Escherichia coli*

Waldir P Elias¹. ⁽¹⁾ Laboratory of Bacteriology, Butantan Institute, São Paulo, Brazil

Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) is one of the six pathotypes of diarrheagenic *E. coli*, which is characterized by the production of the aggregative adherence pattern on epithelial cells. EAEC is among the leading bacterial agents of acute and persistent diarrhea worldwide, and responsible for large foodborne outbreaks of diarrhea. A link between colonization by EAEC and growth impairment of low-income children has been observed. A three-step model of EAEC pathogenesis includes initial adherence and colonization of the intestinal mucosa, induction of mucus hypersecretion, followed by enterotoxic effects and inflammation. Several putative virulence factors associated with these steps have been described in EAEC prototypical strains, including adhesins, secreted proteins and toxins. Dispersin is one of these virulence factors, which was initially characterized in EAEC prototypical strain 042. This 10.2-kDa surface protein is secreted across the bacterial cell membrane by an ATP-binding cassette transporter system (*aat*), remaining noncovalently attached to the bacterial surface. In EAEC 042 dispersin neutralizes the bacterial cell surface, repelling and projecting the aggregative adherence fimbriae II (AAF/II), leading to anti-aggregation and dispersal of bacteria on the intestinal mucosa. Dispersin is immunogenic and highly prevalent in EAEC strains isolated from different locations. Although these attributes have been described in EAEC strains, the dispersin-encoding gene (*aap*) has been found in other *E. coli* pathotypes. This presentation will focus on data from my laboratory regarding the binding capacity of dispersin to extracellular matrix molecules and coagulation cascade compounds. Purified dispersin is capable to bind to laminin and plasminogen, leading to conversion of plasmin and consequent fibrinogen cleavage. Our data reveal new attributes for dispersin in the pathogenesis of EAEC and other dispersin-producing *E. coli*, such those isolated from urinary tract infections and sepsis.

SMP26.1

Genomic and experimental insights on biofilm formation by acidophilic *Acidiferrobacter* spp.

Francisco Issotta¹, Cristóbal Mena², Wolfgang Sand³, Raquel Quatrini¹, **Mario Vera**². ⁽¹⁾ Fundación Ciencia y Vida, CL
⁽²⁾ Instituto de Ingeniería Biológica y Médica, Facultades de Ingeniería, Medicina y Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ Technische Universität Bergakademie Freiberg, DE

The family *Acidiferrobacteraceae* contains Gram negative, neutrophilic sulfur oxidizers, such as *Sulfuricaulis* and *Sulfurifustis*, as well as acidophilic iron and sulfur oxidizers belonging to the *Acidiferrobacter* genus. Although several metagenome and bioleaching studies have identified its presence worldwide, only two strains, *Acidiferrobacter thiooxydans* DSM 2932T, and *Acidiferrobacter* spp. SP3/III have been isolated. *A. thiooxydans* and *Acidiferrobacter* sp. SP3/III are morphologically different, and both are able to form monolayer biofilms on metal sulfides such as pyrite (FeS₂). We have observed that, when present in mixed species cultures strain SP3/III is able to influence pyrite leaching rates of other acidophiles such as *Leptospirillum ferrooxidans*. Bioinformatics and experimental analyses have shown that both *Acidiferrobacter* species possess a repertoire of genes involved in capsular and extracellular polysaccharide biosynthesis, as well as canonical Quorum Sensing systems, consisting of homologous genes to *lasI* and *luxR*. We have experimentally confirmed that both strains produced an identical pattern of N-acyl homoserine lactone autoinducers (AHL). Interestingly, the observed inhibitory interaction in pyrite cultures between *Acidiferrobacter* sp. SP3/III and *L. ferrooxidans* was partially relieved by addition of AHL. The molecular reason(s) for this inhibition remain to be elucidated. By using 16S rRNA sequence data publically available for the *Acidiferrobacteraceae*, we have also studied the molecular taxonomy of this family. Results obtained support the presence of three clades *Acidiferrobacter*, *Sulfuricaulis* and *Sulfurifustis*. Genomic analyses of *Af. thiooxydans*T and *Acidiferrobacter* spp. SP3/III indicate that ANI relatedness between the SP3/III strain and *Af. thiooxydans*T is below 95–96%, supporting strain SP3/III as a new species within this genus. In addition, approximately 70% of *Acidiferrobacter* sp. SP3/III predicted genes have a conserved ortholog in *A. thiooxydans* strains. A comparative analysis of iron and sulfur oxidation pathways, genome plasticity, cell-cell communication mechanisms and initial characterization of biofilm formation patterns as well as cell interactions in mixed cultures of *Acidiferrobacter* spp. and other bioleaching species on metal sulfides will be discussed.

FONDECYT Regular Grant 1161007



SMP26.2

Oxidative stress mechanisms contribute to cross protection against osmotic stress in acidophilic bacterium *Leptospirillum* sp.

Levicán Gloria P¹. ⁽¹⁾ Department of Biology, Faculty of Chemistry and Biology, University of Santiago, Santiago, CL

Acidiphilic iron-oxidizing microorganisms play an important role in bioleaching operations for metal recovery from sulfide ores. Habitat where these acidophiles thrive is characterized by acidic pH and elevated concentration of sulphate, metal ions, and occasionally sodium chloride. These conditions can induce in the microorganisms the generation of oxygen reactive species and subsequently oxidative stress negatively affecting their activity in the industrial operation. Members of the iron oxidizing *Leptospirillum* genus are usually abundant and dominant bacteria in extremely acidic environments. So, these microorganisms can be considered as very well adapted to harsh conditions. We have investigated the molecular components involved in the oxidative stress response of *Leptospirillum* sp. exposed to oxidative and osmotic stress. Using an experimental approach involving omics technologies, and biochemical and molecular biology techniques we have determined that exposure of *Leptospirillum* sp to ROS elicitors induced a strong response that involved the upregulation of the antioxidant proteins such as peroxidases and multiple thioredoxin-fold proteins, and the activation of a cobalamin-based mechanism. In addition, when cells were exposed to osmotic stress with NaCl, an important increase on respiratory rate and an endogenous ROS generation was also detected. Furthermore, the activity of antioxidant proteins was significantly increased, suggesting that oxidative defense mechanisms play a role in cross protection against osmotic stress. In agreement, supplementation of the medium with cobalamin, and pre-adaptation to oxidative stress conditions significantly increased the capability of cells to tolerate osmolarity upshifts. The results from this work provide new insights into the determinants of the cross protection against oxidative and osmotic stresses in bioleaching microorganisms. Understanding these responses may contribute to develop chloride or seawater-based technologies to process highly refractory minerals in areas where the water sources are scarce.

FONDECYT 1170799; DICYT-USACH

SMP26.3

Los Acidithiobacilli: genómica y evolución de taxón

Ana Moya-Beltrán^{1,2}, Camila Rojas², D. Barrie Johnson³, **Raquel Quatrini**². ⁽¹⁾ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello ⁽²⁾ Laboratorio de Ecofisiología Microbiana, Fundación Ciencia y Vida, Santiago, CL ⁽³⁾ School of Biological Sciences, Bangor University, Bangor, GB

El taxón *Acidithiobacillus* agrupa un conjunto de bacterias extremófilas de ambientes ácidos, compuesto por 7 especies validadas: *Acidithiobacillus thiooxidans*, *A. ferrooxidans*, *A. albertensis*, *A. caldus*, *A. ferrivorans*, *A. ferridurans* y *A. ferriphilus*. Estos microorganismos son bacilos gram-negativos, no esporulantes y quimiolitotróficos que obtienen su energía a partir del azufre elemental y varias formas reducidas de éste. Representantes de este taxón ocurren en todo el mundo en ambientes naturales e industriales, y un gran número de cepas han sido descritas desde 1922, que varían en sus características genéticas (ej. %G+C), morfológicas (ej. presencia/ausencia de flagelo), fisiológicas (ej. proliferación a distinto pH o temperatura) e incluso genómicas (ej. tamaño genómico). Tal variabilidad deja en evidencia la diversidad inherente al taxón y nuestra falta de conocimiento al respecto. En este trabajo, se explora la diversidad del taxón a nivel genómico y se establecen las relaciones filogenéticas entre las distintas especies del complejo específico utilizando más de 50 cepas de disponibilidad pública y privada. Para ello, se calcularon una serie de índices genómicos (ANI, TETRA, DDH *in silico*, entre otros), se delimitó el complemento génico central y flexible, y se emplearon aproximaciones filogenéticas y pangenómicas para analizar los datos resultantes. Los resultados obtenidos soportan la reclasificación de cepas crípticas en 6 nuevas especies, además de establecer los niveles de diversidad intra- e inter-linaje. El complemento génico central del taxón *Acidithiobacillus* representa alrededor de 620 genes ortólogos comprendidos en los representantes muestreados del taxón. En este trabajo se analiza cómo se distribuye la variabilidad genética existente entre linajes entre compartimentos genómicos y discuten las implicancias de ello en la adaptación nicho-específica y la evolución del taxón.

AFB 170004, FONDECYT 1181251 (RQ), CONICYT scholarships 21171049 (AMB).



SMP27.1

Desafíos de preservación de hábitats microbianos del norte de Chile

Cristina Dorador¹, Verónica Molina², Martha Hengst³, Yoanna Eissler⁴. ⁽¹⁾ Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL ⁽²⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha de Ciencias de La Educación, Valparaíso, CL ⁽³⁾ Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL ⁽⁴⁾ Centro de Investigación y Gestión de Recursos Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, CL

El norte de Chile alberga distintas cuencas evaporíticas cerradas que están mayormente ubicadas en la zona del Altiplano (sobre los 4000 msnm) y en la Precordillera o Depresión intermedia. Estos sistemas acuáticos terminales localmente se denominan 'salares' y son legado de antiguos paleolagos que poblaron la zona en épocas pasadas. Estos ecosistemas están dominados mayormente por microorganismos, los cuales a su vez tienen un rol trófico que sustenta los otros componentes de la biota. Se ha propuesto que los salares altoandinos serían *hotspots* de biodiversidad por su alto endemismo y riqueza de especies. A su vez, estos organismos presentarían adaptaciones únicas a las condiciones constantes y persistentes de estrés ambiental, conjuntamente llamadas 'condiciones extremas', entre las cuales se encuentran la alta salinidad, alta radiación solar, presencia de metales pesados, entre otras. En algunos salares, como el Salar de Llamará, ubicado cercano a la costa en la Región de Tarapacá, los microorganismos son claves para el funcionamiento del ecosistema y se ha propuesto que participarían de metabolismos poco frecuentes como la oxidación del monóxido de carbono y oxidación del yodo, generando mucho interés en la investigación Astrobiológica. Por otro lado, salares altoandinos como el Salar de Huasco son muy diversos y heterogéneos, presentando a su vez una alta carga viral que explicaría la alta diversidad microbiana. Actualmente los salares sufren un proceso de degradación continuo principalmente por la extracción de agua que sufren para abastecer actividades industriales y la obtención de minerales de alto interés como el Litio, que se extrae directamente desde las salmueras. El uso de herramientas de secuenciación masiva (de amplicones y metagenómica) ha permitido evidenciar la basta diversidad microbiana de ambientes previamente considerados inertes. Es decir, los microorganismos han surgido como los nuevos '*objetos de protección ambiental*' en sistemas límite como los salares. Los servicios ecosistémicos microbianos de salares son amplios considerando aspectos aplicados (producción de compuestos bioactivos) y regulación del clima local (producción de gases de efecto invernadero), entre otros. Los desafíos actuales son múltiples, principalmente metodológicos y preparan un escenario donde los invisibles son protagonistas.

FONDECYT 1140179, 1181773; FB0001; ERANET-LAC/CONICYT



SMP27.2

Microbial Big Data and its role in conservation

Juan Antonio Ugalde¹. ⁽¹⁾ Research & Development, Bioinformatics, uBiome

We are currently experiencing a revolution in microbiology. The development and improvements in technologies such as high-throughput sequencing, metabolomics, proteomics, and other –omics approaches, has allowed us to characterize microbial communities that were previously inaccessible. This information explosion has expanded our view of the microbial tree of life fueled by the discovery of novel functional genes, microbial groups, metabolic processes, and even compounds with biotechnological potential. But even with this data deluge, microbial communities are rarely considered in conservation efforts. This is inconsequential given their fundamental role in shaping of the environment around them by multiple biogeochemical transformations and food chains. The information generated on these microbial communities, could help us to understand not only their role in the ecosystem, but also to monitor its current state and even predict how it may change due to external factors. The challenges to use all this information are many, being one of the most important ones how to manage these massive datasets to extract meaningful and actionable information. In this talk, I will explain some of the challenges and proposed solutions; show examples on how these large datasets can help us to expand our knowledge of microbial communities in the environment, and most important how we may use this information to guide conservation strategies



SMP27.3

The role of legacy pollution and the environmental microbiome in the emergence of antibiotic resistance in industrialised estuaries? A case study in the West of Scotland

Fiona Henriquez L¹, K Rodgers¹, Tatyana Peshkur², Rebecca Tonner², Iain McLellan³, Roderick Williams¹, Andrew Hursthouse³, Charles Knapp³. ⁽¹⁾ Life Sciences, Health and Life Sciences, University of the West of Scotland, Paisley, GB ⁽²⁾ Civil Engineering, Engineering, University of Strathclyde, Glasgow, GB ⁽³⁾ Physical Sciences, Computing, Engineering and Physical Sciences, University of the West of Scotland, Paisley, GB

The legacy of past pollution exists in many estuaries of industrialized cities. Persistent pollutants, historically discharged into waterways, have become incorporated into sediment layers as a record of past, unregulated release. Preliminary reports have shown that pollution legacies have the potential of affecting antimicrobial resistance (AMR) in exposed bacteria. The sediment zones become reactors with the biochemical stressors to stimulate the production and dissemination of antibiotic resistant genes. By co-selection processes the genes could simultaneously select for genes for antibiotic resistance. Herein, we report evidence of the emergence of AMR in sediment cores of the Clyde Estuary in the west coast of Scotland, and we also highlight the importance of considering the role of protists, and in particular, *Acanthamoeba*, in the microbiome that interact with the bacteria at these sites.

Natural Environment Research Council (NERC); Research Programme: Antimicrobial Resistance in the Real World Theme 3A; Grant Ref: NE/N019474/1

University of the West of Scotland

Faculty of Engineering, University of Strathclyde



SMP28.1

Evolution of *Salmonella*: Adaptation to different environmental niches

Stanley Maloy¹. ⁽¹⁾ San Diego State University

There are over 2,600 recognized serovars of *Salmonella enterica*. Many of these *Salmonella* serovars have a broad host-range and can infect a wide variety of animals, including mammals, birds, reptiles, amphibians, fish, and insects. In addition, *Salmonella* has acquired the ability to grow in plants. Hence, broad host-range *Salmonella* can be transmitted via feces from wild animals, farm animals, and pets, or by consumption of a wide variety of common foods – poultry, beef, pork, eggs, milk, fruit, vegetables, spices, nuts. The broad host-range *Salmonella* typically cause gastroenteritis in humans. Some *Salmonella* serovars have a more restricted host range that is associated with changes in the virulence plasmid pSV, accumulation of pseudogenes, and chromosome rearrangements. These changes in host-restricted *Salmonella* alter the pathogen-host interactions such that host-restricted *Salmonella* commonly cause systemic infections and are transmitted between host populations by asymptomatic carriers. The secondary consequences of efforts to eliminate the host-restricted *Salmonella* serovars demonstrate that basic ecological principles govern the environmental niches occupied by these pathogens, and evolutionary adaptations to these niches. This makes it difficult to thwart *Salmonella* infections without a clear understanding of not only the human and animal reservoirs, but also the environmental reservoirs of these pathogens. Thus, transmission of *Salmonella enteric* provides a compelling example of the One Health paradigm because reducing human infections will require the reduction of *Salmonella* in animals and limiting transmission from the environment.



SMP28.2

Super-resolution imaging of *Salmonella* pathogenesis

Linda Kenney¹. ⁽¹⁾ Mechanobiology Institute, National University of Singapore

In bacteria, the major paradigm for signal transduction is the two-component regulatory system, consisting of a sensor kinase and a response regulator. In *Salmonella*, the EnvZ/OmpR system responds to osmotic and acid stress and positively regulates the *Salmonella* Pathogenicity Island 2 (SPI-2)-encoded type III secretion system required for its survival in the macrophage vacuole. EnvZ/OmpR acidifies the *Salmonella* cytoplasm in response to the acidified vacuole, driving virulence factor secretion into the host cytosol. Acidification is required for the secretion of virulence factors, blocking acidification results in a neutralized cytoplasm that is defective for SPI-2 secretion. Using super-resolution microscopy, we visualize transcriptional regulators OmpR, SsrB and H-NS as well as the bacterial nucleoid. Additionally, we follow the emergence of *Salmonella*-secreted effectors into the host cytoplasm and follow the resulting endosomal tubulation. Our results suggest a mechanical role in needle elongation of the type three secretory apparatus and subsequent gating of effector secretion. Our work challenges existing views that bacteria regulate their pH to maintain neutrality, and provides a new model for *Salmonella* virulence factor secretion and infection. Currently, we are exploring alternatives to the mouse model of infection, using Zebrafish and *C. elegans*, which enable *in vivo* imaging. Our recent results will be presented.

Supported by NIH AI123640, VA IOBX-000372 and a Research Centre of Excellence Grant from the Singapore Ministry of Education.



SMP28.3

Gene silencing pathways in horizontally acquired DNA in *Salmonella*

Lionello Bossi¹. ⁽¹⁾ Institute for Integrative Biology of the Cell, I2BC, CNRS Gif-sur-Yvette, France

Horizontal gene transfer has shaped the evolution of many bacterial species and has had a major impact on the emergence of bacterial pathogens. The phenomenon is prominent in enteric bacteria whose genomes are punctuated by an archipelago of horizontally acquired DNA islands and islets. Acquisition of these loci allowed bacteria to gain new properties including the ability to colonize multicellular hosts and cause disease. Reflecting its xenogeneic nature, laterally acquired DNA has an atypical base composition, namely a higher A/T content relative to the rest of the genome. While providing a selective advantage in some specific environments, *e.g.*, during host infection, expression of foreign DNA has deleterious effects on bacterial growth and can even be toxic if uncontrolled. Toxicity can result from a variety of sources: *i)* the expression of lethal phage remnant genes, *ii)* the energetic burden of synthesizing large macromolecular structures (*e.g.*, type III secretions systems) when they are not needed, *iii)* large amounts of sense and antisense transcription originating from a multitude of spurious promoter-like sequences associated with A/T-rich DNA. Hence, *Salmonella* and related bacteria have evolved mechanisms that prevent transcription of foreign DNA, except when the gene products of this DNA are specifically needed. The best-known mechanism uses protein H-NS, which binds A/T-rich DNA at high-affinity nucleation sites, followed by oligomerization along adjacent sequences. The resulting filaments and H-NS-bridged DNA structures silence gene expression most often by occluding promoters and preventing transcription initiation. A second mechanism relies on the action of transcription termination factor Rho on transcripts that escape H-NS repression. Suboptimal codon usage or antisense orientation cause these transcripts to be inefficiently translated or not translated at all, thus making them susceptible to Rho binding and termination. Finally, a growing body of evidence suggests that the above two mechanisms are intertwined and that H-NS, besides affecting transcription initiation, directs a pathway of Rho-dependent termination. I will present recent evidence from our laboratory that places protein NusG, a universally conserved transcription elongation factor, at the heart of this pathway.



SMP29.1

Bombas de eflujo: el nuevo blanco para antimicrobianos

PAOLA SCAVONE¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, UY

Las bombas de eflujo bacterianas se encuentran ampliamente distribuidas en todas las especies bacterianas, y su función es la de exportar sustancias nocivas desde el interior bacteriano al medio extracelular. Se han descrito 5 superfamilias de bombas de eflujo: MATE (Multidrug And Toxin Extrusion), SMR (Small Multidrug Resistance), MFS (Major Facilitator superfamily), ABC (ATP-Binding cassette) y RND (Resistance-Nodulation-division). Las bombas pueden ser específicas para un único sustrato o exportar sustratos estructuralmente diversos. Dentro de los sustratos que extruden se encuentran antibióticos, detergentes, colorantes, toxinas y metabolitos de desecho. Además de contribuir a la resistencia antimicrobiana se ha observado que las bombas de eflujo contribuirían a la formación de *biofilms*, *quorum sensing*, patogenicidad y virulencia. Por lo tanto, su inhibición resulta una estrategia interesante para combatir microorganismos multirresistentes. Los inhibidores de bombas de eflujo conocidos como EPI, han mostrado tener además efecto en la reducción de la formación de *biofilms* en algunas especies bacterianas. Estudios realizados *in silico*, mostraron la existencia de potenciales drogas, actualmente aprobadas por la FDA y en uso, con capacidad de inhibir las bombas de eflujo y por ende la formación de *biofilms*. En particular, las drogas tioridazina (antisicótico) y la fluoxetina (inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina, también conocido como Prozac) son capaces de inhibir las bombas de eflujo de varios microorganismos teniendo efecto sobre la formación de *biofilms* y sobre la movilidad *swimming* and *swarming*. Estudios preliminares *in vivo* en modelos murinos de infección experimental mostraron que el tratamiento con estas drogas es capaz de reducir la infección experimental y por lo tanto atenuar la patogenicidad. La búsqueda de drogas que inhiban las bombas de eflujo aparece como una alternativa esperanzadora para controlar y combatir microorganismos multirresistentes sin contribuir a la generación de resistencia.

CSIC I+D 2016_78

SMP29.2

Streptococcus pneumoniae, pathogenesis and immunity

José Chabalgoity A.¹, Analia Rial¹, Andrés Iriarte¹, Victoria Comas¹, Javier Calvelo¹. ⁽¹⁾ Desarrollo Biotecnológico, Medicina, Universidad de la República, Montevideo, UY

Streptococcus pneumoniae (pneumococcus) is the main etiological agent of human pneumonia and the main cause of death by infectious invasive disease both in developed and developing countries. Pneumococcus colonizes asymptotically the human nasopharynx and in some cases colonization may progress to pneumonia and invasive disease. To induce invasive pneumococcal disease (IPD) the bacteria require the concerted expression of several known, and many still unknown virulence factors. Among them the capsular polysaccharide is considered the most important, playing an essential role in colonization, invasion and systemic dissemination of the bacteria from the respiratory tract, and based on the different composition 91 pneumococcus serotypes have been described. Serotypes differ in their capacity to cause IPD, and particularly serotype 1 is rarely associated with carriage and most frequently cause invasive infections. We are studying the molecular bases of *S. pneumoniae* pathogenesis by two different approaches. To gain new insights on the molecular factors responsible for *S. pneumoniae* capacity to induce invasive disease, we used two serotype 1 clinical isolates (strains 1585 y 1667) that have different sequence type and pathogenic capacity. We have shown that whereas both of them colonize mice to the same extent, intranasal infection with strain 1585 induce invasive disease and lethality, whereas strain 1667 does not kill mice at any dose. We fully sequenced both strains and conducted comparative genomic analysis to evaluate the extent of genomic differences between them. We found that strain 1667 lacks some genomic regions that have been previously described as involved in virulence, and also that both strains share a large core genome but also have a number of strain specific genes. Innate immunity plays a critical role in the resistance to *S. pneumoniae* respiratory infection, both in human and mouse, thus on a different approach we have conducted RNAseq from lungs of mice infected with either 1585 or 1667 strains. We detected expression of 17.264 genes soon after infection and found that 84 of them show differential expression between mice infected with one or the other strain. Results on all this will be presented and discussed.

CSIC, Universidad de la República; ANII Uruguay; ECOS U014S03



SMP29.3

Survival strategies learned from an opportunistic pathogen

Martina Lazzaro¹, Bruna Roberto E¹, Molino María Victoria¹, Mariscotti Javier F¹, **Eleonora García Véscovi¹**. ⁽¹⁾

Laboratorio de Patogénesis Bacteriana, Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario - CONICET- Universidad Nacional de Rosario, Rosario, AR

Serratia are ubiquitous bacteria that can be isolated from a wide variety of environmental niches, ranging from water and soil to air. In particular, *S. marcescens* is an emerging health-threatening opportunistic pathogen. Outbreaks due to *S. marcescens* strains resistant to multiple antibacterial agents and high incidence in intensive and neonatal care units are increasingly being reported. The World Health Organization has included *Serratia* in the priority list of bacteria in which research efforts should be emphasized for the development of new antimicrobial agents to counteract infections. In addition, *S. marcescens* has recently been identified as one of the three most abundant microbial species that colonizes the dysbiotic intestine of Crohn's patients, in detriment of beneficial bacteria. Despite this, few reports have in-depth characterized the mechanisms that *Serratia* employs to invade, survive and disseminate within and outside the host. My group has recently investigated the mechanisms that control the virulence of this bacterium, disclosing the key role of the Rcs signal transduction system in the control of the effectors required for the interaction of *Serratia* with the host. This signal-transduction system also finely tunes the firing of the Type VI Secretion System in the competition struggle against other bacteria such as those encountered in the gut of the infected host. We have also explored the role of a secreted metalloprotein in the ability of *Serratia* to form biofilms. Finally, our recent advances in the understanding of the invasion process of *S. marcescens* to host cells, which reveal intracellular trafficking mechanisms and the strategy deployed by the pathogen to escape and spread outside the invaded cell, will be discussed.

Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, Argentina



SMP29.4

Role of peptidoglycan enzymes in *Salmonella* virulence

Francisco García-del Portillo¹, Sónia Castanheira¹, Juan José Cestero¹, Juan A. Ayala², María Graciela Pucciarelli³.

⁽¹⁾ Laboratorio de Patógenos Bacterianos Intracelulares, Centro Nacional de Biotecnología (CNB)-CSIC, Madrid, ES

⁽²⁾ Departamento de Virología y Microbiología, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBMSO)-CSIC, Madrid, ES

⁽³⁾ Departamento de Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, ES

Salmonella enterica is an intracellular bacterial pathogen that survives and proliferates inside phagocytic and non-phagocytic eukaryotic cells as part of its natural infection cycle. During the last two decades, our lab has been interested in deciphering the mechanisms that this pathogen exploits to establish long-lasting persistent infections within eukaryotic vacuolar compartments. We discovered that this pathogen controls bacterial progeny by triggering a unique autophagy process involving aggregation of host cell endo-membranes. We are currently analyzing envelope changes in intracellular *Salmonella* and, more specifically, alterations in the peptidoglycan (PG) structure associated to a prolonged persistent infection. We have also collected data supporting changes in the PG enzymatic machinery once *Salmonella* colonizes the phagosomal compartment. Some of the PG enzymes up-regulated by the pathogen in the phagosome have evolved to act exclusively in acidic environments. These observations support the idea of a dedicated subset of PG enzymes that might promote pathogen adaptation to the intraphagosomal lifestyle.

This work was supported by grants BIO2016-77639-P and PCIN-2016-082 (to FGdP) and BIO2014-55238-R (to MGP) from the Spanish Ministry of Economy, Industry and Competitiveness and European Regional Development Funds (FEDER).



SMP31.1

Design and Implementation of orthogonal metabolism in environmental bacteria

Pablo Ivan Nikel¹ ⁽¹⁾ The Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability, The Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability, Technical University of Denmark

Metabolic engineering is moving into novel areas of research that depart from classical approaches, which have been mostly rooted on relatively simple genetic manipulations. Along the line, the last few years witnessed an increase in the number of bacteria that can be used as microbial platforms in practical applications—which has not been matched with the development of novel strategies— on how to manipulate their core metabolism. Microorganisms that are easy to genetically engineer (i.e., the so-called «model» bacteria, *Escherichia coli* or *Bacillus subtilis*) are not adequate to perform specific biotechnological applications (e.g., harsh oxidations) necessary to fulfil current demands in the industry. Smart metabolic engineering approaches are facilitated by contemporary synthetic biology, which provides all the tools needed for plugging-in and -out genetic circuits and engineer new-to-Nature properties. Environmental bacteria, such as *Pseudomonas* strains, constitute ideal starting points to design flawless microbial cell platforms, since these microorganisms are pre-endowed with a number of metabolic and stress-endurance traits that are optimal for biotechnological needs. Synthetic metabolisms, i.e., biochemical networks for the execution of novel reactions independently of native regulatory cues, are the way forward to bring about new functionalities to these emerging bacterial *chassis*. Against this background, recent developments on the taming of *Pseudomonas putida* for biotechnology will be discussed in the context of synthetic biology strategies for re-designing the metabolic architecture of central carbon catabolism to boost the ATP yield from hexoses.



SMP31.2

Rewiring the metabolic network of *Pseudomonas* strains for the synthesis of valuable industrial compounds.

Ignacio Poblete¹. ⁽¹⁾ Centro de Bioinformática y Biología Integrativa, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello

To move towards a sustainable society requires the use of renewable resources for the synthesis of valuable chemicals. Plastic materials are pivotal in our current life style but they are produced from petroleum, which endow them with resistant properties and make them highly persistent once deposited in the environment. In this work, we present the use of *Pseudomonas* strains for the synthesis of polyhydroxyalkanoates (PHA), one the most remarkable industrial biopolymers produced today. We have engineered bacteria of the genus *Pseudomonas* for efficient synthesis of these biopolymers using waste materials such as waste cooking oil and raw glycerol from the biodiesel industry. Driven by strain engineering and the isolation of new biopolymer-producing strains from extreme environments e.g. Antarctic, we have enhanced the production of PHAs and discovered new biopolymers using *Pseudomonas* as cell factories.

FONDECYT Inicio 11150174

SMP31.3

Exploiting new regulatory systems to develop bacterial cell biosensors

Gonzalo Durante-Rodríguez¹, Hernán Avellaneda², Andrés Valderrama³, Helena Gómez-Álvarez¹, Zaira Martín-Moldes⁴, José Luis García¹ and Eduardo Díaz¹.

(1)Environmental Biology Department, Centro de Investigaciones Biológicas. Calle Ramiro de Maeztu 9. 28040 Madrid. Spain.

(2)Unidad de Saneamiento y Biotecnología Ambiental (USBA), Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

(3)Department of Pediatrics, University of California, San Diego, La Jolla, CA 92093, USA.

(4)Department of Biomedical Engineering, Tufts University, 4 Colby Street, Medford, Massachusetts 02155, United States.

The identification and study of new transcriptional regulatory systems that control different bacterial processes is of great interest not only because it allows the characterization of new basic regulatory signals and mechanisms but also because it can be used to design new synthetic genetic circuits. These genetic circuits can be engineered to respond to a wide variety of environmental signals and they can be of great biotechnological interest in many fields such as in the development of whole-cell biosensors. In this work, we have explored two new bacterial regulatory systems that respond to two different environmental signals, i.e., the bacterial redox state and the presence of the toxic carbon monoxide (CO).

A new two-component regulatory system consisting in a sensor histidine kinase (AccS) and the cognate response regulator (AccR) was characterized in the anaerobic bacterium *Azoarcus* sp. CIB. The AccSR system controls the carbon catabolite repression of the gene clusters involved in the anaerobic degradation of aromatic compounds in strain CIB. The AccS multicomponent histidine kinase responds to the redox state of the cells by sensing it through its C-terminal autokinase domain. The AccSR couple has been engineered to control the target promoter fused to a reporter gene (*gfp*), for the construction of a new type of redox sensor in bacteria (Quinoredox) that will be used for quinones and flavins oxidation-state detection, two redox signals of great importance in the cell and for which no sensors have been developed to date.

There is an important lack of biological detection methods to monitor CO bioavailability in industrial CO fermentation processes. With the aim to develop a whole-cell CO biosensor, we have studied the transcriptional regulation of the *cox* genes involved in the aerobic oxidation of CO to CO₂ in the bacterium *Oligotropha carboxidovorans* OM5. Two putative transcriptional regulators, i.e., the *coxC* and *coxH* gene products, have been identified within the *cox* cluster and they are likely involved in the CO-dependent induction of the *cox* genes. Both regulators show a C-terminal LytTR-type DNA binding domain and an N-terminal domain containing MHYT motifs that could represent an unprecedented CO sensor transmembrane mechanism. We provide here experimental evidence on the role of CoxH driving the CO-dependent transcriptional regulation of the *P_{coxB}* promoter, as well as its application to engineer a synthetic bioreporter system for developing new CO whole cell biosensors.



SMP32.1

Induction of HIF-1 α by HIV-1 infection in CD4+ T cells drives extracellular vesicle-mediated inflammation

Matias Ostrowski¹. ⁽¹⁾ Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (INBIRS)- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad de Buenos Aires

Chronic immune activation and inflammation are hallmarks of HIV-1 infection and a major cause of serious non-AIDS events in HIV-1-infected individuals on antiretroviral treatment (ART). Herein, we show that cytosolic dsDNA generated in infected CD4+ T cells during the HIV-1 replication cycle promotes the mitochondrial ROS-dependent stabilization of the transcription factor Hypoxia Inducible Factor 1 α (HIF-1 α), which in turn, enhances viral replication. Furthermore, we show that induction of HIF-1 α promotes the release of pro-inflammatory Extracellular Vesicles (EVs). These EVs foster inflammation by inducing the secretion of interferon- γ by bystander CD4+ T cells and of IL-6 and IL-1 β by bystander macrophages through an HIF-1 α -dependent pathway. Remarkably, EVs obtained from the plasma of HIV 1-infected individuals also induced HIF-1 α activity and inflammation. Overall, this study demonstrates that HIF-1 α plays a crucial role in HIV-1 pathogenesis by promoting viral replication and the release of EVs that orchestrate lymphocyte and macrophage-mediated inflammatory responses.



SMP32.2

Dynamic interaction between the endocytic and secretory pathway during antigen cross-presentation by dendritic cells

Ignacio Cebrian¹. ⁽¹⁾ Instituto de Histología y Embriología de Mendoza (IHEM), Universidad Nacional de Cuyo, CONICET, Facultad de Ciencias Médicas, Mendoza, Argentina.

Cross-presentation by MHC-I molecules allows the detection of exogenous antigens by CD8+ T lymphocytes. This process is crucial to initiate cytotoxic immune responses against many pathogens (i.e. *Toxoplasma gondii*) and tumors. To achieve efficient cross-presentation, dendritic cells (DCs) have developed distinctive specializations of their endocytic pathway, such as as limited proteolytic activity in phagosomes and endosomes or the recruitment of endoplasmic reticulum (ER) components to these compartments. Lately, we have focused our study in understanding the modulation of MHC-I intracellular transport in DCs and we have identified the small GTPase Rab22a as a key regulator of this process. In this sense, we have shown that Rab22a controls MHC-I trafficking and antigen cross-presentation by DCs. Our results demonstrate that Rab22a is recruited to DC endosomes and phagosomes, as well as to the vacuole containing *T. gondii* parasites. The silencing of Rab22a expression did not affect the uptake of exogenous antigens or parasite invasion, but it drastically reduced the intracellular pool and the recycling of MHC-I molecules. The knock-down of Rab22a also hampered the cross-presentation of soluble, particulate and *T. gondii*-associated antigens, but not the endogenous MHC-I antigen presentation through the classical secretory pathway. Furthermore, Rab22a KD DCs evidenced a significant impairment in the recruitment of ER-derived proteins to endosomes (but not to phagosomes) and a marked deficiency in endosomal maturation. Our findings provide compelling evidence that Rab22a plays a central role in the MHC-I endocytic trafficking and other relevant intracellular events that guarantee an efficient cross-presentation by DCs. Currently, other molecular effectors of the endocytic pathway with potential implications in antigen cross-presentation are being investigated by our group.



SMP32.3

Shaping the immune synapse by centrosome-associated proteins: Impact on B cell responses

María-Isabel Yuseff¹. ⁽¹⁾ Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Sciences, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL

Engagement of the B cell receptor (BCR) with surface-tethered antigens leads to the formation of an immune synapse (IS), which coordinates the uptake and processing of immobilized antigens by B cells. A pivotal step in this process is the rapid polarization of the centrosome, which guides the recruitment and local secretion of lysosomes at the synaptic membrane to facilitate antigen extraction. Conserved polarity proteins, such as Cdc42 and Par3, coordinate centrosome repositioning with lysosome recruitment at the IS, however the molecular machinery involved in the docking and fusion of lysosomes remains to be defined. We hypothesized that effector molecules, associated to the centrosome could regulate polarized membrane trafficking and cytoskeleton remodeling at the immune synapse of B cells and therefore performed a comparative proteomic analysis of the centrosome from resting versus activated B cells. This study revealed that the exocyst complex and regulatory subunits of the 19S proteasome become differentially associated to the centrosome upon B cell activation. Our results show that the exocyst is assembled upon BCR engagement and is recruited to the IS, where it regulates polarized exocytosis of lysosomes by promoting their tethering at specific domains of the plasma membrane. Concomitantly, we found that the proteasome is dynamically transported to the synaptic membrane and that proteasome activity regulates local actin cytoskeleton remodeling and polarization of the centrosome to the immune synapse of B cells. Silencing components of the exocyst complex or interfering with proteasome activity severely impairs stable lysosome recruitment at the IS and thus the ability of B cells to extract and present immobilized antigens. Altogether, we propose that the centrosome of B cells acts as a hub that focuses specialized cellular machinery, which is used by B cells to regulate morphological and functional parameters of the immune synapse.

FONDECYT Regular Grant 1180900



SMP32.4

Regulation of antitumor immunity by the unfolded protein response sensor IRE1a in dendritic cells

Dominique Fernandez¹, Bernardita Medel¹, Felipe Flores¹, Sandra Gaete¹, **Fabiola Osorio**¹. ⁽¹⁾ Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

The unfolded protein response (UPR) is a cellular stress transduction pathway responsible for restoring the homeostasis of the endoplasmic reticulum (ER) in conditions that subvert the folding capacity of the cell, such as infection and injury. In the immune system, the UPR sensor IRE-1a (Inositol-requiring enzyme 1-a) and its target transcription factor X-box-binding protein 1 (XBP-1s), have emerged as crucial regulators of dendritic cell (DC) homeostasis, controlling key cellular processes that include the cross-presentation of cell-associated antigens to CD8⁺ T cells and cell survival. Interestingly, the IRE1a/XBP1s axis of the UPR is selectively activated by a subset of DCs characterized by expression of the chemokine receptor XCR1 (XCR1⁺ DCs), which have been recently identified as critical inducers of cytotoxic T cells in melanoma. Nevertheless and despite these findings, the contribution of IRE1a signalling to the antitumor properties of DCs remains largely unknown. In this work, we demonstrate that melanoma tumor lysates are efficient activators of the IRE1a/XBP1s branch of the UPR in DCs, which in turn promote CD8⁺ T cell priming to melanoma-associated antigens *ex vivo* and *in vivo*. Furthermore, by using a reporter strain of mice for IRE1a endonuclease activity and unsupervised high dimensional analysis of multiparametric flow cytometry, we identified the main cellular targets of IRE1a activity within melanoma tumors, which correspond to XCR1⁺ DCs and XCR1-expressing monocytes. Remarkably, XCR1⁺ monocytes defy classification into the conventional lineage of DCs and constitute an unappreciated tumor-associated cell type with an unknown function in immunity. Thus, current work is ongoing to determine the precise function of XCR1⁺ DCs and XCR1⁺ Monocytes in antitumor immunity and the contribution of IRE1a signalling to the antitumor properties of myeloid cells. Furthermore, knowledge derived from this work may also be useful in the design of DC-based vaccines for cancer immunotherapy.

Howard Hughes Medical Institute - International Research Scholar

FONDECYT 1161212



SMP33.1

Bacterial sRNAs as mediators of interspecies communication and transgenerational behavioral memory in *C. elegans*

Marcela Legue^{1,2}, Carolina Gabaldon^{1,2}, Florence Gutzwiller^{1,2}, **Andrea Calixto**^{1,2}. ⁽¹⁾ Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, CL ⁽²⁾ Centro Interdisciplinario de Neurociencias de Valparaíso, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, CL

Bacteria were the first inhabitants on earth, and worms one of the earliest animals. Their mutual adaptation points to a remarkable genetic plasticity, underlying rapidly evolving molecular and behavioral strategies for long-term survival. *C. elegans* and their commensal and pathogenic bacteria are a good model to study the components and dynamics of interspecies RNA communication *in vivo* and across generations. Behavioral adaptive responses require the active communication between bacteria and the animal's intestine. After their encounter the *holobiont* changes at many levels, including global transcriptomic and epigenetic adaptations. Previous work in our laboratory showed that a transgenerational memory is formed in *C. elegans* as a result of the interaction with pathogens of moderate virulence like *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and *Salmonella* Typhimurium MST1. Memory formation leads to an adaptive response starting in the F2 progenies of animals exposed to pathogens. This adaptive response depends on the RNAi machinery suggesting that the communication between bacteria and worms is based on RNA. In this work we investigated the interspecies dynamics of small RNA expression and bidirectional transcriptional modulation of two species interacting across two generations – the model organism *C. elegans* and its intestinal colonizing pathogens *P. aeruginosa* PAO1 or *S. Typhimurium* MST1, or the non-pathogenic *E. coli* OP50. For this, we performed dual RNA-seq of *C. elegans* and bacteria accompanied by *in vivo* validations of candidate RNA genes. We found that interacting bacteria-worm have a transcriptional signature different from that of the parts, with common transcripts to both species that participate in the regulation. In this work we present evidence of a reciprocal RNA based communication between pathogen and host that trigger behavioral transgenerational responses in *C. elegans* that secure their survival.

Supported by the Millennium Scientific Initiative of the Chilean Ministry of Economy, Development, and Tourism (P029-022-F).



SMP33.2

Zebrafish: host-microbe interaction studies in zebrafish larvae

Francisco Chávez P¹, Macarena Varas¹, Javiera Ortíz-Severín¹, Francisco Díaz-Pascual¹, Carlos Santiviago², Verónica Cambiazo³, Miguel Allende⁴. ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽⁴⁾ Centro de Regulación del Genoma (CRG), Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL

The study of host-microbe interactions in surrogate host models has brightened fundamental research opportunities in both microbiology and cell biology. Particularly, zebrafish (*Danio rerio*) larvae provide a unique platform to study host-microbe interactions *in vivo*, from the level of the single cell to the whole organism. Studies using zebrafish larvae allow non-invasive, real-time visualization of immune cells recruitment during infection. Furthermore, the chemical and genetic tractability of zebrafish has been central to decipher the complex role of macrophages and neutrophil during pathogen infection. In addition, due to the temporal separation of innate immunity from adaptive responses, zebrafish larvae are particularly useful for dissecting the innate host factors involved during pathogenesis. Here, we will focus on the use of zebrafish as a model for infectious diseases, with emphasis on human and fish bacterial pathogens such as *Salmonella Typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Piscirickettsia salmonis*. For this, to characterize host-pathogen interaction, we have developed different infection assays to evaluate the virulence of these bacterial pathogens, and to monitor the effect of the host immune cells during pathogenesis. We have used injection and immersion infection assays to determine the contribution of known virulence factors in other mammal models. Our results indicate that, similar to infections in mammalian models, inorganic polyphosphate is required for virulence of *S. Typhimurium* and *P. aeruginosa* in zebrafish. Finally, using global proteomic profiling with zebrafish larvae infected with this pathogen allow us for simultaneously track host, pathogen and microbiota proteomic changes in zebrafish larvae. We demonstrate that global proteomic profiling employed in this research is a strong platform for *in vivo* global host-pathogen-microbiota interaction studies in zebrafish.

FONDECYT grant 1120209



SMP33.3

Molecular mechanisms involved in the intracellular survival of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in the social amoeba *Dictyostelium discoideum*

Carlos Santiviago¹, Sebastián Riquelme¹, Macarena Varas², Andrea Sabag¹, Bayron Labra¹, Nicolás Chahin¹, Paula Velozo¹, Camila Valenzuela¹, Ítalo Urrutia¹, Beatriz Salas¹, Jaime Ortega¹, Constanza Morgado¹, Gabriel Vera¹, Fernando Baisón-Olmo¹, Álvarez Sergio A¹, Chávez Francisco P². ⁽¹⁾ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL

Even though *Salmonella* is considered an intracellular pathogen, it spends a substantial part of its life cycle in the environment interacting with predatory organisms that feed on bacteria by phagocytosis, such as protozoa. During evolution, numerous bacteria have developed sophisticated mechanisms to survive within protozoa in order to escape predation. Furthermore, bacteria residing inside protozoa are protected from adverse environmental conditions. As a result, protozoa may act as environmental reservoirs and transmission vectors for infectious bacteria to animals and humans, including *Salmonella*. In recent years, the social amoeba *Dictyostelium discoideum* has been widely used as model organism to study host-microbe interactions. This organism is easy to grow in the laboratory, and is manageable for studies using cell biology, biochemistry and genetic techniques. In addition, *D. discoideum* can be infected with a variety of bacterial pathogens, and important virulence factors in other hosts have been proven relevant in the interaction with this organism. Recently, our group established that *S. Typhimurium* is able to survive intracellularly in *D. discoideum*. To characterize this interaction, we developed different infection assays to evaluate the fitness of bacteria residing in the amoeba, and to monitor the effect of the pathogen in the social development of this host as a readout of virulence. We have used these assays to determine the contribution of selected genes in these processes. Our results indicate that *S. Typhimurium* requires relevant genes linked to virulence in different animal hosts in order to survive within this amoeba, including those encoded in pathogenicity islands SPI-1 and SPI-2. This presentation will focus on the identification of such genes.

Supported by FONDECYT grants 1140754 and 1171844.



SMP34.1

Microbial taxonomic structure, functional patterns and trans-domain interactions in the global ocean

Murillo Alejandro A¹, Peer Bork². ⁽¹⁾ Structural and computational biology, None, European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Heidelberg, DE ⁽²⁾ Structural and computational biology, European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Heidelberg, DE

During the last decade, the increasing utilization of -omics techniques in microbial oceanography have become the gold standard in general. The still difficult task of culturing the majority of microbes from the ocean has led to a golden age of culture-independent techniques. However, most of the studies are a single or few points of sampling in very local areas of the ocean, not representing a realistic view of the ocean planktonic communities. In this context, and to overcome this problem, the TARA Oceans expedition performed a global-ocean survey in a 3 years' campaign (2009-2013), collecting samples from the epipelagic (0-200m) and mesopelagic (200-1000m) layers of the ocean, generating a unique collection of oceanic samples, targeting organisms ranging from viruses to metazoans, together with a complete environmental context measurements. More than 35,000 environmental samples were collected during the expedition and more than 1,600 were processed for -omics analyses. The sampling strategy, based on size fractionation, allowed recovery of five groups of organisms: viruses, giant viruses (giruses), prokaryotes (bacteria and archaea), unicellular eukaryotes (protists) and metazoans, and to unveil the structure and function of plankton communities we performed metabarcoding, metagenomics, single-cell genomics and metatranscriptomics approaches. Results show: 1) viral communities that are passively transported by oceanic currents and locally structured by environmental conditions that affect host community structure; 2) Prokaryotic communities driven by temperature in the epipelagic ocean and by nitrite, oxygen concentration and particles in the mesopelagic ocean; 3) An unexpected biodiversity of heterotrophic protistan groups in the eukaryotic plankton, particularly those known to be parasites or symbiotic hosts; and 4) interactions among grazers, primary producers, viruses, and (mainly parasitic) symbionts.

French Fund for Global Environment (FFEM)



SMP34.2

Microbial communities from Antarctic coastal waters through the metagenomic glass: dynamics and functions of plankton in a threatened and changing environment

Nicole Natalie Trefault¹. ⁽¹⁾ Centro GEMA- Genómica, Ecología y Medio Ambiente, de Ciencias, Universidad Mayor

Antarctica is one of the most extreme environments in the globe and it encompasses an enormous microbial diversity that is still unknown. In this environment, photosynthetic eukaryotes or eukaryote phytoplankton, are responsible for a significant part of the primary production. Antarctic productivity is high during the summer, when ice melts and light levels are elevated, and declines to near zero during the long winter. Thus, phytoplankton standing stocks sustains much of the trophic networks. However, their dynamics and functions are not fully understood. In this work, we use a combination of size-fractionation of the microbial biomass and chlorophyll, microscopy, flow cytometry and high throughput sequencing approaches, to better understand the taxonomical and functional properties of eukaryote phytoplankton in coastal waters from the Western Antarctic Peninsula, their susceptibility to water column disturbances, size-fractions contribution, as well as their spatial and temporal dynamics. Our results indicate that eukaryote phytoplankton responded at very short timescales to changes in mixed layer depth. Spatial variation in coastal Antarctic microbial community composition at sub-mesoscale indicates that the strength of the environmental controls differed markedly between eukaryotes and bacterial communities. Phytoplankton temporal variations through the year, reveal a high diversity, in which diatoms dominate the eukaryotic community in all size-fractions; however, some other taxa such as *Pelagophyceae* or *Phaeocystis* could also be important at specific size-fractions and seasons. Metagenomic profiles also highlight the importance of the diatom community during summer, with a high abundance of photosynthesis and cold-response genes, mainly associated to the order *Thalassiosirales*. Taken together, our results suggest that microbial communities are well adapted to environmental changes in the threatened, but yet not well- understood the Antarctic marine ecosystem. The metagenomic glass is allowing us to access to their hidden taxonomical and functional diversity.

This work was funded by INACH grant RG_31-15, CNRS International Research Network 'Diversity, Evolution and Biotechnology of Marine Algae' (GDRI No. 0803) and Conicyt International Cooperation Program, Chile-France ECOS C16B02.



SMP34.3

Discovering new microbial players in the biogeochemistry of anoxic marine zones

Oswaldo Ulloa¹. ⁽¹⁾ Departamento de Oceanografía, Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

Key microbial players from anoxic marine zones (AMZs) have been identified, but the majority remains unrecognized or uncharacterized. The application of single-cell genomics in combination with microbial-community gene content and transcription offers the possibility to gain some insight into the distribution, metabolic potential, and activity of previously uncharacterized bacterial and archaeal groups. Such approach is revealing new potentially important players for AMZ biogeochemistry, as well as the presence of some apparently overlooked pathways. Moreover, meta-omics results are revealing a strong coupling among different biogeochemical cycles, either within a particular microorganism or between different types of them.



SMP35.1

Identification of an HSV-2 glycoprotein-mutant virus that enables dendritic cell-mediated T cell activation and the establishment of antiviral immunity *in vivo*

Pablo Gonzalez¹. ⁽¹⁾ Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL

Infection with herpes simplex virus type 2 (HSV-2) is highly prevalent in the human population and is associated with increased susceptibility to acquire HIV, as well as considerable morbidity. Symptomatic recurrences by this virus are common throughout the individual's life, as the virus persists in the host lifelong in a latent manner with sporadic reactivations. Mortality can also occur during herpes simplex encephalitis and important sequelae may result, despite treatment with antivirals. Hence, prophylactic measures against this virus are needed. Although numerous efforts have been invested in creating a vaccine against HSV-2, numerous attempts have proven unsuccessful so far. Importantly, HSV-2 escapes several of the host's antiviral mechanisms and particularly interferes with the function of dendritic cells (DCs), key immune cells involved in initiating and regulating adaptive immune components. Recently, we identified an HSV-2 mutant virus (delta-gD) that elicits strong antiviral immunity against HSV-infection in mouse models. Although protection was shown to be mediated by antibodies, the underlying basis for its effectiveness remained to be determined. Here, we show that the delta-gD virus is attenuated in DCs, unlike with wild-type (WT) virus or other mutant viruses. DCs inoculated with delta-gD were viable after infection, activated CD8⁺ and CD4⁺ T cells with a Th1 phenotype and elicited a protective antiviral immune response *in vivo* against a lethal challenge with virulent HSV-2. Taken together, our results suggest that the outcome of the interaction between HSV and DCs is key for establishing protective immunity against this virus and may be a correlate of protection for candidate vaccines based on HSV mutants. Our findings call for more attention on the HSV-DC interaction and for the identification and development of strategies that potentiate the function of these cells after infection with this virus.

This study was supported by the Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy (P09/016-F), grants FONDECYT 1140011, FONDECYT 1140010, FONDEQUIP EQM 130158, FONDEQUIP EQM 130092 from CONICYT Chile, as well as CRP-ICGEB CRP/CHI14-01.



SMP35.2

HIV-1 regulates autophagy by controlling mTORC1 and late endosome/lysosome positioning

Andrew Mouland^{1,2}, Alessandro Cinti^{1,2}, Abdelkrim Temzi^{1,2}, Laure Fossecave^{1,2}. ⁽¹⁾ Lady Davis Institute at the Jewish General Hospital H3T 1E2, CA ⁽²⁾ Department of Medicine, McGill University H3A 0G4, CA

Eukaryotic autophagy is essential for maintaining cellular energy and metabolic homeostasis as well as for controlling multiple immunological functions. It provides a mechanism for the elimination of intracellular microorganisms, controls inflammation and is suggested to act as both an inducer and effector of innate and adaptive immune responses against intracellular pathogens, including viruses. Mounting evidence indicates that autophagy is targeted by HIV-1 and has led to efforts to understand the role of autophagy in HIV-1-infected cells. We recently demonstrated that HIV-1 induces the mechanistic target of rapamycin (mTORC1) activation and promotes late endosome/lysosome (LEL) repositioning, two key mechanisms that regulate autophagy. Here we show that HIV-1 has inhibitory effect on autophagy, by lowering the accumulation of LC3-II and blocking p62 degradation (two key markers for autophagy activation), after exposure to the pro-autophagic compound Arsenite. These effects exerted by HIV-1 are comparable to those obtained by co-treating cells with Arsenite and 3-MA, or Wortmannin, two inhibitors of autophagy. Using confocal and super-resolution microscopy, we demonstrate that HIV-1 redistributes LC3-positive mTOR-laden LELs to the periphery of the cells, that normally cluster at a juxtannuclear region. Thus, HIV-1 likely decreases the number of juxtannuclear lysosome fusion events to impede autophagy. Finally, because LEL localization influences intraluminal pH of these endomembranes, we tested if HIV-1 induces changes in LEL pH, thereby impeding ingress of LELs to repress autophagy. A combination of pH-sensitive lysosomal dyes and high-resolution microscopic analyses in live cells revealed that HIV-1 prevents late endosomal/lysosomal acidification. Further mechanistic insight will be provided on HIV-1-mediated co-option of LELs. A thorough understanding of how HIV-1 commandeers LEL positioning and autophagy could be translated and applied in novel approaches to eradicate the virus, putatively from long-lived viral reservoirs. The elucidation of host machineries, proteins and signaling pathways remains an active area of fundamental HIV-1 research that will lead to the eradication of HIV-1.

This work is funded by the Canadian Foundation for AIDS Research (CANFAR).



SMP35.3

Inhibition of Herpes Simplex virus 1 replication by upstream binding factor

Angela Pearson¹. ⁽¹⁾ INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Québec, Canada

Herpes simplex virus 1 (HSV-1) causes primarily oral mucosal lesions, but it also causes ocular keratitis, and is the leading cause of spontaneous encephalitis. Cells control viral infections in part through intrinsic antiviral responses. Upon infection, the linear 152 kbp HSV-1 genome enters the nucleus via the nuclear pore, and then circularizes and becomes chromatinized. We and others have shown that a portion of the cellular protein Upstream Binding Factor (UBF), an RNA polymerase I basal transcription factor, is relocalized from nucleoli to viral replication compartments (VRCs) upon HSV-1 infection. Using a strategy of siRNA knockdown of UBF, we discovered that UBF negatively affects HSV replication, and affects steady-state levels of viral gene products. Moreover, we found that cells transiently overexpressing UBF are refractory to HSV-1 replication in cell culture. Despite the existence of various intrinsic antiviral responses in host cells, viruses succeed in replicating and spreading throughout populations. This achievement is due largely to the evolution of viral factors that counter the effect of cellular restriction factors. Using confocal microscopy, we discovered that the viral transcriptional activator VP16 counters the ability of UBF to localize to incoming viral genomes in a manner dependent on its transactivation domain. We propose a model whereby UBF binds to, and promotes transcriptional silencing of the viral genome, and that this inhibition is countered by factors recruited to viral DNA by VP16.

SMP36

SMP36.1

mRNA transcription from the host and pathogen during early and advanced experimental pulmonary tuberculosis

Rogelio Hernandez Panda¹, Payan Jorge Barrios¹, Granados Fernanda Cornejo², Castillo Brenda Marquina¹, Espinosa Dulce Mata¹, Leal Gamaliel Lopez¹, Leyva Adrian Ochoa¹. ⁽¹⁾ Patología, Patología Experimental, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Mexico City, MX ⁽²⁾ Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, MX

The host response against *Mycobacterium tuberculosis* show a wide spectrum of clinical manifestations in those patients who fail to control the infection, which depend upon a complex interplay of host, environmental and bacterial factors. Experimental animal models have helped to define the influence of bacterial genetic diversity on virulence and immune response, because they take advantage of a uniform immune response within the host, allowing the genetic diversity among strains to be analyzed. One such model that we have used extensively is syngeneic BALB/c mice infected by intratracheal route with high infecting dose of reference strain H37Rv to induce progressive disease. This model is based on airway infection, and there is a correlation in the rate of bacterial multiplication with the extent of tissue damage (pneumonia) and mortality. This model was used to determine the whole host gene transcription isolating total RNA from the left lung, while from the right lung was isolated RNA from mycobacteria following a novel protocol, with the aim to determine for the first time the gene transcription *in vivo* of the host and bacteria at day 21 and 60 of infection, when the immune system is efficient and inefficient to control bacillary growth respectively. Regarding to the host, at day 21 of infection, 16,517 genes showed expression and 69 exhibited overexpression, being those related with protein synthesis, anti-protease and immunoglobulin synthesis the highest expressed, and 30 functional categories were overexpressed. Regarding to bacteria at the same infection day, the highest gene expression was related with the ESX-1 secretion system, adhesins, invasins (mce) and genes related to lipid synthesis (polyketide synthases). At day 60 of infection, 201 genes from the host were overexpressed, being the highest those related with proteolytic enzymes (chitinase, lipoprotein lipase), growth factors, inhibitors of cell motility (semaphorin) and 30 functional categories were overexpressed. The gene expression from bacteria at this chronic day is now processing. Thus, this study will contribute to define the interaction at genomic level of the immune response and the pathogen in the lung, the organ most frequently affected by *M. tuberculosis*.

CONACyT grant CB- 2013-223279

SMP36.2

Bioperfiles de *Mycobacterium tuberculosis* identificados mediante biología de sistemas y útiles en el desarrollo de nano-diagnósticos

Patricia Del Portillo¹, Anzola Manuel J¹, Jaime Robledo², Niño Fernando L³, Pelaez Myriam Patricia⁴, Herrera Oscar Patricia⁵, García Jesus M⁶, Laura Lechuga⁷. ⁽¹⁾ Biología Molecular, Biología, Corporación CorpoGen, Bogotá, CO ⁽²⁾ Grupo de Micobacterias, Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, CO ⁽³⁾ Bioinformática y Sistemas Inteligentes, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, CO ⁽⁴⁾ Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico de la Industria Electro Electrónica y TIC, CO ⁽⁵⁾ Grupo de Investigación en Bioingeniería, Nanotecnología y Telecomunicaciones, Universidad Central, Bogotá, CO ⁽⁶⁾ Departamento de Medicina Preventiva y SP y M, Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, ES ⁽⁷⁾ NanoBiosensors and Bioanalytical Applications Group, Catalan Institute of Nanoscience and Nanotechnology (ICN2), Barcelona, CL

A pesar de ser una enfermedad curable y de existir la vacuna del BCG, la tuberculosis (TB) continúa siendo una de las 10 enfermedades infecciosas de mayor relevancia mundial, con 10.3 millones de casos nuevos anuales y una mortalidad cercana a 1.3 millones de individuos por año. El agente causal, *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), es uno de los patógenos más exitosos con una biología caracterizada por: i) alternar ciclos replicativos (TB activa), ciclos de persistencia (TB latente) y de nuevo tener la capacidad de replicación activa (reactivación) lo que implica procesos de regulación genética que aún no están del todo dilucidados; ii) tener una población genéticamente clonal que ha evolucionado en linajes caracterizados por polimorfismos genéticos relacionados con su huésped y con su origen geográfico; iii) El 52% de sus proteínas hacen parte de grandes familias generadas por duplicación de genes y posee genes con funciones redundantes y iv) es un microorganismo difícil de diagnosticar. Con el fin de abordar de una manera holística la biología de MTB, se creó la red NUCLEOSENSOR TB, conformada por un grupo multidisciplinario de investigadores que incluye microbiólogos, ingenieros de sistemas, ingenieros químicos, biólogos, médicos y físicos con el objetivo de identificar mediante biología de sistemas bioperfiles y biomarcadores de MTB que puedan ser útiles en el diseño de nuevas vacunas, drogas más efectivas y diagnósticos novedosos. Durante cuatro años, la red ha trabajado coordinadamente y hoy tenemos 20 genomas secuenciados de diferentes linajes. Tenemos 10 transcriptomas secuenciados, correspondientes a los linajes de mayor prevalencia en el mundo. Las secuencias generadas alimentaron algoritmos desarrollados por el grupo de bioinformática y los resultados nos permitieron seleccionar 54 biomarcadores con características importantes para futuros desarrollos. En colaboración con el grupo de Nanobiosensores y Aplicaciones Bioanalíticas del Instituto Catalán de Nanociencias y Nanotecnología, se seleccionó un biomarcador y se establecieron las condiciones para utilizarlo en el sistema de biosensado LSPR-based immunassay (Localized Surface Plasmon Resonance) con resultados promisorios. Conjunto a este desarrollo, otros biomarcadores están siendo evaluados en el grupo de bioingeniería, nanotecnología y telecomunicaciones de la Universidad Central, Colombia.

Financiado por Colciencias Contrato 375-2013

SMP36.3

How close is close? Comparison of genome sequences in the genus *Mycobacterium*

María Jesús García¹. ⁽¹⁾ Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

The current availability of whole genome sequence (WGS) has opened new ways to perform more in-depth studies on the genomic relationships among bacteria and has replaced the wet lab DNA-DNA hybridization for species definition of prokaryotes. The unprecedented amount of genetic information will elucidate the evolutionary relationships among different organisms and will develop a better resolution of the phylogenetic relationship between species. Classification of species in the classical genus *Mycobacterium* has been based until now in sequence comparison of several housekeeping genes, which conform the distribution of species in the last decade. Until recently, the NCBI bacterial genome database included genomes of near 120 species of the genus and genomes of more than 168 *Mycobacterium* sp. isolates. The application of WGS comparison procedures, such as ANI and GGDC, recently allowed the identification of mycobacterial species more accurately. Those procedures were able to detect some misidentifications, such as the wrong inclusion of the strain JS623 within the species *Mycobacterium smegmatis* or the wrong separation of *Mycobacterium yongonense* from the species *Mycobacterium intracellulare*. Moreover, the three subspecies included in *Mycobacterium abscessus* were finally established undoubtedly. However, a *revolution* in the mycobacterial taxonomy has started due to the availability of WGS. The comparison of WGS of the type-strain allowed a recent revision of the genus at the species level. In 2017, Tortoli and co-workers compared 148 genomes and clearly identified some subgroups within the genus that found to be equivalent to the groups known as complex including related species. These authors identified near 20 accepted species that required reclassification, because they could not be distinguished using the former approaches. This year a radical change happened in the genus concerning its “main character”: *Mycobacterium tuberculosis*. Riojas *et al* (2018) clearly described that all members of the MTB complex were actually a single species. The following news was even more revolutionary. According to the work of Gupta (2018) and based on aminoacid sequence similarities, the genus was readily distributed into five different genera, remaining the name of *Mycobacterium* for slowly growing species including *M. tuberculosis*. Conclusion: From now ahead we should not talk about *Mycobacterium* but about *Mycobacteriaceae*.

No funding considered



Jueves 15 de Noviembre 2018

POSTERS

JU001

Modulation of the humoral immune response through simultaneous stimulation of B lymphocytes and NKT cells, using liposomes containing OVA and CD1d/glycolipid complexes antigens

Pablo Palacios^{1,2}, Pablo González^{3,4}, Leandro Carreño^{1,2}. ⁽¹⁾ Programa de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago de Chile, CL ⁽³⁾ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽⁴⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL

NKT cells are a specialized group of unconventional T lymphocytes that co-express $\alpha\beta$ -T cell receptors (TCR) with multiple receptors found in Natural Killer cells. These cells play a regulatory role of the immune response thanks to his ability to secrete a large variety of cytokines after being activated by glycolipid ligands, such as alpha-galactosylceramides (α GC), which are presented by antigen presenting cells through the CD1d molecule. The cytokines secreted by NKT cells influence the phenotype of several immune cells, in a process known as transactivation. In this context, although it is known that the canonical activation of B cells involves its interaction with T lymphocytes that were first primed by dendritic cells, inducing their differentiation of B cells into plasma cells; generation of memory B lymphocytes; and determining the titer and the isotypes of antibodies produced (isotype switching), recently it has been described that NKT cells stimulated with α GC are able to potentiate the production of antibodies against specific antigens, and the establishment of memory B cells. However, the effect of analogous ligands to α GC (those that generate differential responses, either pro or anti-inflammatory) on the activity of B lymphocytes, is unknown. In this work, we employed liposomes modified with antigen OVA and different CD1d/lipid complexes, as administration vector that allowed to promote a differential humoral response in hCD1d-KI mice. Additionally, this administration vector of the glycolipid ligand allowed to directly activate NKT cells, without depending on the processing and presentation of the antigen by DCs. Briefly, liposomes were synthesized using the DOGS-NTA-Ni lipid, which facilitated us the conjugation of produced poly-histidine-tagged hCD1d (human CD1d) and OVA proteins, to their surface. Then, these liposomes were incubated with 3 different ligands: α GC (KRN7000); 7DW8-5 (Th1-like profile); DB034 (Th2-like profile) to induce the formation of hCD1d/lipid complexes, and used to immunize hCD1d-KI mice. Finally, we determined by ELISA the title of different isotypes anti-OVA antibodies present in the serum of mice. We found that the three lipids variants improved the title of anti-OVA antibodies differentially, highlighting the lipids KRN7000 and 7DW8-5, which increase specifically the production of IgE and IgA isotypes.

Funded by FONDECYT 1160336, ICGEB CRP-CHL17-06-EC and Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy P09/016-F

JU002

Butyrate: homeostasis-related gene expression in monocytes, macrophages and colonic organoids

Daniela Parada¹, Marjorie K De La Fuente¹, Blokzijl Tjasso², Gerard Dijkstra², Nico Faber Klaas^{3,2}, Marcela A Hermoso¹.

⁽¹⁾ Laboratory of Innate Immunity, Program of Immunology, ICBM, Faculty of Medicine, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Department of Gastroenterology and Hepatology, University of Groningen, UMCG, Groningen, NL ⁽³⁾ Department of Laboratory Medicine, University of Groningen, UMCG, Groningen, CL

Background: Butyrate is a short chain fatty acid, produced by bacterial fermentation of dietary fiber in the colonic lumen, relevant in maintaining the intestinal homeostasis. Moreover, butyrate has anti-inflammatory properties which restore the intestinal epithelium in inflammatory murine model and *in vitro*. A reduction of butyrate-producing bacteria, epithelial damage, infiltration of inflammatory cells such as monocytes and M1 macrophages are some of the characteristics of Inflammatory Bowel Diseases (IBD), comprising mainly ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD). To date, the role of butyrate in regulating macrophage function and epithelial healing in IBD has not been fully elucidated. **Methods:** In this study, we evaluate the effect of butyrate on inflammatory and intestinal homeostasis mediator's mRNA and protein expression in an *in vitro* macrophage model (derived from THP-1 cells), an *ex vivo* human peripheral blood monocyte and colonic organoid model, using qPCR, ELISA and flow cytometry. **Results:** The results demonstrate that butyrate inhibits CD40 and CD80 costimulatory molecules content and the pro-inflammatory cytokine TNF- α secretion levels in M1 macrophages. Additionally, butyrate decreases TNF- α mRNA and protein levels in inflammatory human peripheral blood monocytes, whilst increasing the transcript content of *CD11b* and *SLC16A1* (genes encoding the adhesion molecule CD11b and the butyrate transporter MCT1). In both models, butyrate does not affect cell viability. Moreover, butyrate induces *HDAC3* (gene encoding the enzyme regulator of intestinal homeostasis HDAC3) but inhibits *SLC16A1* mRNA expression in colonic organoids. **Conclusion:** In summation, butyrate has anti-inflammatory and gene expression regulatory effects in these models with data suggesting that the activation of butyrate pathways in monocyte/macrophages and epithelial cells could control inflammatory processes such as in IBD.

BECA Doctorado Nacional CONICYT 21150517

JU003

Role of the CD73-ectonucleotidase in regulatory T cell biology

Brian Parra¹, Pedro Briceño¹, Mariana Roseblatt^{1,3,4}, Mario Roseblatt^{1,2,5}, María Rosa Bono¹, Daniela Sauma¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Inmunología Celular y Molecular, Fundación Ciencia & Vida, Santiago, CL ⁽³⁾ Programa Doctorado en Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽⁴⁾ Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad San Sebastián, Santiago, CL ⁽⁵⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL

T Regulatory cells (Treg) can be identified by the expression of CD4⁺ CD25⁺ and Foxp3 transcription factor. Tregs are generated in the thymus in response to self-antigens and regulate peripheral tolerance. Tregs can also be induced (iTreg) from naive T cells on antigenic stimulation in the presence of TGF- β , retinoic acid (RA) and IL-2. Tregs suppress the activation of immune cells through contact-dependent and soluble mediators. One strategy of suppression is the release of adenosine, an immunosuppressive molecule produced by the activity of CD39 and CD73, two transmembrane ectoenzymes. Previous reports have shown the role of CD73 on immune cell functions, inflamed vasculature, and cancer, but the importance in Treg differentiation and function is poorly understood. To understand whether CD73 is involved in Treg differentiation and immunosuppressive properties, we analyzed the frequency and phenotype of *in vitro* generated and endogenous Treg populations using CD73 knockout mice. Also elucidated the role of CD73 in the Treg suppressive functions. Our results show that the frequency and phenotype of endogenous Tregs populations in CD73KO mice is not affected compared to wild type. In addition, CD73 does not have an effect of iTreg differentiation when the cells are generated in the presence of RA. However, iTreg differentiation is decreased in CD73KO cells when cultured in absence of RA. Moreover, the expression of CTLA-4, GITR, PD-1 and suppressive activity is not affected by the absence of CD73 in iTregs. Our results suggest that CD73 is important for Treg differentiation and although it has been described as one of the mechanisms used to suppress T cell proliferation, its absence can be compensated by other suppressive pathways.

FONDECYT 1180385

FONDECYT-Basal AFB170004



JU004

Non-lysosomal activation during *Piscirickettsia salmonis* infection in Atlantic salmon macrophages

Diego Pérez-Stuardo¹, Allison Espinoza¹, Valentina Ibaceta¹, Bernardo Brianson¹, Diego Ahumada¹, Mateus Frazao¹, Jonathan Morales-Reyes², Jorge Valdés¹, Sebastian Reyes-Cerpa¹. ⁽¹⁾ Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, CL ⁽²⁾ Laboratorio de Virología, ICTIO Biotechnologies, Santiago, CL

Introduction: *Piscirickettsia salmonis* is the most important health problem that facing Chilean aquaculture industry. In the last years has been suggested that *P. salmonis* infects and replicates within macrophages avoiding its lysosomal degradation. However, the host-pathogen interaction involved in survival and replication are poorly understood. In this work, we have proposed to evaluate the functionality of macrophages lysosomes, such as pH and proteolytic activity, when are infected by *P. salmonis*. **Methods:** The lysosome pH was analyzed in Atlantic salmon macrophages infected by *P. salmonis* after of 3, 6 and 24 hours post infection (hpi) using the LysoSensor Yellow/Blue™ probe that allow us differentiate an acid pH from a neutral pH by confocal microscopy. The proteolytic activity of lysosomes of Atlantic salmon macrophages was determined after 3, 6 and 24 hpi using DQTM-BSA-Green probe that are strongly self-quenched. Upon proteolysis digestion results in dequenching, releasing fluorescence detected by confocal microscopy. The relationship between lysosomal activation and *P. salmonis* viability was determined by a gentamicin protection assay that allow us recover the intracellular bacterium that then was grown in CHAB agar. **Results:** When macrophages are infected with *P. salmonis* we observed that pH was not acid remaining a neutral range similar as the obtained in non-infected macrophages. By the contrary, in macrophages incubated with *P. salmonis* fixed with PFA we observed that between 3 to 24 hpi the pH achieve an acid range in lysosomes. Similar results were obtained when we analyzed the proteolytic activity in macrophages infected with *P. salmonis*, in which we observed a lower fluorescence intensity associated with BSA degradation in macrophages respect to proteolytic focus observed in macrophages incubated with fixed *P. salmonis*. Gentamicin protection assay followed by detection and quantification of *P. salmonis* showed that intracellular *P. salmonis* was viable in all times evaluated and reached a maximum at 24hpi. **Conclusion:** Our results suggest that *P. salmonis* modulates the lysosomal activation, avoiding its lysosomal degradation as possible mechanism to favour its intracellular survival and replication.

FONDECYT 11150807 - START UP UMayor 101205



JU005

An anti-N monoclonal antibody as a new therapy for the Respiratory Syncytial Virus

Magdalena S Pizarro-Ortega¹, Felipe M Benavente¹, Angelo Castiglione¹, Nicolás MS Gálvez¹, Jorge A Soto¹, Natalia Muñoz-Durango¹, Alexis M. Kalergis^{1,2} ⁽¹⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Departamento Endocrinología. Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL

Human Respiratory Syncytial Virus (hRSV) is the main cause of acute lower respiratory tract infection in susceptible individuals, such as young children and elderly around the world. The immune response observed in the infection is a Th2 profile, which is inefficient to induce viral clearance. Although hRSV is a major public health burden, there are no licensed vaccines and the only available therapy is palivizumab, an humanized monoclonal antibody against the fusion (F) protein. During life, reinfections with hRSV are common. Along these lines, our group described that the N protein could be involved in this process, due to its capacity to impair the immunological synapsis between dendritic cells (DCs) and T cells. Based on this observation, we have developed a monoclonal antibody that binds with high affinity to the N protein, both purified or expressed in infected cells. Also, we tested the therapeutic capacity on a murine model of hRSV infection, observing a decrease in cellular infiltration and viral loads in lungs of infected animals. The above results suggest that this antibody helps to control the inflammation and viral spreading triggered by this pathogen. These results suggest that a new therapy using a monoclonal anti-N antibody could be considered to control infection caused by the hRSV.

This work was supported by the Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy from Chile (P09/016-F for AMK) and Proyecto COPEC-UC R-772.



JU006

Dopamine receptor D3 plays a dual role in B-cells favoring antigen-presenting cell function and stimulating the suppressive activity of regulatory B-cells in autoimmunity

Carolina Prado¹, Rodrigo Pacheco^{1,2(1)} Laboratorio de Neuroinmunología, Fundación Ciencia y Vida, Santiago, CL ⁽²⁾ Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL

Multiple Sclerosis (MS) is a CD4⁺ T-cell-mediated autoimmune disorder of the central nervous system (CNS). Accumulating evidence points B-cells as critical players in MS pathogenesis, as they constitute key antigen-presenting cells (APCs) re-stimulating inflammatory CD4⁺ T-cells in the CNS but also they can suppress inflammation. Previous results obtained with the experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), a mouse model of MS, indicated that dopamine receptors D3 (D3R) expressed in the adaptive immune system but not in CD4⁺ T-cells was relevant in the development of autoimmunity. Here we aimed to study the role of D3R on B-cells function in EAE. Our data shows that D3R is expressed in B-cells under steady-state conditions, however it is down-regulated during EAE. By the generation of bone-marrow chimeric mice with D3R-deficiency confined to B-cells and using two different antigens for active EAE induction, we were able to evaluate the role of this receptor on distinct B-cells populations. In a B-cell-dependent EAE model, D3R-deficiency in B-cells attenuated the disease severity. Accordingly, mice bearing D3R-deficient B-cells showed a significant reduction in the frequency of iFN- γ , IL-17 and GM-CSF producing CD4⁺ T-cells infiltrating the CNS compared to control animals. In contrast, in a B-cell-independent EAE model, mice bearing D3R-deficient B-cells developed a severe disease compared to controls. Consequently, a higher frequency of CNS-infiltrating CD4⁺GM-CSF⁺ T-cells compared to control animals was observed. Together these results suggest a dual role for D3R in B-cells favoring the APC-function but also stimulating the suppressive activity of regulatory B-cells, depending on the nature of the antigen involved in disease induction.

This work was supported by grants FONDECYT 3160383, 1170093 and CONICYT PFB-16.



JU007

A dual role for invariant Natural Killer T cells in immunity to gastric cancer

Felipe Gálvez-Jirón¹, Gabriel Ascui Gac¹, Karina Kramm¹, Matías Larenas¹, Constanza Esteban¹, Natalia González¹, Ana Flores¹, Amanda Santander¹, Marco Bustamante², Paula Fluxá², María Carmen Molina¹, Carolina H Ribeiro¹. ⁽¹⁾ Programa Disciplinario de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Departamento de Cirugía Digestiva - Hospital del Salvador, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL

Invariant CD1d-restricted Natural Killer T (iNKT) cells are cytolytic T lymphocytes that recognize glycolipid antigens through their invariant TCR α chain containing the V α 24J α 18 rearrangement paired with a V β 11 β chain. Although iNKT cells participate in immunity to several types of tumors, their role in gastric cancer (GC), the leading cause of cancer-related death in Chile, needs to be uncovered. We have previously observed, in GC patients, a compromised cytotoxic activity and lower percentage of IFN- γ -producing iNKT cells compared to healthy controls. Conversely, GC patients presented higher frequency of iNKT cells producing the tumor promoting cytokine TGF- β . Here, we stratified GC patients into two groups based on peripheral iNKT cell frequency and their TCR α chain levels and analyzed patient survival proportions after potentially curative gastrectomy. We found that the 4-year survival rate for patients with higher percentages of iNKT cells was 24%, similar to that of patients with lower fractions of iNKT cells, which was 23%. However, patients with iNKT cells presenting low levels of the TCR α chain showed significantly higher survival rates after 1 year of surgery, and the 4-year survival rate for these patients was 27%, while for patients with higher levels of the TCR α chain it was 13%. Since low TCR levels are associated with iNKT cell anergy, we decided to investigate the levels of the programmed death 1 (PD-1) molecule, which plays a key role in the induction and maintenance of the hypo-responsive state of these cells. By flow cytometry, we observed that peripheral CD8+ iNKT cells from GC patients exhibited higher amounts of PD-1 than controls. Accordingly, the supernatant of MKN-45 cells, a GC cell line, promoted an increase in PD-1 on CD8+ iNKT cells from patients, but not controls. Therefore, on one hand, the compromised IFN- γ production and cytotoxic response of iNKT cells may favor tumor immune escape and GC progression; on the other hand, a hypo-responsive state induced on potentially regulatory iNKT cells may contribute to a better prognosis of the disease. Altogether, our results suggest a dual role for iNKT cells in GC, a finding that merits further investigation.

FONDECYT Grants 11110456 and 1130330 and Enlace ENL 012/15, Chilean Government.



JU008

Tumor lysate loaded dendritic cells induce a T cell specific antitumor response against gallbladder cancer

Daniel Alberto Rojas-Sepúlveda^{1,2}, María A Gleisner^{1,2}, Cristian Pereda^{1,2}, Mercedes López^{1,2}, Flavio Salazar-Onfray^{1,2}.

⁽¹⁾ Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Universidad de Chile, Santiago, CL

Introduction: Gallbladder cancer (GBC) is the leading cause of death in women over 65 years in Chile and five-year survival rate is less than 10%. Previously, we demonstrated that allogeneic melanoma cell lysates-loaded dendritic cells (DCs) constitute a tumor-specific vaccine capable to induce an immune response in melanoma patients. Here, we investigated the effect of tumor lysates derived from GBC cell lines on DCs and their capacity to induce T cell activation.

Material and Methods: DCs stimulated with GBC cell lysates were analyzed by flow cytometry for maturation. CD4+ and CD8+ T cells co-cultured with these DCs were analyzed by flow cytometry for activation. CD8+ T cells were co-cultured with GBC cell lines for IFN- γ secretion measurement. **Results:** GBC cell lysates induced DCs maturation, increasing MHC-I, MHC-II, CD80, CD83, CD86 and CCR7 expression. These DCs induced CD4+ and CD8+ T cells activation, increasing CD25, CD69, CXCR3 and CXCR4 expression compared with control. CD8+ T cells co-cultured with GBC-loaded DCs, released higher amounts of IFN- γ than controls. **Discussion:** Based on these results, DCs matured with GBC cell lysates are capable to induce T cells activation and can be considered for future immunotherapy approaches.

FONDECYT 1171213; FONDEF ID16I10148; MIII P09/016-F; CONICYT-PCHA /Doctorado-Nacional/ 21130465; CONICYT-PAI/TESIS-DOCTORADO-SECTOR-PRODUCTIVO/7815110008

JU009

Expression of the ectonucleotidase CD73 enhances the proliferative response of naïve CD8+ T cells

Mariana Violeta Roseblatt^{1,2,3}, Barbara Cuadra¹, Felipe Flores-Santibáñez¹, Brian Parra¹, Sofía Puvogel¹, Mario Roseblatt^{1,4,5}, María Rosa Bono¹, Daniela Sauma¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad San Sebastián, Santiago, CL ⁽³⁾ Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽⁴⁾ Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL ⁽⁵⁾ Inmunología, Fundación Ciencia y Vida, Santiago, CL

Background: CD73 is an ectonucleotidase present on the surface of T cells, whose main function is the generation of extracellular adenosine. Although adenosine has a known role as an immunosuppressive molecule, we propose that CD73 could have other functions in T cell differentiation. **Methods:** Naive CD8+ T cells from C57BL/6 (Wt) and CD73 knockout (CD73 KO) mice were isolated and cultured *in vitro* under polarizing conditions towards effector or memory cells, in order to analyze their proliferation and differentiation. Additionally, we evaluated the effect of CD73 on homeostatic proliferation. For this, naive and central memory CD8+ T cells were isolated from B6.SJL (CD45.1) and CD73 KO mice (CD45.2) and co-injected into RAG-1 ^{-/-} mice. The mice were bled on day 7, 14 and 28 after the adoptive transfer and CD8+ T cells were analyzed by flow cytometry. **Results:** When CD8+ T cells were cultured under polarizing conditions towards memory cells, we observed no differences in CD25 expression between Wt and CD73 KO cells. However, when differentiated to effector cells, we found that a subpopulation of cells from CD73 KO mice do not express CD25 as do effector cells from Wt mice. In the adoptive transfer experiments, we observed a higher rate of proliferation of naive Wt T cells compared to naive CD73 KO T cells. However, when central memory T cells from Wt and CD73KO mice are co-injected we observed that T cells that do not express CD73 proliferate more efficiently than Wt T cells. This indicates that the defect in proliferation in CD73 KO T cells only occurs in naive cells. **Conclusion:** The results suggest that the absence of CD73 in naive T cells decreases the self-renewal capacity of these cells, as well as their proliferative capacity in response to IL-2. These results are relevant due to the recent use of CD73 inhibitors in antitumor therapies.

FONDECYT 1180385; FONDECYT-Basal AFB170004

JU010

Recombinant VP1 and VP2 of Infectious Pancreatic Necrosis virus trigger lymphoid cell changes and induced cytokine transcriptional expression in rainbow trout head kidney

Valentina Wong¹, Agustín Trujillo¹, Felipe Barraza¹, Daniela Ruiz-Higgs¹, Claudio Vergara¹, Ana M Sandino², Tiehui Wang³, Kevin Maisey⁴, Christopher J Secombes³, **Monica Imarai**¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Inmunología. Centro de Biotecnología Acuícola. Departamento de Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Laboratorio de Virología. Centro de Biotecnología Acuícola. Departamento de Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ Scottish Fish Immunology Research Centre, University of Aberdeen, Aberdeen, GB ⁽⁴⁾ Laboratorio de Inmunología Comparada. Centro de Biotecnología Acuícola. Departamento de Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL

Infectious pancreatic necrosis (IPN) is a disease that affects salmonid fish producing mortality and economic losses in the salmon industry. The agent responsible for this disease is the IPN virus (IPNV), which has a double-stranded RNA genome of two segments. The segment A encodes proteins VP2, VP3, VP4 and VP5 and the segment B encodes the VP1 protein, which is an RNA-dependent RNA polymerase. In this work, we assessed the effects of VP1 and VP2 recombinant proteins on the lymphoid cell populations and cytokine expression in the head kidney of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish were i.p immunized with VP1 or VP2 and the IgM+, CD3+ and CD4+ lymphoid cells of the anterior kidney were analyzed by flow cytometry. The results showed that the percentage of IgM+ B cells did not change in the kidney of immunized fish whilst significant variations of CD3+ and CD4+ lymphoid cells were observed after VP1 and VP2 immunization, respectively. In addition, transcripts of cytokines related to the lymphoid immune response, i.e., IFN γ , IL-4/13A, IL-4/13B1, IL-4/13B2, IL-2, IL-22, IL-10 and TGF β were quantified by qRT-PCR. The results showed significant increase of the cytokine transcripts and distinct expression profile in VP1 and VP2 immunized fish. In summary, recombinant VP1 and VP2 trigger distinct immune responses in the head kidney of rainbow trout, which can be essential to develop fish immunity against IPNV.

Funded by CONICYT and RCUK through the Newton-Picarte Fund MR/N02625X/1; FONDECYT 1161015



JU011

The exocyst subunit Exo70 regulates lysosome tethering and secretion at the immune synapse

Juan José Sáez^{1,2}, Jheimmy Díaz¹, Juan Pablo Bozo¹, Jorge Ibañez¹, Martina Alamo¹, Danitza Fuentes¹, María Rosa Bono², María Isabel Yuseff¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL

B lymphocytes capture antigens from the surface of presenting cells by forming a specialized domain at the plasma membrane, known as the immune synapse. A key step in this process is the recruitment and secretion of lysosomes, which facilitates the extraction and processing of immobilized antigens. Lysosomes are guided to the synaptic membrane by centrosome repositioning, however the molecular basis underlying their docking and secretion remains elusive. We provide insight to this process by showing that the centrosome of B cells harbors a vesicle-tethering subunit belonging to the exocyst complex, Exo70, which polarizes to the immune synapse in association with the microtubule network. Upon polarization, Exo70 is released from the centrosome, by changes in microtubule dynamics, where it accumulates on the synaptic membrane, by means of the conserved polarity protein Par3. On the synaptic membrane, Exo70 promotes tethering and secretion of lysosomes and is required for efficient antigen extraction and presentation to T lymphocytes. Thus, exocyst-dependent lysosome secretion at the immune synapse emerges as a critical step for B cells to acquire their antigen presenting function.

This work was supported by FONDECYT REGULAR 1180900 research grant to MIY.

JU012

Effect of enzymatic N-deglycosylation of mollusk hemocyanins on their immunogenic and antitumor properties in mammals

Michelle Salazar¹, José M Jiménez¹, Javiera Villar¹, Maira Rivera², Mauricio Báez², Augusto Manubens³, María Inés Becker^{1,3}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Inmunología, Fundación Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, FUCITED, Santiago, CL ⁽²⁾ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ Investigación y Desarrollo, Biosonda S.A, Santiago, CL

Mollusk hemocyanins from the gastropods *Concholepas concholepas* (CCH), *Fisurella latimarginata* (FLH) and *Megathura crenulata* (KLH), are glycoproteins widely used in biomedicine and biotechnology as carrier of haptens and peptides, adjuvants and non-specific immunostimulants, because they bias towards Th1 immune response. Hemocyanins are oligomeric glycoproteins of high molecular weight (4-8 MDa), with an intricate didecameric quaternary structure, which possess complex and heterogeneous glycans that reach up to 4% w/w, being mainly mannose-rich N-glycosylations. We have demonstrated that hemocyanins are incorporated by murine antigen-presenting cells by macropinocytosis and by coated pits, a process in which participate C type lectin receptors (CLRs), such as Mannose Receptor (MR) and Dectin-2, which recognize mannose-rich oligosaccharides. However, the role of N-glycans on the immunologic properties of these proteins has not been compressively demonstrated. We hypothesized that enzymatic N-deglycosylation of CCH, FLH, and KLH, decreases their immunogenic and antitumor effects in mammals. Hemocyanins were enzymatically deglycosylated by treatment with peptide:N-glycosydase F and, as a control, chemical deglycosylation with sodium periodate was performed. By lectin array blot, we observed that the enzymatic N-deglycosylation of hemocyanins is selective and partial, leaving residual fucose-rich sugars. Based on biochemical analyses, we observed that N-deglycosylation of hemocyanins affects their quaternary structure and oligomerization state. ELISA analyses showed that the binding of hemocyanins to chimeric receptors MR-Fc and Dectin-2-Fc diminishes when they were chemically or enzymatically deglycosylated. The humoral and antitumor responses produced by hemocyanins were explored in the B16F10 murine melanoma model, in which mice were primed with native and N-deglycosylated hemocyanins. After 14 days, mice were subcutaneously challenged with melanoma cells, and underwent intralesional immunotherapy. Results showed that tumor volume in mice treated with N-deglycosylated KLH was higher than mice treated with native KLH, while no differences were observed in N-deglycosylated CCH and FLH groups. The specific antibody titer in the sera of mice was measured by ELISA, showing a decreased humoral response in groups immunized with N-deglycosylated hemocyanins. Altogether, our results suggest that N-glycosylations play a structural role at quaternary structure and oligomerization level, participate in the recognition of hemocyanins, and would contribute to their immunogenicity and antitumor potential.

FONDECYT Grant 1151337 and FONDEQUIP EQM140151

JU013

A cellular model for the evaluation of IFN γ -IFN γ R1/R2 pathway in type I macrophages from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Nicolás Salinas-Parra¹, Jorge Rojas¹, Felipe Ramírez¹, Jimena Cortés¹, Fanny Guzmán¹, Paulina Schmitt¹, Luis Mercado¹. ⁽¹⁾ Grupo de marcadores inmunológicos, Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL

In vertebrates, IFN γ induces the expression of iNOS via JAK/STAT in type M1 macrophages. In rainbow trout, the existence of IFN γ receptors (IFN γ R1 / R2) has been demonstrated, as well as the expression of the STAT-1 gene as a transcriptional regulator of the pathway. However, a cellular model using molecular markers for the response to IFN γ in macrophages has not been established. The aim of this work was to characterize at transcriptional and protein level the iNOS+ phenotype in trout macrophages, identifying the molecular components of the signalling pathway and regulation derived from the IFN γ receptor R1/R2 activated complex. For this, primary cultures of head kidney leukocytes (HKL) from rainbow trout and cell line RTS11 were stimulated with recombinant IFN γ during 2-4-6-12-24 and 48 hours. The results showed that HKL and RTS11 express iNOS, and STAT-1 was up-regulated mainly in HKL, while in RTS11 translocation to the nucleus is evidenced. The differentiated expression of SOCS-1 and its inhibitor TRIM 8 were mainly detected at 12 hours in HKL. The results obtained suggest that the primary macrophage culture model is better for the characterization of M1, and that the markers SOCS-1, TRIM8 and iNOS, inform the activation of this pathway. The antibodies developed against TRIM8 and iNOS are the best tools at the protein level. Overall, these molecular markers could be used for the evaluation of the immune response capacity in macrophages from rainbow trout.

Programa de Gestión Sanitaria en Acuicultura, Fondo FIE (2015-V014)/ Proyecto (Cod No 201708070149)

JU014

iNKT cell stimulation by glycolipid ligands modified from α -galactosylceramide results in differential cytokine secretion profiles

Carolina Schäfer^{1,2}, Valentina Carrillo^{1,2}, Daniela Schneider^{1,2}, Romina Falcón^{1,2}, Leandro J Carreño^{1,2}. ⁽¹⁾ Programa de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL

Invariant natural killer T (iNKT) cells are a specialized group of unconventional T cells with the ability to modulate the immune response against pathogens, tumors, allergens and self-antigens. iNKT cells are activated by lipid and glycolipids presented by the surface protein CD1d, expressed by most antigen-presenting cells, resulting in the rapid secretion of a wide array of cytokines. The ability to induce an early and potent response without prior antigen immunization makes iNKT cells an attractive target for immunotherapeutic applications. Marine sponge sphingolipid α -galactosylceramide has been described as a potent agonist for iNKT cell activation, and it is characterized for inducing both Th1 and Th2-like cytokine secretion profiles. The duality of this 'Th0' response poses a challenge for prospective immunotherapeutic applications that aim to eradicate cancer or fight autoimmune diseases. Thus, there is an increasing interest for the discovery and/or development of Th1- and Th2-polarizing ligands for immunotherapeutic applications. In the present work, we generated and isolated clones from iNKT cell hybridomas derived from a partially humanized mouse, consisting of a knock-in of the human CD1d gene. This allowed us to select, by flow cytometry, iNKT cell populations reactive to α -galactosylceramide presented in the context of the human CD1d molecule. Additionally, we evaluated activation of iNKT cells by C6'' modified α -galactosylceramide derivatives and obtained a diverse cytokine response depending on the structural modifications of ligands and on the individuality of the iNKT cell clones. In several cases, this response was observed to be more potent than that induced by stimulation with established iNKT cell ligand α -galactosylceramide. Our results highlight differences between mouse and human lipid antigen presentation, as well as differences in the magnitude of the cytokine response amongst clonal populations. Our ongoing work aims to elucidate the mechanism for this observation by performing Next Generation Sequencing of the TCR chains of the responding clones.

Funded by FONDECYT 1160336 and Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy P09/016-F.



JU015

Characterization of type II NKT cells in a human CD1d Knock-in mouse model

Daniela Schneider^{1,2}, Javiera Reyes^{1,2}, Romina Falcon^{1,2}, Carolina Schafer^{1,2}, Leandro J Carreño^{1,2}. ⁽¹⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Programa de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL

NKT cells belong to distinct subset of innate-like T cells that recognize lipid antigens recognized by their T lymphocyte receptor (TCR) presented by major histocompatibility complex class I-like molecules, non-polymorphic, such as CD1d. CD1d-restricted NKT cells are classified into two subsets: type I and type II. Type I NKT cells express T cell receptors (TCRs) and react with lipid antigens, including the marine sponge-derived glycolipid α -galactosylceramide. Type II NKT cells recognize a wide variety of lipid antigens by their diverse TCRs. Because the NKT cells when stimulated by antigens can activate or suppress other immune cells through the generation of cytokines, these cells are considered immunological modulators. In this work, we focus particularly on type II NKT cells. Previous studies have demonstrated that NKT type I cells can secrete a diversity of pro and anti-inflammatory cytokines after their activation. Recent data show that NKT type II cells can secrete pro-inflammatory cytokines (IFN- γ , TNF- α , IL-17A, IL-6) and anti-inflammatory (IL-4, IL-13 and IL-10). Their study has been more limited because a single lipid ligand that can activate all these type II NKT cells has not been identified. Due to the potential of type II NKT cells to secrete these cytokines and the probability that they can induce the transactivation of T lymphocytes, similar to NKT type I cells, in this work we characterized the profile of pro- and anti-inflammatory cytokines secreted by The NKT type II cells by using different lipids presented by the human or mouse CD1d molecule. The C57BL/6 mouse shows much larger frequencies of total NKT and different proportions in the ratio NKT type I/NKT type II compared to humans, which has limited the study of these cells. To overcome this difficulty, in this work we used the CD1d knock-in mouse model, which has frequencies of NKT cells, 10 times lower than a C57BL/6 mouse and its NKT type II cells are more prevalent than the cells NKT type I.

Funded by FONDECYT 1160336 and Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy P09/016-F.

JU016

Longitudinal characterization of leukocytes obtained from pregnant patients diagnosed as low or high risk of preeclampsia

Fabian Tempio⁴, Cristina Rivera¹, Gustavo Caro¹, Flavio Salazar^{3,4}, Mauro Parra², Mercedes López^{3,4}. ⁽¹⁾ Instituto Ciencias Biomédicas, Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Departamento de Obstetricia y Ginecología, Hospital Clínico Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Santiago, CL

⁽⁴⁾ Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL

Introduction: Pregnancy is characterized by various physiological changes, promoting a series of anatomical, metabolic, endocrine, and immunological changes that occur during almost 40 weeks of gestation. In a normal pregnancy, there is a balance of Th2 over Th1/Th17 profiles that promotes an immune-tolerant environment to prevent fetal rejection. Early alterations during the first and second trimester of pregnancy, an imbalance Th1/Th17 v/s Th2 lymphocytes and NK cells may be associated with preeclampsia or other pathological conditions associated to pregnancy. Preeclampsia is characterized by hypertension, proteinuria and an exacerbated activation of the immune system in response to altered remodeling of spiral arteries due to trophoblast invasion, which can be assessed non-invasively by uterine artery Doppler throughout pregnancy. The aim of this study was to characterize longitudinally the leukocyte pattern between healthy pregnant and patients diagnosed as low or high risk of preeclampsia. We compared the results according to non-invasive uterine artery assessment. **Methods:** We measured the expression of inflammatory cytokines IFN-g, IL-17A and IL-4 in T cells and in innate cells classified as: CD3- CD16- CD56 Bright (Regulatory NK cells), CD3- CD16+ CD56+ (NK Cells). Additionally, in these cells we evaluated NKp46 (Citotoxicity receptor) from peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from fresh or frozen samples obtained from pregnant patients at 12, 22 and 32 weeks of gestation using flow cytometry. These pregnancies were sub-classified according to uterine artery Doppler assessment as “high-risk” or “low-risk” of preeclampsia. **Results:** A sub-group of pregnancies showed an increased level of IFN-g and IL-4 producing T cells and increased level of Regulatory NK cells, and NK cell with higher level of NKp46 at 12 weeks of gestation which appears to be associated with uterine artery resistance at the time of sampling. **Discussion:** These findings might contribute to a better understanding of the role of T cells in normal and pathological pregnancies.

Supported by grants FONDECYT 1130668 and 1130324; IMII P09/016-F.

JU017

Interferon-gamma-induced tolerogenic profile in a microglia subset in experimental autoimmune encephalomyelitis

Juan E Tichauer¹, Eric Acuña¹, Gabriel Arellano¹, Jan Haerter², Nirmal Kannaiyan³, Moritz Rossner³, Peter Gebicke-Haerter³, Rodrigo Naves³. ⁽¹⁾ Programa de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Center for Models of Life, Niels Bohr Institute, Faculty of Science, University of Copenhagen, Copenhagen, DK ⁽³⁾ Molecular Neurobiology, Department of Psychiatry & Psychotherapy, Medicine, Ludwig Maximilian University of Munich, Munich, DE

Microglia (MG), in concert with infiltrating blood macrophages (Mo) and dendritic cells play a major role in the pathogenesis of Multiple Sclerosis (MS). Their involvement in this chronic inflammatory disorder has been studied in the well-established murine model of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). The inflammatory environment of EAE induces a M1 (inflammatory) phenotype in MG, characterized by increase of MHC-II molecules and co-stimulatory molecules that locally induce the reactivation of effector T lymphocytes. We have found that systemic administration of interferon (IFN)- γ , a Th1 lymphocyte cytokine, significantly suppressed EAE development. Here, we were focused in determining the effect of this cytokine on Mo/MG cell population. Flow cytometry analysis showed that spinal cords (SC) isolated from IFN- γ -treated EAE mice exhibited lower frequencies of CD11b+ and activated Mo/MG cell populations, compared to control group. Cell cultures of Mo/MG isolated from IFN- γ -treated EAE mice and *ex-vivo* stimulated with low doses of IFN- γ and neuroantigen (MOG peptide) developed a tolerogenic M2 (anti-inflammatory) phenotype capable to induce regulatory CD4+ T cells (Treg). Using a flow cytometry gating strategy for the analysis of MG, we determined that IFN- γ induced an increase in the frequency of a MG subset characterized by low programmed death-ligand 1 (PD-L1) expression and high CX3CR1 expression. Gene expression analysis of this MG subset isolated from either IFN- γ - or PBS-treated EAE mice by RNAseq, revealed that IFN- γ induced a shift (25 genes up- (e.g. *Dvl1*, *Gabbr1*, *Dusp5*) and 22 genes (e.g. *Cd38*, *Cfb*, *Saa3*) down-regulated) into an anti-inflammatory expression profile, compared with control group. Molecular network analysis, showed that *Tnf- α* , *Spna2*, and *Tgf- β* were among the most significant connector genes. These findings might be important identifying cell and molecular targets for the development of new therapies for MS.

Financial support: FONDECYT 1140049 (RN) and FONDECYT postdoc 3150133 (JT).

Acknowledgments; Rodrigo Pacheco and Maria A. Espinoza, Neuroimmunology Laboratory, Fundación Ciencia & Vida, Santiago, Chile.



JU018

Study of hypoxia-induced microRNA transfer from melanoma to immune cells

Andres Tittarelli¹, Marcelo Lizana¹, Francisca Hofmann¹, Flavio Salazar¹. ⁽¹⁾ Programa de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Gap junctions (GJ) are connexin (Cx)-formed channels that via cell-to-cell passive diffusion of small molecules regulate a plethora of physiological functions, including immunity, where the Cx43 isoform is the most relevant. While recent data have shown that tumor cells can form Cx43-GJ-mediated communications with immune cells, and that hypoxia increases Cx43 expression in tumor cells, the transfer of hypoxia-regulated microRNAs (HRMs) from tumor to immune cells via Cx43-GJs and its consequences in the modulation of the antitumor immune responses remain completely unexplored. In this work we start to explore the study of the contribution of Cx43-GJs in the shuttling of tumor-derived HRMs from melanoma to immune cells. We evaluated the expression levels of Cx43 and functional GJ in human and murine melanoma cell lines cultured in normoxic or hypoxic conditions. Cx43 and GJ were induced under hypoxic conditions in melanoma cells. We identified 18 microRNAs with a 2.5 fold induction by hypoxia in melanoma cells. Preliminary results also indicated that HRM might be transferred from hypoxic melanoma cells to dendritic cells (DCs) via GJs. The study of the role of the transferred HRM from melanoma to DCs is still in progress, and it aims to identify and characterize a new immunoevasive mechanism that could be of major relevance in typical hypoxic tumors.

FONDECYT Iniciación 11160380

JU019

Dynamics of nuclear morphology during B cell activation

Romina Ulloa¹, Juan José Sáez², Jorge Ibañez², María Isabel Yuseff², Jheimmy Díaz Muñoz². ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Médicas, Facultad de Medicina, Universidad Pedro de Valdivia, Santiago, CL ⁽²⁾ Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL

B lymphocytes are key players of the adaptative immune response. To become fully activated and produce high affinity antibodies, B cell must capture, and process antigens exposed on the surface of presenting cells, which are presented as peptides to specific CD4+ T cells. B cell activation depends on intracellular trafficking regulated by cytoskeleton molecules. For this, B cells must tackle a major problem, their restrictive cytoplasmic space caused by the large size of their nucleus, which occupies almost the entire cell. How do B cells deal with this obstacle to coordinate intracellular trafficking? To answer this question, we aim to unravel how B cells regulate their nuclear morphology during B cell stimulation. Nuclear architecture is controlled by KASH proteins which connect the nucleus to the cytoskeleton and regulate nuclear morphology in other cell types. We propose to study the role whether KASH proteins control nuclear morphology during B cell activation. Using immunofluorescence and live cell imaging, we observed that the nucleus has a lobular morphology in resting B cells and is associated more to microtubules where the microtubule organizing center (MTOC) is located at the intralobular nuclear space. Upon activation B cells display changes in their nuclear morphology increasing the intralobular space which is redirected to the antigen contact site. Within this space, B cells accumulate antigens and lysosomes, suggesting that antigen processing is taking place. Silencing components of the KASH complex in B cells impairs the generation of the interlobular space and leads to defects in antigen presentation. We conclude that nuclear morphology and its connection with cytoskeleton is important for B cells to process and present antigens. Thus, changes in nuclear morphology emerge as a critical regulatory step for B cell activation.

FONDECYT de Iniciación 11171024 (Dra. Jheimmy Díaz Muñoz)

FONDECYT Regular 1180900 (Dra María Isabel Yuseff)

JU020

Role of peritoneal macrophages in systemic lupus erythematosus (SLE)

Nicolás Valdivieso¹, Felipe Flores-Santibáñez¹, Victor Martínez², Mario Rosemblatt^{1,3,4}, Daniela Sauma¹, María Rosa Bono¹, Gabriela Tejon¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ FAVET-INBIOGEN, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ Life Science School, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello ⁽⁴⁾ Inmunología Celular y Molecular, Fundación Ciencia & Vida, Santiago, CL

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease characterized by the hyperactivity of immune cells that leads to production of autoantibodies which cause damage of multiple organs and tissues. This hyperactivity is mediated by the presentation of autoantigens by dendritic cells and macrophages that activate autoreactive T and B lymphocytes. Multiple inflammatory and autoimmune diseases, including SLE, have been associated with alterations in macrophage function. However, the downstream effects of these abnormalities, particularly, the interaction of macrophages with others immune cells during the disease remains unclear. The peritoneal cavity houses mostly macrophages and B1 B (CD5+) cells, which have been postulated to play a role in autoimmune pathogenesis. The aim of this work is to evaluate the interaction between peritoneal macrophages from lupic or control mice with B and T lymphocytes to elucidate the role of macrophages in proliferation, differentiation and homing of these cells. By using the [NZWxNZB] F1 murine model of SLE, we found an increased frequency of macrophages and a decrease of B lymphocytes in the peritoneum of lupic mice compared to control [NZWxBALB/c] F1 mice. Moreover, we found difference in the proportion of endogenous Th1 and Th17 cells. Most B lymphocytes in lupic mice are CD5+, whereas in controls we found a similar proportion of CD5+ and CD5- B cells. RNAseq analysis revealed that lupic peritoneal macrophages have a different transcriptional program, that shows 103 upregulated genes and 164 downregulated genes relative to control peritoneal macrophages. One of the downregulated genes in lupic macrophages corresponds to the chemokine CXCL13, involved in the recruitment of B lymphocytes. This result suggests that macrophages may have a relevant role in homeostasis of peritoneal cavity. A better understanding of the function and interaction of peritoneal macrophages with other immune cells like T cells and B cells, involved in the pathogenesis of SLE, would help to clarify the contribution of macrophages in the development of the disease.

Funding by FONDECYT-Posdoctoral 3160224, FONDECYT 1180385, FONDECYT 1140431, FONDECYT-Basal AFB170004.

JU021

Macrophages increase their polarization towards M1 and M2 in symptomatic apical periodontitis

Pablo Veloso¹, Alejandra Fernández^{1,2}, Jessica Astorga¹, Carla Alvarez¹, Rolando Vernal¹, Alejandro Escobar³, Anilei Hoare⁴, Marcela Hernández^{1,5}. ⁽¹⁾ Laboratory of Periodontal Biology, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Faculty of Dentistry, Universidad Andrés Bello ⁽³⁾ Laboratory of Cellular and Molecular Biology, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽⁴⁾ Department of Pathology and Oral Medicine, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽⁵⁾ Faculty of Health Sciences, Universidad Autónoma de Chile

Background: Chronic Apical Periodontitis (CAP) is characterized by the formation of a localized apical lesion (LA) with signs of chronic inflammation and mononuclear infiltration. The main clinical presentations of CAP are asymptomatic (AAP) and symptomatic (SAP), with the later proposed as a progressive stage. Macrophages are heterogeneous cell populations that polarize towards functional phenotypes M1/pro-inflammatory or M2/anti-inflammatory. **Objective:** To determine and compare the polarization profiles of macrophages in AAP, SAP and healthy controls. **Methods:** AAP (n=6), SAP (n=3) and healthy controls (n=7), were obtained from patients with indication of tooth extraction. Inclusion criteria were AL \geq 3 mm in a periapical radiograph, negative response to the sensitivity test and negative (APP) or positive (SAP) percussion test. Individuals with systemic disease or previous use of antibiotics or anti-inflammatory steroidal drugs during a period of 3 months were excluded. Samples were enzymatically digested and then labeled with anti-CD14, anti-CD64, anti-CD80, anti-CD163 and anti-CD206 antibodies, samples were fixed with 2% paraformaldehyde and characterized by flow cytometry. Analysis was performed with Kruskal-Wallis test. **Results:** Higher CD14⁺ cells percentage were observed over the total number of cells in AAP and SAP ($p < 0.005$) over controls. Also, higher percentage of CD64⁺ CD80⁺ cells were observed over the total number of CD14⁺ cells in SAP over healthy controls ($p < 0.05$). A higher percentage of CD163⁺ CD206⁺ cells were also observed over the total number of CD14⁺ cells in SAP over healthy control ($p < 0.05$). In AAP, increases of CD64⁺ CD80⁺ and CD163⁺ CD206⁺ cells percentage over the total number of CD14⁺ cells were detected over healthy controls, however, these increases did not reach statistical significance. **Conclusion:** The results show an increase in the population of CD14⁺ cells in AAP and SAP, and an increase in both M1 and M2 macrophages population in SAP over HPL. The results suggest an increased infiltration of monocytes/macrophages cells in the lesions and a greater polarization towards both M1 and M2 in SAP over the control condition. This might suggest an over activation of macrophages in SAP lesions over AAP and healthy condition.

FONDECYT 1160741



JU022

Enhanced production of an anti-MHC class I polypeptide-related sequence A single chain antibody by optimization of culture conditions

Samantha Tello¹, Matías Gutiérrez-González¹, Alfonso Romero¹, María Carmen Molina¹, Carmen Lorenzo¹, Camila Farías¹, Karen Toledo¹, Bastián Jeréz¹, Alejandro Rodríguez¹. ⁽¹⁾ Programa Disciplinario de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL

MHC class I polypeptide-related sequence A (MICA) is a stress-self induced antigen recognized by natural killer (NK) cells, leading to cell lysis. Expression of MICA in tumor cells hinders cell growth, but it can also act as a tumor escape mechanism by soluble expression, which induces downregulation of its receptor NKG2D. Thus, blockade of soluble MICA is an attractive therapeutic alternative for several malignancies. We developed a single-chain variable fragment (scFv) antibody which recognizes the NKG2D binding region of human MICA. However, obtaining high levels of expression of this protein for functional studies remains a challenge. Here, we explored important variables for protein expression in *E. Coli* (culture temperature, IPTG concentration and induction time) with a design of experiments approach to obtain the optimal expression conditions. Using a Box-Behnken design, with 15 experimental runs, we were able to test the following levels of each variable: temperature (°C): 25-31-37 °C; IPTG concentration (mM): 0.1-0.65-1; induction time (h): 2-4-6. A model was generated using the production data, yielding high fitting ($r^2 = 0.88$) and non-significant lack-of-fit ($p=0.88$). Moreover, temperature and IPTG concentration were the most important variables impacting on scFv production ($p<0.05$), and stationary point analysis revealed that the optimal variables are 28 °C, 0.63 mM IPTG and 5.4 h of induction. Combining this approach with *in vitro* refolding, we were able to purify 2 mg of active protein for functional studies.

JU023

Optimization of IL-23p19 expression in *E. coli* using a design of experiments

Camila Farías¹, Matías Gutiérrez-González¹, Alfonso Romero¹, Carmen Lorenzo¹, María Carmen Molina¹, Samantha Tello¹, Karen Toledo¹, Alejandro Rodríguez¹, Bastián Jeréz¹. ⁽¹⁾ Programa Disciplinario de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Recombinant protein expression for structural studies as well for therapeutic uses demands systems with high yields. Of the prokaryotic expression systems, *Escherichia coli* remain the workhorse for several applications, given its fast growth, high densities and easy of manipulation. However, not all proteins are efficiently produced in this system using standard techniques, requiring optimization of expression conditions. Interleukin-23 is a heterodimeric protein formed by p40 and p19 subunit, and is implicated in autoimmune disorders, such as rheumatoid arthritis and psoriasis. Therefore, obtaining relevant amounts of this protein is important for the development of a blocking agent, such antibodies. The most important variables in protein expression in this system are temperature, IPTG concentration and time of induction. Using a design of experiments approach, we developed a Box-Behnken design of 15 experiments, using the following levels for each variable: temperature (°C): 25-31-37 °C; IPTG concentration (mM): 0.2-0.6-1; induction time (h): 2-3-4. The obtained model show a high fitting ($r^2 = 0.977$), and non-significant lack-of-fit ($p=0.25$) and reveals that the most important variables in p19 expression are temperature ($p<0.001$) and IPTG concentration ($p<0.001$). Analysis of stationary point of the regression curve revealed that the optimal variables for p19 expression are 37 °C, 0.43 mM IPTG and 3.3 h of induction. With these results, we were able to increase the yields of p19 expression from 2.8 mg/mL to 5.1 mg/mL of active protein.

FONDEF Idea ID16110027

JU024

CpGs oligodeoxynucleotides with double stem-loops: first evidence of activation of immune responses in rainbow trout

Lina Jimena Cortés¹, **Felipe Ramírez-Cepeda**¹, Luis Mercado¹. ⁽¹⁾ Grupo de Marcadores Inmunológicos en Organismos Acuáticos, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL

Synthetic oligodeoxynucleotide containing unmethylated CpG dinucleotide (CpG ODN) activate the vertebrate immune responses and its effect on salmonids has also been described. Based on the structural and functional features, they are classified into the three types: A-type, B-type and C-type. Recently, a series of CpG ODNs were designed and display double stem-loops in their structure: D-SL ODN named D-SL01 y D-SL03, belonging to B class CpG ODN and C CpG ODN respectively. D-SL01 and D-SL03 molecules activate human B cells, NK cells and mononuclear cells. Additionally, both molecules stimulate the proliferation of PMBCs/splenocytes of several species such as mouse, rat, rabbit, dog and swine, among others. The aim of the present work, the effect of D-SL01 and D-SL03 on *Oncorhynchus mykiss* cells was evaluated. We found that after the stimulation with IFN- γ and sequentially with 0.8 μ M of D-SL01, the RTS-11 cell line showed high expression levels of TLR-9. In a second step, primary cultures of head kidney (HKL) from *O. mykiss* were stimulated during 48 hours with D-SL01, D-SL03 and a linear ODN CpG (2216), which previously demonstrated activity in salmonids. In addition, the gene expression data showed that the stimulation with D-SL01 increases the expression of TLR-9 compared with other CpG ODNs. However, by confocal microscopy assays we demonstrated that the expression of TLR-9 was induced by the D-SL01 and D-SL03 also. Same effect was observed for IFN- γ expression. The gene expression levels were measured for CD83, CD86, IL-1B and TNF- α . Finally, proliferation assays were performed, finding that after 24 hours of stimulation with the D-SL01 the HKLs present high levels of cell proliferation. These results suggest that both D-SL01 and D-SL03 can activate the expression of TLR-9 and trigger the activation of the immune response in salmonids in a similar way to that described for other species. It is necessary more studies with these inducers in order to determine their role in the immune signaling pathways response in salmonids.

This work was financed for the Programa de Gestión Sanitaria en Acuicultura, Fondo FIE (2015-V014)/ Proyecto (Cod No 201708070149).



JU025

Recombinant Mycma_03135 protein from *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* has DNA binding and protection activities

Alcântara Nayra A¹, Oliveira Fábio M¹, Ana Paula Junqueira-Kipnis², **André Kipnis**². ⁽¹⁾ DEBIOTEC, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, BR ⁽²⁾ DEBIOTEC, Professor, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, BR

Mycobacterium abscessus subsp. *massiliense* (Mycma) is a rapidly growing *Mycobacterium* that belongs to the *Mycobacterium abscessus* complex responsible for several nosocomial infection outbreaks related to postsurgical and post-procedural infections. This *Mycobacterium* is capable of causing chronic pulmonary and soft tissue infections. Mycma is resistant to many antimicrobial drugs used to treat infections, especially tuberculosis. Iron is an essential nutrient for the microorganism development, nonetheless, it can be toxic when in excess and thus bacteria must have a homeostasis mechanism for this ion. One of the proteins involved in this system are the ferritins, essential proteins that can store iron and consequently control intracellular iron levels. DNA-binding proteins (Dps) are mini-ferritins, which have the capacity to bind to DNA protecting from the hydroxyl radicals caused by iron excess. The protein product of a putative Dps coding gene from Mycma was investigated in its ability to bind and/or protect DNA. The gene *Mycma_03135* was identified in the Mycma genome with 79% identity to *MSMEG_3242* from *M. smegmatis* mc2 155 that codes for a Dps. The gene was cloned and expressed in *E. coli* BL21. The purified recombinant protein was shown to form oligomeric structures with high molecular weight and had the ability to bind DNA and protect it from damage *in vitro*. In conclusion, recombinant Mycma_03135 protein from *M. abscessus* subsp. *massiliense* was shown to have activities similar to Dps.

CNPq, CAPES

JU026

Implementación de técnicas moleculares para el diagnóstico rápido de *Mycobacterium tuberculosis* (GeneXpert-MTB/RIF) en el Programa Nacional de Control y Eliminación de la Tuberculosis de Chile (PROCET)

Ikela Muñoz¹, Tamara Leiva¹, Marcos Gallardo¹, Alvaro Díaz¹, Angélica Scappaticcio¹, Javier Figueroa¹, Karla Kohan¹, Roberto Gutiérrez¹, Marcela Moreno¹, Fabiola Arias¹. ⁽¹⁾Biomédico, Micobacterias, Instituto de Salud Pública. Santiago, CL

Las últimas recomendaciones otorgadas por la Organización Mundial de la Salud se centran en la utilización de un sistema automatizado cerrado de extracción y amplificación en tiempo real (GeneXpert-MTB/RIF) como una prueba de diagnóstico inicial, priorizando pacientes sintomáticos respiratorios con riesgo de resistencia a drogas antituberculosas y coinfectados con VIH. En ese contexto, el PROCET realizó la implementación de esta nueva metodología en el país ejecutando una capacitación teórica práctica a los laboratoristas del Nivel Central e Intermedio y realizando una verificación de los equipos adquiridos. Para este último fin, se diseñó un protocolo de evaluación para verificar el GeneXpert-MTB/RIF, tanto para la detección de *Mycobacterium tuberculosis*, como para detectar resistencia a rifampicina (RR). Participaron 26 laboratorios pertenecientes a la red de Salud Nacional, con un total de 51 participantes evaluados. Para cada laboratorio se diseñó un panel constituido por 19 aislamientos de cepas de referencia, de las cuales 6 eran *M. tuberculosis* sensibles, 13 RR y uno correspondía a una micobacteria no tuberculosa. Se solicitó que las pruebas fueran realizadas siguiendo el procedimiento operativo estándar del equipo GeneXpert-MTB/RIF. Los resultados de la verificación del equipo fue satisfactoria en los 26 laboratorios evaluados, sin embargo, en la revisión de resultados de los operadores se encontraron problemas al realizar la metodología y errores al interpretar la información entregada por el equipo. En primera instancia, 38 operadores resultaron con evaluación satisfactoria, 9 quedaron con supervisión y 4 quedaron inhabilitados para validar resultados. Por este motivo, se realizó un segundo envío de paneles a los laboratorios con problemas en la detección de *M. tuberculosis*, para descartar errores en la manipulación y a otros laboratorios se les envió resultados obtenidos por el equipo GeneXpert-MTB/RIF para re-evaluar la interpretación. En esta oportunidad, 10 de los 13 participantes re-evaluados resultaron satisfactorios. La implementación satisfactoria del GeneXpert-MTB/RIF en el país representa un avance en el diagnóstico de *M. tuberculosis* RR, posibilitando un temprano inicio de tratamiento de los pacientes. Los próximos desafíos del PROCET serán trabajar en un control externo anual para mantener una continua evaluación de los laboratorios.

Instituto de Salud Pública de Chile

Organismo Andino de Salud – Convenio Hipólito Unanue

JU027

Avaliação de um sistema de PCR em tempo real com insumos nacionais para o diagnóstico da tuberculose em região de alta endemicidade do Brasil

Marcela Salazar¹, Ilyana Coutinho¹, Danyele Mello¹, Alexandre Costa², Fabrício Marchini², Nasir Ali², Michelle Rabello¹, Lilian Montenegro¹, Haiana Schindler¹. ⁽¹⁾ Departamento de Imunologia, Fiocruz, Instituto Aggeu Magalhães, Recife, BR ⁽²⁾ Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto de Biologia Molecular do Paraná, Curitiba, BR

A tuberculose (TB) é uma das principais doenças infecciosas do mundo, com altas taxas de morbidade e mortalidade. O Brasil encontra-se entre os 20 países do mundo com maior número de casos absolutos de TB, e a doença permanece como um grande desafio à saúde pública. O diagnóstico precoce é fundamental para início do tratamento correto, o que evita a progressão da doença e auxilia no seu controle. Assim, técnicas moleculares vêm sendo desenvolvidas com o propósito de oferecer um diagnóstico mais rápido e preciso. O objetivo deste trabalho foi avaliar um protótipo de PCR em tempo real utilizando insumos nacionais para detectar o complexo *Mycobacterium tuberculosis (Mtb)*. Para avaliar o limite de detecção de DNA, foram feitas curvas de diluição variando de 10ng/μl a 100ag/μl. A curva foi feita em amostras biológicas de escarro, sangue, urina e líquido pleural, a partir de amostras sabidamente negativas, que foram contaminadas com DNA da cepa de referência H37Rv do *Mtb*, de concentração conhecida. Os reagentes (tampão da reação, sondas, *primers*, DNTPs, MgCl₂) foram desenvolvidos em parceria com o Instituto de Biologia Molecular do Paraná/FIOCRUZ/Brasil. As amostras foram submetidas à PCR em tempo real com reagentes nacionais e seus resultados foram comparados aos da PCR em tempo real comercial. Os resultados obtidos mostraram um limite de detecção de 1fg/μl em escarro, 1fg/μl em sangue, 10fg/μl em urina e 1fg/μl em líquido pleural, semelhante aos valores encontrados na PCR em tempo real comercial. Conclui-se que a PCR em tempo real com reagentes nacionais mostrou um ótimo limite de detecção, superior ao encontrado nos métodos convencionais de rotina (baciloscopia e cultura) e semelhante à PCR em tempo real comercial, já otimizada no Laboratório de Imunoepidemiologia do Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ-PE), podendo ser utilizada para o diagnóstico auxiliar da TB, inclusive nos casos paucibacilares. A partir dos resultados obtidos, novos testes serão feitos em amostras clínicas de pacientes com TB, para que possam ser validados e utilizados, posteriormente, em laboratórios da rede pública de saúde como uma ferramenta diagnóstica de menor custo.

Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco - FACEPE

Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

Determinación de niveles de resistencia fenotípica en cepas con mutaciones asociadas a resistencia a INH

Angélica Scappaticcio¹, Fabiola Arias¹, Tamara Leiva¹, Alvaro Díaz¹, Javier Figueroa¹, Marcela Moreno¹, Karla Kohan¹. ⁽¹⁾ Sección Micobacterias, Sub-departamento de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Pública de Chile, Santiago CL

La resistencia a fármacos es un desafío importante para el tratamiento contra la tuberculosis (TB), éste es estandarizado y corresponde al uso asociado de cuatro medicamentos, entre ellos la isoniazida (INH). La resistencia a INH comúnmente ocurre debido a mutaciones en el gen *katG* o en las regiones reguladoras *inhA*. Las mutaciones en *inhA* se asocian con resistencias a INH de bajo nivel, mientras que las mutaciones en *katG* a resistencia de alto nivel. En estudios recientes se ha demostrado que en los aislados de MTB con mutación *katG* se genera un amplio rango de resistencias por concentración inhibitoria mínima (CIM). En Chile, la resistencia a la INH se estudia mediante el ensayo de sonda lineal (LPA) y la prueba fenotípica a una concentración de 0,1 µg/mL, sin embargo, se desconoce el perfil de resistencia a diferentes concentraciones de INH y la utilidad clínica de esta información. Métodos: se analizaron 83 cepas de MTB de pacientes con resistencia a INH detectadas por LPA. La prueba de susceptibilidad a los medicamentos (DST) se realizó en MGIT 960 y el software Epicenter. Las cepas se expusieron a 1, 3 y 10 µg/mL de INH y se evaluó la resistencia. Resultados: 44 cepas con mutaciones en gen *katG*; 42/44 fueron resistentes 1 µg/mL; 16/44 resistentes a 3 µg/mL y solo 3/44 eran resistentes a 10 µg/mL. Por otro lado, 39 cepas tenían mutaciones en gen *inhA*; de estos, 5/39 resistentes a 1 µg/mL; 1/39 era resistente a 3 µg/mL y ninguna cepa era resistente a 10 µg/mL. Conclusiones: Nuestros resultados han demostrado que el solo uso de LPA para detectar la resistencia a INH no es suficiente y menos aún descartar su uso en los tratamientos de TB, por lo que debe complementarse con DST a diferentes concentraciones de INH. Esto es importante para ajustar, en dosis más altas, el uso de este medicamento en los tratamientos de los pacientes, permitiendo mantener la INH como una opción válida y eficaz.

Agradecimiento a todo el equipo de la Sección Micobacterias del Instituto de Salud Pública de Chile.

JU029

Fluorophages for TB drug screening using a whole-cell approach

Estefanía Urdániz¹, Liliana Rondón¹, Florencia Payaslian¹, Mariana Piuri¹. ⁽¹⁾ Depto. de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, AR

Tuberculosis (TB) is a major cause of human mortality. The emergence of resistant *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*) strains has become a serious public health problem worldwide complicating treatment and control of the disease. Nowadays, there is a need for new and efficient anti-TB drugs. Our aim is to develop a novel, rapid and sensitive assay to be used for *in vitro* activity testing of compounds. Fluorophages, mycobacteriophages carrying fluorescent genes, have become a useful tool to reveal the metabolic state of mycobacterial cells, and therefore their response to antibiotics. We optimized the conditions for automated fluorimetric detection with our fluorophage *mCherry_{bomb}* Φ in a 96-well format as a good alternative for *in vitro* extracellular activity testing of compounds. A decrease in the fluorescent signal was observed over time for increasing concentrations of compounds with different targets in *M.tb* allowing MIC calculation. To validate the methodology for drug screening, we miniaturized the assay to 384-well plates and evaluated GSK's TB set of compounds (n=232) comparing results between *M.tb* H37Rv and *M. bovis* BCG. We set up the best conditions for infection taking into account several parameters such as volume and UFC of inoculum, MOI, dispensation (manual vs. automated) and incubation time to achieve optimal fluorescence readout. Standard deviation and signal to background ratio (S:B) were not as good as expected, associated to a high background in the phage stock. Analysis were performed using software Spotfire (TIBCO) including a correlation with the results previously obtained with this set of compounds using REMA methodology and we could create an order for activity of compounds. As expected, after preincubation for 24 h of bacteria with drugs, compounds that showed best activity were those identified as inhibitors of essential membrane proteins, for example DprE, MmpL3, QcrB, and KasA. Using this methodology we were able to identify several interesting compounds with high potency and unknown mechanism of action that could be further explored. We are developing a new generation of luciferase reporter phages that would increase the difference between controls and increase the S:B ratio in order to get a rapid and robust assay for drug screening.

Our research has been funded by several international and local agencies including: NIH, CONICET, ANPCyT, and Tres Cantos Open Lab Foundation.



JU030

Tuberculosis activa en el personal de salud: Distribución de la incidencia en Colombia 2010 – 2017

Felipe Vargas¹, Jesús Ochoa-Acosta¹. ⁽¹⁾ Group of Epidemiology, Public Health National Faculty, University of Antioquia, Medellín, CO

Introducción: La proporción de la notificación de tuberculosis entre los trabajadores de la salud es un buen indicador del impacto del control de la infección y de la enfermedad tuberculosa en los hospitales y otros establecimientos de salud. En Colombia, la tasa de TB activa por 100000 en trabajadores de la salud duplica la tasa de notificación en la población general (WHO 2017). En Medellín, la segunda ciudad de Colombia se han descrito prevalencias de infección tuberculosa latente en personal de salud del 62,1%. **Métodos:** Estudio descriptivo que determinó la distribución de la incidencia de TB activa en trabajadores de la salud y en otras ocupaciones entre 2010 y 2017. **Resultados:** El subgrupo principal de ocupaciones con mayor proporción de casos con TB activa fue el de los agricultores y trabajadores forestales, pecuarios y pesqueros con el 19,39% (3911/20.171), seguido por los trabajadores de servicios personales (donde se encuentran los auxiliares de odontología y enfermería) con 7,94% (1601/20.171). Los profesionales de la salud y medicina representaron el 2,13% (430/20.171). La proporción de TB activa en trabajadores de salud frente a todos los enfermos notificados en este periodo fue de 97,5/10.000 personas. Los trabajadores de salud con mayor proporción de enfermos fueron el personal auxiliar 35,6% (253/710), médicos 20,4% (145/710) y enfermeros profesionales 15,5% (110/710). Las grandes ciudades de Colombia como Cali (n=74), Medellín (n=71), Barranquilla (n=50) y Bogotá (n=46) aportaron la mayor proporción de la notificación de trabajadores enfermos. **Conclusión:** Se deben fortalecer los planes de control de la TB en los hospitales de Colombia con el fin de prevenir la TB en los trabajadores de la salud.

Se agradece especialmente todo el apoyo del grupo de Epidemiología de la Facultad Nacional de Salud Pública de la Universidad de Antioquia.

JU031

Construcción de un mutante de *Mycobacterium tuberculosis* defectivo en el transporte de dimicoserato de ftiocerol y producción de un mutante no marcado de *Mycobacterium smegmatis*

Vanessa Vásquez Godoy¹, Carlos Y Soto Ospina¹. ⁽¹⁾ Ciencias, Química, Universidad Nacional, Bogotá, CO

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecto-contagiosa causada por el bacilo ácido-alcohol resistente *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), que en la actualidad es el causante de cerca de 2 millones de muertes de seres humanos al año. La TB de alta prevalencia, impulsa el desarrollo de nuevas vacunas anti-TB, por lo que la identificación de dianas potenciales de atenuación de *Mtb* es de gran relevancia para el diseño de nuevas vacunas atenuadas; en este sentido, las proteínas de membrana de micobacterias o MmpL parecen tener un rol importante en la síntesis y el transporte de lípidos de la envoltura micobacteriana y han sido relacionados con la virulencia del bacilo. Teniendo en cuenta el rol esencial de las MmpL, se busca obtener un mutante atenuado de *Mtb* defectivo en el gen *mmpL7*, el cual codifica una proteína transmembranal requerida para la localización subcelular y el transporte hacia la pared celular del Dimicocerosato de ftiocerol (PDIM), un lípido asociado con la virulencia de *Mtb*. Para el desarrollo de este mutante, se usarán técnicas de recombinación con el objetivo obtener un sustrato de intercambio alélico (AES) del gen *mmpL7* en el vector pYUB854, el cual permitirá la sustitución del gen *mmpL7*, por un casete de resistencia a higromicina, que facilitará la selección de cepas mutantes por el crecimiento de colonias en medio suplementado con antibiótico. Mencionado lo anterior, la importancia de generar mutantes atenuados con potencial vacunal que tengan impacto para frenar el avance de la TB, delimita el uso de antibióticos presentes en las cepas mutadas y dado que el AES contiene un casete de resistencia a higromicina, se hace necesario retirarlo de las cepas mutantes. El vector pYUB854 utilizado para la construcción de los mutantes, permite generar AES con sitios resolvasa flanqueando el casete de higromicina para su posterior eliminación por medio de la actividad de una $\gamma\delta$ resolvasa y obtener un mutante sin resistencia antibiótica. Para este fin se mostrará un acercamiento a esta técnica usando un mutante de *Mycobacterium smegmatis* defectivo en un transportador de membrana, al cual se le delecionará el casete de higromicina, usando el sistema pGH542.

Whole Genome Sequencing enables early detection of resistant *Mycobacterium tuberculosis*

Jaciara Diniz⁶, João Perdigão¹, Daniela Ramos⁶, Priscila Halicki⁶, Susana Campino², Miguel Viveiros³, Ruth Mcnerney², Arnab Pain⁴, Taane Clark⁵, **Andrea Von Groll**⁶, Pedro Almeida Da Silva⁶, Isabel Portugal¹. ⁽¹⁾ Instituto de Investigação Do Medicamento, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, PT ⁽²⁾ Department of Pathogen Molecular Biology, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, GB ⁽³⁾ Instituto de Higiene E Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, PT ⁽⁴⁾ Biological and Environmental Science and Engineering Division, King Abdallah University of Science and Technology, Thuwal, SA ⁽⁵⁾ Department of Pathogen Molecular Biology, London School of Medicine and Tropic AI Medicine, London, GB ⁽⁶⁾ Núcleo de Pesquisa em Microbiologia Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, BR

Tuberculosis caused by antimicrobial resistant *Mycobacterium tuberculosis* remains a major challenge for global public health. These cases require prolonged treatment regimens, with the use of more expensive and toxic antimicrobials, and potentiate the increasing rates of treatment failure, relapse and disease mortality. However, the advent of Whole Genome Sequencing (WGS) brought a significant increase in the understanding of antimicrobial resistance mechanisms. In this study, we investigated the microevolution of resistance and possible variants related to antimicrobial resistance. Three isolates of *Mycobacterium tuberculosis* (A1, A2, A3) from a patient who acquired resistance to streptomycin (SMR) during treatment for TB were evaluated. The isolates were initially genotyped by 24-loci Mycobacterial Interspersed Repeating Unit - Variable Number of Tandem Repeat and the drug susceptibility testing was performed using the BATEC MGIT 960 system. WGS was performed on an Illumina HiSeq 2500 platform, with a reading coverage of 99%. The sequences obtained for each isolate were mapped against the reference genome M. tuberculosis H37Rv, and the allelic variants called through the SAMTools and GATK programs. The first isolate (A1) presented a pansusceptible phenotypic profile, whereas the second and third isolates (A2 and A3) presented resistance to SMR. Analysis of the WGS data obtained for all three isolates enabled the detection of a K43R minority variant in the *rpsL* gene, which is linked to SMR resistance and was already in the first clinical isolate (A1). WGS allowed an early detection of the K43R mutation associated with SMR resistance, which would otherwise remain undetectable using standard phenotypic methods. The ability to detect minority variants within a phenotypically still susceptible population is highly important for predicting the development of phenotypic resistance and highlight the importance of WGS in the early detection and surveillance of resistant strains.

JU033

Epidemiologia molecular da tuberculose no Estado de São Paulo

Moraes Eloise Brasil⁴, Finardi Amanda Juliane⁴, Menezes Luciana Da Silva R¹, Pedro Heloisa Da S. Paro², Cavalcante Ricardo Souza³, **Ida Maria Foschiani Dias-Baptista**⁴⁽¹⁾ Núcleo de Ciências Biomédicas, Instituto Adolfo Lutz - CLR II, Bauru, BR ⁽²⁾ Laboratório I de São José do Rio Preto., Instituto Adolfo Lutz,, São José do Rio Preto, BR ⁽³⁾ Doenças Tropicais, Faculdade de Medicina de Botucatu, Botucatu, BR ⁽⁴⁾ Microbiologia, Instituto Lauro de Souza Lima, Instituto Lauro de Souza Lima

Introdução: Estudos de epidemiologia molecular propiciam uma maior compreensão da disseminação do *M. tuberculosis* e dos fatores de risco para a transmissão da tuberculose nas populações. **Metodologia:** Estudo transversal de base populacional com 530 casos novos e recorrentes, atendidos por demanda espontânea em unidades básicas de saúde de Departamentos Regionais de Saúde (DRS) de São José do Rio Preto (XV-SJRP) e Bauru (VI-Bauru), estado de São Paulo no período de 2012 a 2015. Amostras de DNA dos pacientes foram submetidas a análise de 24 loci MIRU-VNTR e detecção da região de deleção *RD^{Rio}*. Os dados clínico-epidemiológicos foram obtidos por meio do Sistema Controle de Pacientes com Tuberculose (TBWeb) do Estado de São Paulo. **Resultados:** Dos 530 pacientes, 475 tinham a forma pulmonar da doença, 17 a forma extrapulmonar e em 2 deles concomitantemente as formas pulmonar e extrapulmonar. Na análise univariada das características sócio-demográficas e clínicas, uma frequência maior de negros foi verificada na população quando comparado com outras etnias. A variável forma pulmonar e abandono de tratamento foram mais frequentes na DRS VI-Bauru ($p < 0,05$). Significância estatística foi observada na DRS XV-SJRP para tabagismo e forma clínica extrapulmonar ($p < 0,05$). Na análise multivariada para deleção *RD^{Rio}* encontramos associação com as faixas etárias de 25 a 35 anos e de 36 a 60 anos e com etilismo. A estrutura populacional de isolados do *M. tuberculosis* mostrou a formação de 2 grupos principais, um com amostras predominantemente da DRS VI-Bauru compartilhando genótipos com forte similaridade com a DRS XV-SJRP e o outro com 95% genótipos exclusivos para a DRS XV-SJRP. **Discussão:** Na tipagem molecular dos isolados de *M. tuberculosis* das DRS caracterizamos a diversidade genética e mostramos características particulares para cada área e a similaridade de genótipos entre as duas regiões. Observamos a relevância do potencial epidemiológico e clínico do genótipo *RD^{Rio}*, associando com dados clínicos e epidemiológicos.

FAPESP:2013/09538-3

JU034

A pilot study for phylogenetic assessment of *Mycobacterium bovis* from Marajó Island, Brazil, based on whole genome sequencing

Conceição Marília L¹, Conceição Emilyn C², Furlaneto Ismari P¹, Silva Sandro P³, Cruz Ana Cecília R³, Abhinav Sharma⁴, Silva Júnior Reginaldo S⁵, Cardoso Jedson F⁶, Guimarães Arthur ES¹, Marcelino Beatriz R⁷, Lopes Maria L⁸, Nascimento Jacira S⁸, Gomes Harrison M⁹, Suffys Philip N⁹, Guimarães Ricardo JP S¹⁰, Casseb Alexandre R¹², Francez Loreno C¹¹, Perdigão João RLM¹³, Isabel Portugal¹³, Lima Karla VB^{1,14}. ⁽¹⁾ Instituto Evandro Chagas, Programa de Pós-graduação em Biologia Parasitária na Amazônia, Universidade do Estado do Pará, Ananindeua, BR ⁽²⁾ Instituto de Microbiologia Professor de Paulo Góes, Programa de Pós-graduação em Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR ⁽³⁾ Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, BR ⁽⁴⁾ Independent Researcher, Independent Researcher, New Delhi, IN ⁽⁵⁾ Central de Serviços, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, BR ⁽⁶⁾ Centro de Inovações Tecnológicas, Programa de Pós-graduação em Virologia, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, BR ⁽⁷⁾ Instituto Evandro Chagas, Faculdade de Biomedicina, Universidade do Estado do Pará, Ananindeua, BR ⁽⁸⁾ Seção de Bacteriologia e Micologia, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, BR ⁽⁹⁾ Laboratório de Biologia Molecular Aplicada as Micobactérias, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, BR ⁽¹⁰⁾ Laboratório de Geoprocessamento, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, BR ⁽¹¹⁾ Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade da Amazônia, Belém, BR ⁽¹²⁾ Instituto da Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, BR ⁽¹³⁾ Instituto de Investigação do Medicamento, Universidade de Lisboa, Lisboa, PT ⁽¹⁴⁾ Centro de Ciências Sociais e Educação, Universidade do Estado do Pará

Among the *Mycobacterium tuberculosis* Complex (MTBC), *Mycobacterium bovis* is the main causative agent for bovine tuberculosis (bTB), which is a disease with direct implications for animal welfare, for bovine-based economy, as well as having the potential for zoonotic transmission in humans. Regarding to this last aspect, during the investigation along with routine surveillance at slaughterhouse, animals that have lesions suggestive for TB, are sacrificed resulting in a total or partial condemnation of the carcasses and organs. A recent study has raised the possibility of the presence of *M. bovis* among bovid's (cattle and buffalo) tissues collected at the Soure slaughterhouse, the largest one in Marajó Island, state of Pará, northern Brazil. Thus, this pilot study is aimed to infer local phylogenetic relationships through whole genome sequencing (WGS). DNA from five *M. bovis* isolates were extracted by phenol-chloroform from culture and sequenced on a NextSeq (Illumina), using 2x150 paired-end chemistry and the Nextera XT library kit. For mapping, we used BWA/Samtools and H37Rv (NC_000962.3) as the reference genome. For SNP calling, we used Snippy. It was used jModelTest2 and PhyML to construct a maximum-likelihood phylogenetic tree. As the outgroup we used *M. canettii* (ERR1336826). It was based on genomes of the seven lineages (L1-L7) human-adapted CMTB which are already published. The five genomes from Marajó were representative from four municipalities (Santa Cruz do Arari, Soure, Chaves and Cachoeira do Arari) with two spoligopatterns: SIT997 (SB0822) and SIT986 (SB0885). The average coverage of the Genome was 99.3%. Upon performing a general phylogenetic tree, all five genomes from Marajó clustered close to L6 (*M. africanum*) and when the phylogenetic tree using *M. bovis* as reference was performed, all genomes showed 98.6% of similarity against this reference. The genomes G00009 and G00015 with their respective spoligotyping profiles of SB0822 and SB0885 showed a difference of 28 SNPs and 18 SNPs among each other. It was observed the presence of spoligotyping have rarely been reported globally. Therefore, the characterization of these strains is of additional interest to the epidemiological investigation that has not yet been reported for Marajó Island.

Instituto Evandro Chagas

JU035

Conversion of imipenem-susceptible into imipenem-resistant *Acinetobacter radioresistens* mediated by OXA-23

Andrés F Opazo-Capurro¹, Alexis A Opazo-Capurro¹, Paul G Higgins², Mariana Domínguez-Yévenes¹, Helia M Bello-Toledo¹, Gerardo E González-Rocha¹. ⁽¹⁾ Microbiología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL ⁽²⁾ Institute for Medical Microbiology, Immunology and Hygiene, University of Cologne, Cologne, DE

Acinetobacter radioresistens is an environmental microbe, which rarely causes human infections. Interestingly, it has been shown that the carbapenemase gene $bla_{\text{OXA-23-like}}$ is chromosomally encoded in this species; however, does not mediate resistance to carbapenems in this microorganism. This phenomenon suggests that *A. radioresistens* could act as a reservoir of this gene, since when present in other species, such as the nosocomial pathogen *Acinetobacter baumannii*, leads to carbapenem resistance. On the other hand, it is well known that extreme environments with low nutrient availability, such as Antarctica, hold diverse microorganisms with singular biological strategies in order to ward-off competing microbes, including antibiotic-production and their associated resistance genes. Due to the above, the aim of this study was to analyze the capability of two Antarctic carbapenem-susceptible *A. radioresistens* isolates to develop resistance to imipenem under selective pressure of the antibiotic. Both isolates, A145 and A154, were collected from soil samples in Fildes Peninsula, Antarctica, during a scientific expedition in 2013. Antibiotic-susceptibilities were carried out by standard protocols and their genetic relatedness was determined by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and by average nucleotide identity (ANI). The isolates were incubated in Mueller-Hinton broth with increasing imipenem concentrations up to 8 times the minimum inhibitory concentration (8xMIC) of imipenem. Then, the expression levels of the intrinsic $bla_{\text{OXA-23-like}}$ were measured by RT-qPCR. Both isolates were highly genetically related showing 100% similarity by PFGE and ANI. They resulted non-susceptible to ceftazidime, cefepime, cefotaxime, ampicillin, streptomycin, kanamycin and ceftriaxone. Furthermore, the MICs of imipenem for both isolates was 0.5 µg/mL. Interestingly, A145 and A154 grown in presence of imipenem 8xMIC produced isogenic-resistant strains that overexpressed the $bla_{\text{OXA-23-like}}$ gene 1.46 and 1.26 times, respectively, compared to their parental strains. These results showed the potential contribution of *A. radioresistens* in the dynamics of carbapenem-resistance in the genus *Acinetobacter*, and show an important feature of the Antarctic resistome, which could contribute to the development of resistance to important clinical drugs.

Postdoctoral Project FONDECYT 3150286

Detección de actividad antagónica de bacterias aisladas de suelo antártico sobre *Klebsiella pneumoniae*

Paz Orellana¹, Alequis Pavón¹, Lorena Salazar¹, Ana Gutiérrez¹, Gino Corsini¹. ⁽¹⁾ Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL

En los últimos años, la emergencia de aislados de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a múltiples fármacos y altamente virulentos, se ha convertido en un grave problema de salud pública a nivel mundial, debido a los costos asociados y a las altas tasas de mortalidad. En este escenario, es de gran interés científico, la búsqueda de nuevas moléculas como alternativa a las terapias con antibióticos tradicionales, debido a que cada vez son menos efectivos gracias a la aparición de estas cepas patógenas multi-resistentes. Estudios anteriores en nuestro laboratorio, han permitido identificar aislados de bacterias antárticas (BA) que secretan compuestos difusibles, termoestables y con actividad antibacteriana. El objetivo de este estudio consistió en seleccionar nuevas bacterias, aisladas desde suelo antártico y evaluar su actividad antagónica sobre *K. pneumoniae*. Para ello, se ensayó una colección de 60 aislados desde la rizósfera de la planta *Deschampsia antarctica*, mediante ensayo de detección de actividad antibacteriana en placa. A partir de un cultivo de la bacteria *K. pneumoniae*, se realizó una siembra en césped sobre una placa de agar LB. La actividad de la molécula secretada por la BA se detectó mediante inoculación de una colonia sobre el césped de la bacteria indicadora y además sobre *K. oxytoca*. Paralelamente, se sembró 5 mL de sobrenadante concentrado por evaporación a 80 °C, sobre una membrana con un poro de exclusión de 10 kDa. Las placas se incubaron a 4°C y 18°C durante 18 h. La actividad antibacteriana se determinó mediante una zona de inhibición de crecimiento sobre el césped de las bacterias analizadas. Seis BA (10%) presentaron actividad antagónica frente a las dos especies de *Klebsiella*. Todas las BA correspondieron a bacilos Gram negativo, secretaron compuestos difusibles, termoestables y de bajo peso molecular. Por lo tanto, estos resultados podrían indicar que bacterias aisladas desde el continente antártico secretan compuesto con actividad antibacteriana que podrían ser de gran relevancia frente a aislados resistentes de *K. pneumoniae*.

DIUA 97-2017 Universidad Autónoma de Chile.



JU037

Sensibilidad y prevalencia de los agentes de Enfermedad Fúngica Invasora en un hospital público de Argentina

Bryan Ortiz¹, Catiana Dudiuk¹, Carolina Aro², María Rosa Baroni², Soledad Gamarra¹, Guillermo Garcia-Effron¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Micología y Diagnóstico Molecular, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, AR ⁽²⁾ Hospital Dr. Orlando Alassia, AR

Introducción Las infecciones fúngicas son una importante causa de morbilidad y mortalidad en la población pediátrica. La correcta identificación de estos patógenos y la evaluación de su sensibilidad son herramientas importantes para la elección de la mejor opción terapéutica para estos pacientes. El objetivo de este estudio fue establecer la prevalencia de los hongos causantes de enfermedad fúngica invasora probada (EFI) y determinar los patrones de sensibilidad a distintos antifúngicos. **Materiales y métodos** Se estudiaron 37 aislamientos de pacientes pediátricos con EFI. Las especies fueron identificadas por métodos moleculares basados en polimorfismos del operón ribosomal, PCR específicas de especie o secuenciación. Las cepas de *Aspergillus* fueron identificadas a nivel de secciones. Las pruebas de sensibilidad se realizaron de acuerdo al protocolo CLSI M27-4ed y M38-3d, utilizando el método de microdilución. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) de levaduras frente a fluconazol (FLC), itraconazol (ITC), voriconazol (VRC), posaconazol (PSC), anidulafungina (ANF), caspofungina (CSF) y anfotericina B (AMB). Para hongos filamentosos se estudiaron todos los anteriores excepto FLC. En el caso de *Cryptococcus* se evaluaron todos los antifúngicos de levaduras más 5-Flucitosina (5-FCT). **Resultados** Los géneros más prevalentes fueron *Candida* spp. (40,5%), *Aspergillus* spp. (37,8%), *Cryptococcus* spp. (18,9%) y *Scedosporium* spp. (2,7%). Las especies con mayor número de aislamientos fueron *Candida parapsilosis sensu stricto* y *Aspergillus sección fumigati*. En el género *Candida* las pruebas de sensibilidad evidenciaron un 20% de resistencia a FLC, mientras que para los demás antifúngicos probados todas las especies fueron sensibles o fenotipo salvaje (para especies con puntos de corte epidemiológicos). El género *Aspergillus* fue sensible o fenotipo salvaje para todos los antifúngicos probados. *Cryptococcus* resultó resistente a FLC y PSC. *Scedosporium prolificans* mostró CIM ≥ 8 para ITR, VRC, AMB, y ≥ 4 para PSC y equinocandinas. **Conclusión** Se evidencia la gran variedad de patógenos fúngicos aislados, destacando la importancia de la identificación a nivel de género y especie. En cuanto a la resistencia, se observa una alta tasa de resistencia a FLC en *Candida* y *Cryptococcus* spp. La resistencia a azoles en *Aspergillus* fue nula. Se aislaron especies de hongos multirresistentes como *S. prolificans*.

Identificación de actinomicetos marinos aislados de Isla Partida Norte, Golfo de California México; y su evaluación como posibles agentes antimicrobianos

Alma Reyna Osorio Martínez¹, Araceli Contreras-Rodríguez¹, Guadalupe Aguilera-Arreola¹, Enrico A Ruiz-Castillo² ⁽¹⁾ Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, MX ⁽²⁾ Ecología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, MX

Introducción: La resistencia microbiana a los antibióticos es un problema grave en la salud pública a nivel mundial. Recientemente la OMS comunicó sobre la presencia de patógenos multirresistentes de origen clínico, y de la necesidad de estudiar nuevas moléculas antimicrobianas. La mayoría de los antibióticos son metabolitos de origen bacteriano, principalmente del género *Streptomyces*. Sin embargo, se ha reportado que otros géneros de actinomicetos marinos también producen agentes antibacterianos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto antimicrobiano de actinomicetos marinos. **Metodología:** Se colectaron muestras de agua y sedimento marino en Isla Partida Norte, Golfo de California México en dos profundidades y dos sitios diferentes. El aislamiento de los actinomicetos se hizo a partir de 5 medios de cultivo diferentes suplementados con cicloheximida y ácido nalidíxico; todos preparados con agua de mar. Las cepas presuntivas de actinomicetos se identificaron mediante MALDI-TOF y con la secuenciación de un fragmento del gen ribosomal 16S (aprox. 510 pb). La prueba de requerimiento de agua de mar para el crecimiento de los actinomicetos, se evaluó sembrándolos en medios preparados con agua de mar y agua destilada. La actividad antimicrobiana de los actinomicetos contra bacterias resistentes a antibióticos reportadas por la OMS se evaluó con el método de difusión en disco. **Resultados:** Se aislaron un total de 294 cepas bacterianas a partir de agua y sedimento marino. Mediante morfología colonial se seleccionaron a 36 cepas presuntivas de actinomicetos. Siete especies de actinomicetos: *Micrococcus luteus*, *M. terreus*, *Rhodococcus fascians*, *Kytococcus sedentarius* (2), *Kocuria rosea* y *Brevibacterium* spp se identificaron por MALDI-TOF. Mediante biología molecular se identificaron 38 aislamientos, correspondiendo a 7 diferentes géneros de actinomicetos: *Streptomyces* spp. (25), *Nocardiopsis* spp. (8), *Microbacterium* spp. (1), *Arsenicococcus* spp. (1), *Myceligenans* spp. (1), *Kytococcus* spp. (1) y *Kocuria* spp (1). Sólo 6 aislamientos requirieron agua de mar para su crecimiento. Doce cepas de actinomicetos inhibieron a *Streptococcus pneumoniae*, *Campylobacter jejuni*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Staphylococcus aureus*. **Conclusión:** Los actinomicetos aislados del sedimento de Isla Partida Norte, Golfo de California México producen metabolitos capaces de inhibir a patógenos bacterianos.

Caracterización de las enterobacterias productoras de carbapenemasas en Hospital de Clínicas de Uruguay.

Rosario Palacio¹, Leticia Caiata¹, **Matilde Outeda**¹, Pilar Gadea¹, Ines Bado², Romina Papa², Andres Balsamo¹, Laura Cabezas¹, Vignoli Rafael², Veronica Seija¹. ⁽¹⁾ Depto. de Laboratorio Clínico, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, UDELAR. ⁽²⁾ Depto. de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UDELAR, Montevideo, UY

Introducción: La producción de carbapenemasas por las enterobacterias (EPC) constituye un problema preocupante, debido a la gran capacidad de diseminación horizontal, perfil hidrolítico y frecuente coexistencia con otros mecanismos de resistencia. **Objetivos:** Caracterizar las EPC aisladas en el Hospital de Clínicas (universitario) de Montevideo-Uruguay. **Materiales y métodos:** Estudio observacional descriptivo entre 01/01/2012 y 31/12/2017. Se incluyeron aislamientos clínicos de enterobacterias identificadas mediante el sistema automatizado Vitek2 system® e interpretación de susceptibilidad según CLSI vigente. A los aislamientos presuntivos de producción de carbapenemasas se les realizó: test con discos combinados (kit "KPC+MBL Confirm ID" Rosco®) y/o test de sinergia con EDTA y ácido borónico (APB) así como sensibilidad a temocilina. Las enterobacterias sospechosas de producir carbapenemasas se enviaron al Depto. de Bacteriología y Virología para confirmación molecular para los genes *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{SIM}, *bla*_{GIM}, *bla*_{SPM}, *bla*_{KPC}. **Resultados:** Se identificaron 10.017 enterobacterias, 16 EPC confirmadas molecularmente: 13 *bla*_{NDM} (*Providencia rettgeri*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* (n=2), *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* (n=2), *Klebsiella pneumoniae* (n=5), 1 *bla*_{VIM} (*Enterobacter cloacae*), 2 *bla*_{KPC} (*K.pneumoniae*, *Citrobacter freundii*). No se encontraron cepas sospechosas de producir OXA-48 (resistentes a temocilina). Las muestras clínicas donde se identificó EPC con mayor frecuencia fueron: urocultivo (n=8), seguido de hemocultivos (n=4). Prevalencia de EPC: 0,061% en 2012, 0,175% en 2013, 0,059 % en 2014, 0,063% en 2015, 0,36% en 2016 y 0,24% en 2017 (p:NS). En EPC: 13/16 sensible a amikacina, 11/16 a colistin, 7/16 a tigeciclina y 5/16 a ciprofloxacina. **Discusión y conclusión:** Las EPC en nuestro hospital tienen baja frecuencia. Todas las detectadas mostraron un perfil multirresistente, algunas asociadas a infecciones invasivas. Fueron mayoritariamente metaloenzimas. En 2016 se detectó por primera vez KPC. La baja frecuencia de EPC (casos esporádicos sin brotes nosocomiales) puede relacionarse, en parte, al alerta precoz desde el Laboratorio dirigido tanto a los servicios involucrados así como al Comité de Infecciones. En todos los casos, esto motivó la implementación de precauciones de contacto maximizadas así como la realización de estudios de colonización rectal a todos los contactos. Resulta fundamental continuar con los programas de vigilancia para mantener controlada la situación, evitando la diseminación de estos microorganismos.

Facultad de Medicina, UDELAR.

Efecto de antibióticos sobre biofilms de cepas clínicas de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes

Romina Papa¹, Victoria Iribarnegaray², Inés Bado¹, María José González², Rafael Vignoli¹, Paola Scavone². ⁽¹⁾Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, UY⁽²⁾ Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, UY

Las infecciones que involucran biofilms son difíciles de erradicar, principalmente porque en ellos las bacterias son más resistentes a los antimicrobianos con respecto a su contraparte planctónica. *Acinetobacter baumannii* multirresistente ha emergido a nivel intrahospitalario como un importante patógeno oportunista, y se ha descrito como un exitoso formador de biofilms, estrategia que utiliza para colonizar superficies bióticas y abióticas. El objetivo de este trabajo fue estudiar la capacidad de formación de biofilm en aislamientos de *A. baumannii* y evaluar su comportamiento ante el desafío con diferentes antibióticos. Se utilizaron 21 aislamientos clínicos de *A. baumannii*, obtenidos de muestras de secreciones respiratorias de pacientes internados en el Hospital de Clínicas (2010-2011), previamente caracterizados. La capacidad de formación de biofilm en superficie abiótica fue determinada en placas de microtitulación de poliestireno. La biomasa formando parte del biofilm fue cuantificada por tinción con cristal violeta y posterior solubilización para determinar la densidad óptica a 595 nm. Los antibióticos utilizados fueron colistín (1 y 2 µg/ml), meropenem (16, 32 y 64 µg/ml), imipenem (32, 64, 128 µg/ml), ciprofloxacina (8, 16 y 32 µg/ml), amikacina (8, 16 y 32 µg/ml) y gentamicina (4, 8 y 16 µg/ml). Todos los aislamientos fueron categorizados como productores moderados o fuertes de biofilm. Se observó un aumento significativo de la formación de biofilm cuando se le adicionó 2 µg/ml de colistín, 16 µg/ml de meropenem, 32 y 64 µg/ml de imipenem. Con ciprofloxacina se observó una disminución de la biomasa del biofilm en las tres concentraciones evaluadas, a pesar que las cepas eran resistentes. Mientras que amikacina y gentamicina no mostraron un efecto significativo sobre los biofilms. Colistín, imipenem y meropenem fomentarían la formación de biofilm en las concentraciones estudiadas, mientras que ciprofloxacina tendría un efecto anti-biofilm. Se deberán realizar más estudios que permitan profundizar sobre el efecto de los antibióticos sobre el biofilm. Estos hallazgos pueden tener un gran impacto clínico ya que los antibióticos estudiados son ampliamente utilizados en el tratamiento de infecciones por *A. baumannii*.

Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC). Programa I+D 2016 (ID 78).

RP: Beca de la Comisión Académica de Posgrado (Universidad de la República).

JU041

Caracterización molecular y funcional de plásmidos implicados en la resistencia a oxitetraciclina y florfenicol aislados de poblaciones bacterianas asociadas a la salmonicultura chilena

Juan Parás Silva¹, Jorge Olivares Pacheco¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL

El uso de antibióticos para el tratamiento de enfermedades e infecciones provocadas por microorganismos, ha sido la principal herramienta utilizada por la salmonicultura para evitar grandes pérdidas en los cultivos. Los principales antimicrobianos utilizados por esta industria son oxitetraciclina y florfenicol (98%). La incapacidad de controlar las enfermedades infecciosas en esta actividad ha llevado a utilizar elevadas cantidades de estos compuestos. Esta alta y constante exposición a antibióticos conlleva a la selección de comunidades bacterianas resistentes a dichos fármacos, alterando su diversidad y composición genética. En este contexto la presente investigación aborda el aumento de la selección de dichos genes de resistencia en poblaciones bacterianas asociadas al cultivo de salmones, sometidos a un alto consumo de antibióticos, y a determinar la presencia de elementos genéticos móviles, como plásmidos, que están implicados en la rápida diseminación de esta resistencia que finalmente conlleva a la aparición de bacterias multirresistentes. En este trabajo se analizaron 27 cepas resistentes a florfenicol (CMI > 128 µg/mL) y 23 cepas resistentes a oxitetraciclina (CMI > 128 µg/mL), aisladas desde agua de mar y microbiota intestinal de salmones obtenidos desde cuatro centros de cultivo altamente impactados por el uso de antibióticos, ubicados en la región de Aysén, Chile. Se evaluó la presencia de plásmidos en las cepas aisladas, los cuales fueron purificados y a través de la técnica de PCR y el análisis de las secuencias obtenidas se determinó la presencia de los genes *floR* y *fexA*, ambos determinantes de resistencia a florfenicol, así como genes de la familia *tet*, determinante de resistencia a oxitetraciclina. Los resultados obtenidos muestran que un 56% de las cepas resistentes a florfenicol presentan plásmidos y de estos el 60% presenta a lo menos *fexA* o *floR*, mientras que un 43% de las cepas resistentes a oxitetraciclina posee plásmidos, de los cuales el 20% contiene el gen *tetA*. La presencia de determinantes de resistencia en plásmidos, sugiere una alta probabilidad de transferencia horizontal de genes, propiciando la movilización y diseminación de estos genes a poblaciones bacterianas susceptibles presentes en el entorno.

FONDECYT 11150858

JU042

In vitro and in vivo profile of the compound tris-(1,10-phenanthroline)iron(II) with undetectable resistance against *Mycobacterium tuberculosis*

Solcia Mariana C¹, Leite Debora C¹, Silva Caio SP¹, Julia Grecco¹, Silva Patricia B¹, Silva Isabel C¹, **Pavan Fernando R¹**.⁽¹⁾
Biological Sciences, School of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University (UNESP), Araraquara, BR

Tuberculosis (TB) is one of the most common infections worldwide, considered a prevalent epidemic, which according to the World Health Organization (WHO) is the deadliest communicable disease in the world. The need to develop new active agents to combat TB poses a major challenge for the control and treatment of TB. In this work, the research strategy was “drug repositioning” studying the metal complex, tris (1,10-phenanthroline) iron (II), ([Fe (fen)₃]²⁺), since the complex has the ability to disturb the functioning of a wide variety of biological systems in addition to being easy to obtain and low cost. The objective was to search for new applications of this complex, investigating its potential and possible mechanisms of action against *Mycobacterium tuberculosis*. The activity of ([Fe (fen)₃]²⁺) against *M. tuberculosis* strains was determined by the plaque microdilution method (REMA) where the complex showed satisfactory inhibition of sensitive bacilli under normal conditions without losing their activity when submitted to different culture medium conditions; showed inhibition of bacteria in hypoxia by the LORA method and even more effectively inhibited strains with multiple resistance (MDR-TB) and extensional (TB-XDR) profiles. In intramacrophagic assays, ([Fe (fen)₃]²⁺) was able to eliminate more than 80% of the mycobacteria contained within macrophages. The complex exhibits an excellent selectivity index, demonstrated in cytotoxicity and narrow spectrum against other pathogens tested, showing to be specific against mycobacteria. In assays using animal plasmas after oral single dose application in BALB/c mice, ([Fe (fen)₃]²⁺) was shown to be bioavailable from 2h after gavage administration. In order to investigate the possible mechanism of action, the mycobacteriophage assay indicated a strong relationship of the complex in inhibiting bacterial protein synthesis. The frequency of spontaneous mutation was undetectable with 10⁹ CFU/mL and 10 times the MIC, ensuring the difficult to find a natural resistance. Conclusion: the results obtained so far, ([Fe (fen)₃]²⁺) shows very promising *in vitro* studies in several conditions, undetectable resistance, *in vivo* bioavailable and seems to inhibit bacterial protein synthesis. In addition, it is active in resistant bacteria, complying with the WHO declaration on prioritizing research and development aimed primarily at these cases.

FAPESP. Grant 2013/14957-5 and 2018/00163-0

JU043

Atividade biológica de 2-morfolino-pirimidinonas frente à cepa de *Mycobacterium tuberculosis* sensível (H37Rv) e multidrogaresistente

Peixoto Aline Dos Santos¹, Linhares Leonardo De Aquino¹, Sousa Luanna De Angelis Correia¹, Laet João Paulo De Lucena¹, Farias Paulo Henrique Miranda De², Santos Aline Caroline Da Silva⁴, Neves Maria Madileuza Carneiro³, Hernandes Valéria Pereira⁴, Dos Anjos Janaína Versiani², Schindler Haiana Charifker¹, Pimentel Lilian Maria Lapa Montenegro¹.
(¹) Imunologia, Laboratório de Imunoepidemiologia, Instituto Aggeu Magalhães, FIOCRUZ, Recife, BR (²) Química Fundamental, Laboratório de Síntese Orgânica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR (³) Microbiologia, Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN-PE), Secretaria Estadual de Saúde, Recife, BR (⁴) Imunologia, Laboratório de Patologia e Biologia Molecular, Instituto Aggeu Magalhães, FIOCRUZ, Recife, BR

A tuberculose é uma doença infecto-contagiosa provocada pelo *Mycobacterium tuberculosis*. O diagnóstico precoce e tratamento adequado são essenciais para a eficácia dos programas públicos de controle da doença, os quais buscam curar o paciente e evitar a transmissão do bacilo. O tratamento atual é bastante longo e requer drogas onerosas que possuem efeitos adversos. A obtenção de novos fármacos para conter o avanço da doença torna-se fundamental e cada vez mais necessária devido à resistência dos microrganismos frente aos antibióticos existentes. Conhecendo o potencial farmacológico de determinadas moléculas, é possível buscar modificações a fim de se obter compostos mais potentes e menos tóxicos. Assim, o objetivo deste trabalho é testar novas pirimidinonas candidatas a fármacos no tratamento da infecção por *Mycobacterium tuberculosis* sensível e multidroga resistente (MDR). A síntese e a caracterização dos 15 compostos foram realizadas no Laboratório de Síntese Orgânica (UFPE). O *M. tuberculosis* H37Rv foi utilizado neste estudo como cepa de referência sensível a todas as drogas de primeira linha e a cepa MDR foi isolada de paciente caracterizada e fornecida pelo Laboratório Central de Saúde Pública. A determinação da atividade dos compostos sintetizados foi determinada pela Concentração Mínima Inibitória (MIC) em placas de 96 poços, com concentração variando de 256 µg/mL a 2 µg/mL. As placas foram incubadas a 37°C por um período de 7 a 10 dias. Para a realização do ensaio de citotoxicidade foi utilizado o teste do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) com a linhagem celular J774A.1. Dos 15 compostos testados para a cepa sensível (H37Rv), 2 demonstraram resultados promissores em relação ao MIC, sendo os compostos PRM 10 e PRM 12 com MIC de 32 µg/ml e para a cepa MDR, os compostos que tiveram melhor resultado de MIC foram PRM 12 e SPRM22, com 32 µg/ml. O composto que apresentou melhor índice de seletividade para cepa sensível foi o PRM 12, assim como para cepa MDR. Os compostos avaliados neste estudo apresentaram resultados de testes *in vitro* promissores frente às cepas de *M. tuberculosis* sensível e MDR, dando suporte à continuidade do estudo dos derivados 2-morfolino-pirimidinonas como candidatos a fármacos para o tratamento da tuberculose.

Os autores agradecem ao Programa Translacional de Tuberculose, FioTB (VPPLR 002 FIO 14, FIOTEC)

JU044

Alterações morfológicas causadas pela apitoxina e melitina em MRSA e *E. coli*

Pereira Ana Flávia M¹, Mariana Albano², Alves Fernanda Cristina B¹, Machado Bruna Fernanda MT², Alessandra Furlanetto², Ferreira Júnior Rui S³, Orsi Ricardo O⁴, Ary Fernandes Júnior². ⁽¹⁾ Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, BR ⁽²⁾ Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, BR ⁽³⁾ CEVAP, Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos da UNESP, UNESP - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, BR ⁽⁴⁾ Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, BR

Background: As pesquisas por alternativas terapêuticas para as doenças infecciosas são constantes e necessárias, principalmente devido ao problema mundial da resistência bacteriana que vem elevando a mortalidade, morbidade e os custos com a saúde. O objetivo desse trabalho foi verificar as alterações morfológicas causadas pela apitoxina e melitina (representa 50% do peso seco da apitoxina) em linhagens de *E. coli* e *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). **Methods:** Através de ensaios de microdiluição (Resazurin Microtiter Assay Plate – REMA) foram determinadas previamente as concentrações inibitórias mínimas (CIM) dos produtos testados frente à uma cepa ATCC de MRSA e uma de *E. coli*. Para a microscopia foi utilizada uma suspensão bacteriana das cepas padronizadas em 10⁶ UFC/mL, sendo posteriormente colocadas em concentrações correspondentes a 1 vez e 4 vezes os valores das CIM de cada produto e incubadas a 37°C/24 h. Posteriormente foi adicionado o glutaraldeído 2,5% e as culturas foram centrifugadas (20 min/1500 g/4 °C), obtendo-se pellets que foram lavados 3 vezes com PBS (tampão fosfato salino) e novamente centrifugados (3 min/1500 g/4°C), o PBS foi retirado e foi adicionado glutaraldeído 2,5% para fixação e foram armazenados a 4°C/24 h. As amostras foram preparadas para visualização em microscópio eletrônico de transmissão no Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP. **Results:** Comparando as imagens obtidas do controle com os tratamentos podemos notar deformações na membrana celular bacteriana causadas pela apitoxina e melitina. Em ambas cepas é visualizada uma completa perda na integridade da membrana, sendo possível notar alterações morfológicas como desintegração da célula, extravasamento de conteúdo citoplasmático, lise celular, distorção da estrutura celular e polarização do conteúdo citoplasmático. **Conclusion:** Os peptídeos antimicrobianos, como a melitina, são capazes de agir nas membranas citoplasmáticas de bactérias Gram positivas e Gram negativas, por meio da formação de poros ou através de rupturas e formação de micelas, alguns também são capazes de inibir processos vitais para a bactéria. A melitina tem potencial como agente terapêutico, apresentando amplo espectro, atividade antibacteriana em pequenas quantidades e agindo rapidamente.

FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) auxílio à pesquisa (2015/14278-6) e CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) (processo 162208/2015-4)

JU045

Determinação da concentração inibitória mínima de extratos de *Achyrocline satureioides* sobre cepas de *Trichophyton rubrum*

Fantatto Rafaela R¹, Rodrigo Sorrechia¹, Cordoba Maria Angélica M¹, **Rosemeire Cristina Pietro**¹. ⁽¹⁾ Department of Drugs and Medicines, School of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University, Araraquara, BR

O dermatófito *Trichophyton rubrum* é o agente causador de dermatomicose mais frequente no mundo, porém apesar da importância das micoses, somente um número limitado de drogas antifúngicas está disponível atualmente no mercado devido à falta de novos ativos, toxicidade e resistência desse fungo. Diante disso há uma constante busca de novos potenciais antifúngicos com destaque para os de origem natural. A espécie *Achyrocline satureioides* possui diversos estudos relatando atividades antimicrobianas por isso destaca-se como uma promissora alternativa. A metodologia utilizada para a determinação da concentração mínima inibitória (CIM) foi a norma M38A2 proposta pelo CLSI onde foram avaliadas as cepas de *T. rubrum* (isolado clínico) e *T. rubrum* (ATCC 28189). Foram analisados o extrato etanólico bruto de inflorescências (AsEt) e frações acetato (AsAc), hexano (AsHx) e água (AsH₂O). Para o isolado clínico as CIMs encontradas foram de 78 µg/mL para o AsEt e fração AsAc enquanto para as frações AsHx e AsH₂O foram 312 µg/mL. Para a cepa ATCC o AsEt e as frações AsHx e AsH₂O apresentaram CIM de 39 µg/mL e para a fração AsAc foi 56 µg/mL. Os resultados demonstram que o *T. rubrum* ATCC apresenta-se mais sensível ao extrato e frações de *A. satureioides*, pois foram necessárias menores concentrações dos extratos para inibir o fungo. O extrato e frações de *A. satureioides* mostraram-se muito promissores.

CNPq, CAPES

JU046

Transformación de cepas de *Escherichia coli* uropatógeno con distintos contextos genéticos y de *E. coli* K12 con un plásmido portador de un integrón de clase 1

María Poey¹, Magela Laviña¹. ⁽¹⁾ Fisiología & Genética Bacterianas, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, UY

Los integrones de clase 1 (Int1) son elementos genéticos portadores de genes de resistencia antibiótica. Es ampliamente aceptado que los Int1 se diseminan fácilmente en forma horizontal entre las bacterias, contribuyendo a la aparición de nuevos clones multiresistentes. Sin embargo, existen pocos trabajos sobre su transferencia *per se* y, en su mayoría, no emplean un diseño epidemiológico. Nuestros análisis previos, realizados sobre una colección de cepas de *Escherichia coli* uropatógeno (UPEC) Int1+ tomada siguiendo un diseño epidemiológico, indicaron que la presencia de Int1 se asocia con el perfil de virulencia y de filogenia de cepas de UPEC. Esto sugiere que los Int1 estarían sujetos a limitantes para su diseminación en determinados contextos genéticos. En vista de estos resultados estudiamos, en primera instancia, la transferencia de Int1 de cepas de UPEC a *E. coli* K12, mediante conjugación y transducción P1. Se obtuvo transconjugantes Int1+ con una frecuencia del 40% y transductante Int1+ en solo un caso. Se analizaron diferentes variables que pudiesen condicionar la transferencia sin encontrarse relaciones estrictas. En el presente trabajo procedimos a analizar la compatibilidad de un Int1 con distintos contextos genéticos de cepas de UPEC. Para ello, en una primera instancia se construyó un plásmido recombinante portador de un Int1 (pINT11). Se transformaron por electroporación 22 cepas de UPEC, pertenecientes a los cuatro grupos filogenéticos y con diferentes perfiles de virulencia, con pINT11 y con el correspondiente vector de clonado pUCYC5, por separado. Los clones transformantes se seleccionaron para su resistencia a cloranfenicol. Hubo una muy baja frecuencia de transformantes Int1+ mientras que con pUCYC5 se obtuvo decenas a miles de transformantes. Para una misma cepa hubo siempre más transformantes con pUCYC5 que con pINT11. Por otro lado, ambos plásmidos por separado fueron introducidos, por experimentos de electroporación y de transformación con cloruro cálcico, en una cepa *E. coli* K12. En ambos procedimientos hubo también menos transformantes con pINT11 que con pUCYC5. En suma, la transferencia horizontal de Int1 en *E. coli* parecería presentar dificultades que irían más allá de los diferentes contextos genéticos analizados.

Financiamiento: Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA), Uruguay

JU047

Efeito antimicrobiano de *Theobroma sp.* em modelo de infecção *in vitro* e *in vivo*

Pontes Jaqueline Pessoa⁵, Carvalho Junior Alexsander Rodrigues⁵, Fialho Sousa Nágila Caroline³, Da Silva Figueiredo Isabella Fernandes³, Branco De Almeida Luciana Salles¹, Da Rocha Cláudia Quintino², Feitosa Ferro Thiago Azevedo², Neto Valério Monteiro⁴, Nascimento Da Silva Luís Cláudio⁴, Fernandes Elizabeth Soares⁴. ⁽¹⁾ Departamento de Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís - MA, BR ⁽²⁾ Departamento de Química, Universidade Federal do Maranhão, São Luís - MA, BR ⁽³⁾ Laboratório de Imunologia das Parasitoses, Universidade Ceuma, São Luís - MA, BR ⁽⁴⁾ Pós graduação ciências da saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís - MA, BR ⁽⁵⁾ Laboratório de Imunologia das Parasitoses, Universidade Ceuma, Universidade Ceuma, São Luís - MA, BR

Introdução: A sepse é uma síndrome inflamatória, tida como a principal causa de morte nas unidades de terapia intensiva. O *theobroma grandiflorum* (cupuaçu) é uma espécie frutífera da região amazônica, e à sua polpa são atribuídas ações anti-inflamatória e antioxidante, entretanto, pouco se sabe acerca das propriedades farmacológicas de sua semente. Este trabalho avaliou o potencial anti-microbiano do extrato hidroalcoólico da semente de *T. grandiflorum*. **Metodologia:** Determinou-se a concentração bacteriostática (CIM) e microbicida (CMB) do extrato pelo método de microdiluição associado ao emprego da resazurina, além de sua atividade anti-virulência contra *Escherichia coli in vitro*. Ainda, seus efeitos foram avaliados em larvas de *Tenebrio molitor* infectadas ou não por *E. coli*. **Resultados:** A incubação *in vitro* com o extrato da semente de *T. grandiflorum* causou aumento da viabilidade de *E. coli*, entretanto, promoveu a supressão do metabolismo e da habilidade em formar biofilme. A administração *in vivo* do extrato nas larvas não-infectadas causou efeitos deletérios sobre a mobilidade e resposta imune das larvas, demonstrado por redução no escore de qualidade de vida das mesmas após tratamento e, por conseguinte, mortalidade de forma dose-dependente. Quando infectadas com *E. coli*, apenas 17% das larvas sobreviveu ao final do período de observação. O pré-tratamento de larvas infectadas com o extrato, causou aumento dose-dependente da sobrevivência das mesmas, sem refletir em atenuação da severidade da síndrome em larvas sobreviventes. Por outro lado, o pós-tratamento com extrato não interferiu com a mortalidade de larvas infectadas mas atenuou a severidade da sepse quando administrado à 100 mg/kg. Animais controle pós-tratados com extrato apresentaram piora da qualidade de vida, e isto foi associado à aumento da taxa de mortalidade nestes animais. Os seguintes compostos flavonóides foram identificados por LC-ESI-IT/MS (liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry) no extrato: 6-hidroxi-5,7-dimetoxiflavona, rhamnetina, isorhamnetina e 5-hidroxi-4,7-dimetoxiflavanona. **Conclusão:** De acordo com os resultados, a semente de *T. grandiflorum* apresentou efeito anti-virulência *in vitro*, além de proteger contra a infecção causada por *E. coli in vivo*. Contudo apresentou efeitos deletérios em larvas não infectadas. Estes feitos antimicrobianos e tóxicos necessitam maiores estudos para que os mecanismos envolvidos sejam melhor elucidados.

CAPES, CNPq, FAPEMA, UNICEUMA

Péptidos análogos de Ib-AMP4 de *Impatiens balsamina*: Propiedades antibacterianas contra *E. coli* O157:H7 y efecto citotóxico contra células VERO

Sergio Alfonso Prada¹, Ana Elvira Farfán-García², Johanna Marcela Flórez³, Indira Paola Hernández³. ⁽¹⁾ Maestría de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Facultad de Salud, Universidad de Santander, Bucaramanga, CO ⁽²⁾ Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad de Salud, Universidad de Santander, Bucaramanga, CO ⁽³⁾ Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agropecuarias, Universidad de Santander, Bucaramanga, CO

Introducción: *Escherichia coli* (*E. coli*) O157:H7 es el patógeno más común en brotes relacionados con alimentos cárnicos, es prevalente en países desarrollados y está asociado al desarrollo del Síndrome Urémico Hemolítico. El diseño de péptidos que permitan incrementar la actividad bactericida contra microorganismos constituye una alternativa atractiva debido a la resistencia que *E. coli* ha desarrollado contra los antibióticos convencionales. El presente estudio tiene como objetivo determinar la actividad antibacteriana y citotóxica de péptidos análogos obtenidos a partir de Ib-AMP4 contra *E. coli* O157:H7 y células VERO. **Metodología:** La actividad antibacteriana de péptidos en *E. coli* O157:H7 (ATCC® 43888™) se obtuvo mediante la determinación de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB). Para la CMI se utilizaron microplacas de 96 pozos realizando diluciones seriadas 1:2 en caldo Müller-Hinton de los péptidos Ib-M 1,2,4,5 y 6 a concentraciones de 100 a 0,78 µM y estreptomina como medicamento de referencia de 200 a 1,56 µM. Posteriormente, se inoculó *E. coli* a 5x10⁵ UFC/mL/pozo y se incubó a 35±2°C por 24 horas. Para la CMB, se realizaron subcultivos en agar sangre de los pozos sin crecimiento visible de bacterias realizados para la CMI y fueron incubados a 35±2°C durante 18-24 horas. El efecto citotóxico de los péptidos se evaluó por el método colorimétrico de MTT (Bromuro-3(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5-difeniltetrazolio). Células VERO (ATCC® CCL-81™) fueron cultivadas en microplacas de 96 pozos con medio RPMI 1640 y suero bovino fetal inactivado al 10% e incubadas a 35±2°C en atmósfera con 5% de CO₂, éstas fueron expuestas a concentraciones de péptidos y estreptomina previamente descritos y se incubó durante 24 horas. Se realizó revelado con MTT y se determinaron las absorbancias por espectrofotometría UV a 540 nm. **Resultados:** CMI de péptidos Ib-M 1,2,4,5 y 6 contra *E. coli* O157:H7 se obtuvieron promedios en un rango de 3,4 – 12,5 µM y la CMB en un rango de 6,3 – 22,9 µM. Péptidos evaluados no mostraron citotoxicidad celular a las concentraciones evaluadas. **Conclusión:** Péptidos Ib-M presentaron actividad antibacteriana *in vitro* contra *E. coli* O157:H7. Estudios adicionales podrían conducir a considerar los Ib-M como candidatos promisorios para el tratamiento antibacteriano.

Financiado por la Universidad de Santander y COLCIENCIAS en la Convocatoria 744 de 2016, código: 129974455449 proyecto: Bioconjugados de péptidos Ib-M con nanopartículas magnéticas biocompatibles como compuestos antibacterianos alternativos contra *Escherichia coli* O157:H7.

JU049

Multidrug resistant *Escherichia coli* strains in drinking water from the Southeast Region of Brazil

Ferreira João FG², Mariana Moreira², Freitas Deborah L², Lanna Maria CS¹, Farias Luiz M², **Magalhaes Paula P²**. ⁽¹⁾ Department of Biological Sciences, ICEB, UFOP, Ouro Preto, BR ⁽²⁾ Department of Microbiology, ICB, UFMG, Belo Horizonte, BR

The low microbiological quality of water is associated with a mortality rate of about 3 million people per year. Among the agents of waterborne diarrheal disease *Escherichia coli* diarrheagenic pathotypes should be highlighted. The species harbors a remarkable phenotypic and genotypic diversity including highly heterogeneous antimicrobial drug resistance profiles. Thus, aquatic environments may act as a route for dissemination of antimicrobial resistant microorganisms between human populations. This study targeted the evaluation of the genetic diversity and the investigation of aspects related to antimicrobial drug resistance in *E. coli* isolates (n = 423) obtained from drinking water in Southeast region of Brazil. Evaluation of the antimicrobial susceptibility profile was performed by disk diffusion method, PCR was employed in order to search for integrons and gene cassettes, and sequencing of the hypervariable region of the *rpoB* gene allowed the evaluation of the genetic diversity among the study group. The results indicated that 146 isolates showed resistance to at least one antimicrobial drug and 37 were classified as multiresistant. A total of 10 isolates presented positive results for class 1 integrons and clinical class 1 integrons, two of which have associated gene cassettes. In regard to diversity analysis, three genetic groups could be differentiated. Data generated demonstrate that drinking water in the studied locations still poses a threat to public health consequently to the veiculation of different *E. coli* pathotypes, as well as to the dissemination of resistance genes and genetic elements frequently associated with the expression of antimicrobial resistance. People in general, mainly children, the elderly, and patients under medical care that that consume such waters are at risk considering their low microbiological quality.

CNPq, CAPES, FAPEMIG, and PRPq/UFMG.

Método modificado de inactivación de carbapenémicos (MMIC) y método modificado de inactivación de carbapenémicos con EDTA (MMICE) para la detección de carbapenemasas

María T Ulloa¹, Claudia Ramírez², Camila Sanhueza¹, Francisca Valdivieso³, Teresa Torres³, Beatriz Hervé⁴, Catalina Cabezas⁴, Francisco Silva⁵, Virginia De La Lastra⁵. ⁽¹⁾ Programa Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Programa Formación de Especialistas Laboratorio Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ Laboratorio Microbiología H. Luis Calvo Mackenna, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽⁴⁾ Laboratorio de Microbiología, Clínica Las Condes, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽⁵⁾ Laboratorio de Microbiología H. Clínico Universidad de Chile, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL

La aparición de bacterias resistentes a los carbapenémicos es un problema a nivel mundial. En Chile, a partir del 2013 hemos evidenciado un aumento paulatino de cepas productoras de carbapenemasas. Actualmente se recomiendan varios métodos fenotípicos y moleculares para detección de carbapenemasas. Sin embargo, por diversas razones, detectar su presencia en aislamientos clínicos, sigue siendo un problema para muchos laboratorios de microbiología. El objetivo de este estudio es presentar un método de inactivación de carbapenémicos para la detección de carbapenemasas y una variante para diferenciar serino carbapenemasas de metalo- β -lactamasas. Se estudiaron 48 cepas: 29 carbapenemasa positiva y 19 carbapenemasa negativa mediante PCR. Las cepas correspondían a 41 Enterobacterias (*E. coli* 8, *K. pneumoniae* 26, *Enterobacter* spp 4, *C. freundii* 3) y 7 *P. aeruginosa*, aisladas de pacientes de distintos centros asistenciales de Santiago. El protocolo de detección de carbapenemasas fue el siguiente: se sembró una suspensión de *E. coli* ATCC 25922 McFarland 0.5 en agar Müller Hinton, se colocó un disco blanco estéril y sobre él se inoculó la cepa problema. Posteriormente se depositó un sensidisco de meropenem (10 μ g), se incubó por 18 hrs (MMIC). En la variante, se realizó el mismo procedimiento, pero al disco blanco se le agregó previamente 10 μ L de EDTA 5mM (MMICE). La ausencia o un halo <19mm se consideró cepa productora de carbapenemasa, un halo >19mm se consideró cepa no productora de carbapenemasa. En las cepas MMIC positiva, un aumento de halo > a 5mm en presencia de EDTA (MMICE) se consideró cepa productora de metalo- β -lactamasa. En las 48 cepas se obtuvo concordancia (100%) de los resultados obtenidos con MMIC y MMICE con relación a la detección de carbapenemasas mediante PCR. Los halos de inhibición obtenidos en las cepas carbapenemasa negativa fluctuaron entre 23mm a 28mm, mientras que las cepas positivas no mostraron halo. Las cepas MMIC negativas, dieron resultados MMICE contradictorios, por lo que se recomienda su uso sólo en cepas MMIC positivas. El método presentado es simple, económico y de fácil interpretación. Podría considerarse como alternativa de detección de carbapenemasas, sin embargo, se requiere ampliar el número de cepas para fortalecer estos resultados.

JU051

Avaliação da atividade antibacteriana dos óleos essenciais de três espécies do gênero *Cymbopogon* contra os patógenos *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*

Nedy Ramírez¹, Fábio Cassola¹, Camila Delarmelina², Duarte Marta Cristina². ⁽¹⁾ Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), Instituto de Biologia - Programa de Pós graduação em Biociências e Tecnologia de Produtos Bioativos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, BR ⁽²⁾ Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), División de Microbiología, Universidade Estadual de Campinas, Paulínia, BR

Os tratamentos de infecções provocadas por patógenos do gênero *Staphylococcus* estão se tornando cada vez mais difíceis. Estes micro-organismos têm desenvolvido mecanismos de resistência a os antibióticos de uso comum gerando altos custos no tratamento, aumento na disseminação das doenças infecciosas e o óbito. Ante este panorama surge à busca de alternativas de tratamento entre as quais se encontra a fitoterapia focada no uso de metabolitos secundários isolados de plantas medicinais como os óleos essenciais (OEs). O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* dos óleos essenciais extraídos das espécies *Cymbopogon citratus* (Stapf), *C. martini* (Roxb; Will. Watson) e *C. winterianus* (Jowitt), contra os patógenos *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *S. epidermidis* (ATCC 12228). A atividade antibacteriana dos OEs foi determinada pela Concentração Inibitória Mínima (CIM) através da técnica de microdiluição em placas de 96 poços. A composição química dos óleos essenciais foi determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Os três OEs mostraram efeito inibitório contra o crescimento de *S. epidermidis* e dois para *S. aureus*, sendo o *C. citratus* o óleo com melhor atividade bactericida e bacteriostática para as duas espécies de *Staphylococcus*. A composição dos OEs mostraram em comum os compostos β -pineno, carveol, *cis*-carveol, citrionelol, β -citrionelol, d-limoneno e nerol. Estes resultados constituem um importante avanço para a posterior inclusão destes óleos na elaboração de um produto farmacológico para combater infecções associadas à presença destes micro-organismos dada sua importância clínica e epidemiológica.

Avaliação do potencial antimicrobiano de Actinobactérias isoladas de ambientes brasileiros

Rafael Rangel¹, Alviano Daniela Sales², Alviano Celuta Alves², Rodrigo Nascimento¹, Fátima Vasconcelos²⁽¹⁾ Departamento de Engenharia Bioquímica, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, BR⁽²⁾ Instituto de Microbiologia Paulo Goés, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR

As actinobactérias compreendem atualmente um dos principais filios do domínio Bacteria, onde são subdivididos em cinco classes, sendo a Actinobacteriacea a mais importante, com 90% de todos os gêneros do filo. As actinobactérias são bactérias filamentosas Gram-positivas com grande potencial na produção de diversos metabólitos, como as enzimas, compostos antitumorais e compostos antimicrobianos. Assim sendo, o presente trabalho objetivou avaliar o potencial de diferentes linhagens de actinobactérias isoladas de diferentes ambientes brasileiros na produção de substâncias com ação antimicrobiana (SAM). 176 linhagens de actinobactérias isoladas de diferentes biomas brasileiros, como Cerrado, Mata Atlântica e Ambientes Costeiros foram testadas contra bactérias (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* MRSA, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae*) e leveduras (*Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*) de relevância médica. As actinobactérias foram crescidas em meio Agar Muller-Hinton, na forma de uma estria central, por 12 dias e após esse período, os microrganismos teste foram inoculados transversalmente e incubados a 35°C por 48 horas. Após esse período, duas linhagens de actinobactérias foram capazes de inibir todos os microrganismos e assim selecionadas para estudos posteriores. A linhagem AM6-12 foi crescida em meio glicerol-peptona por 10 dias a 28°C e após esse período, o sobrenadante foi separado da biomassa por filtração em papel de filtro (0,45 mm) e então transferido para discos de papel esterilizados (0,5 cm) em 3 concentrações diferentes (100, 150 e 200 mL). Os discos foram transferidos para a superfície do meio Agar Muller Hinton imediatamente inoculado com suspensão de células padronizada (0.5 escala McFarland) e incubado a 35°C por 36h. Após esse período os halos de inibição foram medidos e o potencial do extrato bruto na inibição de microrganismos patogênicos determinado. Os maiores halos de inibição foram observados para o MRSA (2,2 cm Ø) e *Enterococcus faecalis* (3,7 cm Ø). Os outros microrganismos teste (*Pseudomonas aeruginosa*, *Cryptococcus neoformans* e *Escherichia coli*) tiveram como resultado halos com diâmetro de 1,2; 0,7 e 1,3 cm, respectivamente. Não foi observado inibição contra *Candida albicans* e *Klebsiella pneumoniae*. É possível concluir que a linhagem AM6-12 possui um potencial biotecnológico na produção de compostos antimicrobianos.

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Tecnologia, Escola de Química, Departamento de Engenharia Bioquímica

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Ciências da Saúde, Instituto de Microbiologia

JU053

Fosfomicina trometamol: sensibilidad en *E. coli* aisladas de niños con cistitis y su rol en la eliminación de biofilms bacterianos

Luciana Robino¹, Virginia Gómez², María José González², Leticia Caiata^{1,3}, María Inés Mota^{1,4}, Adriana Varela⁴, Claudia Gutiérrez⁴, Gabriela Algorta⁴, Martín Notejane⁵, Julio Blanco³, Paola Scavone². ⁽¹⁾ Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, UY ⁽²⁾ Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, UY ⁽³⁾ Laboratorio de Bacteriología, Asociación Española Primera en Socorros Mutuos, Montevideo, UY ⁽⁴⁾ Laboratorio Central, Centro Hospitalario Pereira Rossell, Montevideo, UY ⁽⁵⁾ Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, UY

Antecedentes: Fosfomicina-trometamol es un antibiótico que actúa inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana. Si bien es un “viejo” antimicrobiano, ha reaparecido en el mercado como opción terapéutica de la infección urinaria (IU) baja no complicada en mayores de 6 años, fundamentalmente por microorganismos con resistencia a otros antibióticos. La sensibilidad a fosfomicina en niños en Uruguay no se conoce. *Escherichia coli* es el principal agente etiológico de IU, causando recurrencias en 20% de los niños. *E. coli* puede producir *biofilms* sobre el epitelio vesical o en materiales inertes como catéteres, dificultando su eliminación por el sistema inmune y los antibióticos. **Objetivos:** Determinar la sensibilidad de *E. coli* aislada de niños entre 6 a 15 años con cistitis aguda a fosfomicina trometamol y evaluar su actividad en *biofilms*. **Metodología:** Se incluyeron 117 cepas de *E. coli* y se estudió la susceptibilidad a fosfomicina-trometamol mediante disco difusión según CLSI 2017. En 44 cepas se evaluó la capacidad de formar *biofilm* “in vitro” mediante la técnica de cuantificación con cristal violeta. Posteriormente, los *biofilms* de 48 hs se expusieron a tres concentraciones de fosfomicina-trometamol (300, 700, 1500 µg/ml) por 24 h. En 2 cepas se estudió la actividad de la fosfomicina mediante microscopía confocal con tinción de vivas y muertas. **Resultados:** Ciento dieciséis /117 cepas estudiadas fueron sensibles a fosfomicina-trometamol. La cepa de *E. coli* con resistencia a fosfomicina asociaba resistencia a cefalosporinas con test fenotípico sospechoso de beta-lactamasas de espectro extendido. Esta cepa fue aislada de una niña de 6 años con IU recurrentes expuesta a antimicrobianos los meses previos. Fosfomicina-trometamol presentó una reducción significativa de la biomasa del *biofilm* en las 3 concentraciones testadas. Por microscopía confocal se pudo observar una reducción significativa del número de bacterias y disrupción del *biofilm* luego de 24 hs de exposición a fosfomicina, si bien persistieron en bajo número bacterias viables. **Conclusiones:** La sensibilidad de *E. coli* a fosfomicina-trometamol en niños con cistitis en Uruguay es elevada. Este antibiótico podría utilizarse para disminuir el *biofilm* bacteriano producido por *E. coli* en la IU.

Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC), Universidad de la República, Uruguay.

JU054

Comparación de la actividad antibacteriana del homopéptido de lisina de 11 residuos y sus scans de alanina, prolina, triptófano y leucina contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

F Guzmán¹, Mónica Aróstica¹, Roberto Rojas², Claudia Ojeda³, Sergio Marshall³, Luis Felipe Aguilar⁴, Patricio Carvajal-Rondanelli⁵. ⁽¹⁾ Núcleo de Biotecnología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL ⁽²⁾ Núcleo de Biotecnología, Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL ⁽³⁾ Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL ⁽⁴⁾ Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL ⁽⁵⁾ Escuela de Alimentos, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL

Los péptidos antimicrobianos (PAMs) son secuencias catiónicas cortas que juegan un rol clave en el sistema inmune de diferentes organismos y que surgen como una alternativa a los antibióticos convencionales, debido a su baja citotoxicidad y baja inducción de resistencia en el microorganismo blanco. En estudios previos nosotros determinamos que el homopéptido de Arginina de 11 residuos presenta un amplio espectro de actividad antibacteriana, convirtiéndolo en un modelo interesante de estudio. El homopéptido de Arginina (R11) al ser una secuencia repetitiva permite determinar de forma más precisa las posiciones donde la Arginina juega un rol central en la interacción con el blanco para así potenciar su actividad, utilizando Scans Alanina, Prolina, Triptófano y Leucina para determinar las posiciones y el efecto que tienen estas modificaciones en la actividad antibacteriana de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* comparados con R11. Todos los péptidos fueron obtenidos por síntesis en fase sólida Fmoc de acuerdo al método *tea-bag* de Houghten usando resina Rink amida. La caracterización y purificación de los péptidos fue realizada por HPLC y Espectrometría de Masas ESI-MS. El ensayo antibacteriano fue realizado por dilución en microplaca en medio TSB a 37°C a 10 y 20 µM. Todas las modificaciones centrales realizadas en R11 incrementaron el MIC de este homopéptido contra *Staphylococcus aureus*. En el caso de *Escherichia coli* no se observó alteraciones en la actividad del homopéptido en las sustituciones con Alanina y Prolina, mientras los cambios centrales con Leucina y Triptófano incrementaron el MIC. Este trabajo presenta evidencias de posiciones claves en la actividad antibacteriana en R11, que podrían utilizarse como modelos para potenciar el efecto antibacteriano en heteropéptidos y estudiar sitios claves de interacción de PAMs con las membranas bacterianas.

Proyecto financiado por FONDECYT 1140926.

Determinación del potencial antimicrobiano de bacterias aisladas desde el suelo antártico

Johanna Rojas¹, José I Costa¹, Macarena Varas¹, Rosalba Lagos¹, Andrés E Marcoleta¹⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL

Existen bacterias capaces de producir diferentes metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana, los cuales históricamente han sido utilizados para el desarrollo de fármacos y de aditivos para la conservación de alimentos. Actualmente, la búsqueda y estudio de nuevos compuestos antimicrobianos es una prioridad, debido a la creciente aparición de bacterias resistentes a múltiples antibióticos, la cual constituye un grave problema de salud pública a nivel mundial. Esto, ha motivado la exploración de lugares remotos con características ambientales extremas tales como la Antártica, debido a su demostrada diversidad microbiana y a que albergaría microorganismos que han desarrollado estrategias de supervivencia a condiciones extremas, adaptaciones que a menudo están acompañadas de la producción de metabolitos únicos. Considerando lo anterior, el objetivo de este trabajo fue el aislamiento e identificación de bacterias del suelo antártico que produzcan compuestos antimicrobianos potencialmente nuevos. Para ello, se colectaron muestras de suelo en distintas zonas de las Islas Shetland del Sur y de la Península Antártica, ya sea en áreas contiguas a asentamientos humanos (zonas humanizadas), o bien en zonas alejadas de la intervención humana (zonas prístinas). A partir de estas muestras y usando diferentes condiciones de crecimiento, se obtuvieron 100 aislados bacterianos, a los cuales se les evaluó la capacidad de producir sustancias antimicrobianas en 5 medios de cultivo diferentes. Como cepas indicadoras se usaron *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (resistente a beta-lactámicos de espectro extendido) y *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1705 (resistente a carbapenémicos). Se identificaron 27 aislados con actividad inhibitoria del crecimiento sobre *B. subtilis*. Además, se identificaron 2 aislados que mostraron actividad sobre *E. coli*, *S. Typhimurium* y ambas cepas multiresistentes de *K. pneumoniae*. Por otra parte, se identificaron 5 aislados con actividad sólo sobre *K. pneumoniae*. Los aislados con actividad antimicrobiana fueron clasificados filogenéticamente a nivel de género mediante la secuenciación del gen que codifica el RNA ribosomal 16S. Dichos aislados provienen tanto de lugares humanizados como prístinos, sugiriendo que la capacidad de producción de antimicrobianos no estaría mayormente influenciada por la intervención humana.

Financiamiento: INACH RT_51-16 y REDI170480 (A. Marcoleta)

JU056

Interacción entre compuestos polifenólicos de propóleos de la región del Biobío y efecto sobre la viabilidad y estructura de *Helicobacter pylori* in vitro

Mario Romero¹, Edgar Pastene², Apolinaria García¹, Carlos González¹. ⁽¹⁾Departamento de Microbiología, Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL⁽²⁾ Departamento de Farmacia, Laboratorio de Farmacognosia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Concepción, CL

Introducción: La infección por *H. pylori* continúa siendo un problema de salud pública a nivel mundial, especialmente por las fallas en el tratamiento antibiótico de erradicación con la terapia actual. Recientemente, la OMS ha informado en su lista de prioridad global de bacterias resistentes a antibióticos, que *H. pylori* se ubica en la lista de prioridad 2, por su alta resistencia a claritromicina. De aquí que el manejo de la infección por esta bacteria, haya derivado en la pesquisa de nuevos compuestos activos de fuentes naturales, como por ejemplo el propóleos que por sus conocidas propiedades antimicrobianas y composición química podría ser incluido como antimicrobiano en estrategias terapéuticas complementarias para este patógeno. **Objetivo:** Determinar si los polifenoles mayoritarios del propóleos tienen actividad anti-*H. pylori*, presentan efectos antibióticos en combinación y afectan la estructura celular bacteriana. **Métodos y Resultados:** Los polifenoles mayoritarios crisina, canferol, pinobansina-3-o-acetato, pinocembrina, galanagina y feniletil éster del ácido cafeico (CAPE) se identificaron mediante CPC, HPLC-DAD y TLC-MS Interface. Estos compuestos inhibieron cepas ATCC de *H. pylori* y una cepa clínica, por medio del ensayo de difusión en agar, siendo CAPE el más activo mientras que canferol y pinobansin-3-o-acetato, son menos activos. Los compuestos presentaron una concentración mínima inhibitoria (CMI) por el método de dilución en agar en el rango de 64 y 2048 µg mL⁻¹. La CMI en mezclas se evaluó por el método de tablero de ajedrez que al calcular el índice inhibitorio fraccionado FIC las mezclas de polifenoles presentaron mayor efecto de indiferencia, excepto crisina/galangina que fue sinérgica y pinocembrina/pinobansina-3-o-actetato efecto antagónico. Sin embargo, todas las mezclas mostraron una cinética de muerte similar a la del antibiótico control amoxicilina y el estudio por microscopía electrónica de transmisión indicó la formación de vesículas y lisis por exposición tanto a compuestos individuales como en mezclas. **Conclusiones:** Los polifenoles mayoritarios del propóleos tienen actividad anti-*H. pylori* individualmente y en mezclas, presentan mayoritariamente efecto de indiferencia y alteración de la estructura celular bacteriana.

Se agradece a los proyectos FONDECYT 1150948, FONDEQUIP EQM150025 y FONDEQUIP EQM 130209 y a la Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo, Universidad de Concepción, por los análisis de microscopía electrónica.



JU057

Monitoramento da incidência, impacto da resistência e terapia inapropriada na mortalidade de pacientes com infecções por *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos

Iara Rossi Gonçalves¹, Sabrina Royer¹, Campos Paola Amaral¹, Ferreira Melina Lorraine¹, Araújo Bruna Fuga¹, Melo Gabriel Nogueira¹, Deivid Batistão², Urzedo Jane Eire³, Gontijo-Filho Paulo¹, Ribas Rosineide Marques¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia Molecular, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, BR ⁽²⁾ Laboratório de Microbiologia Molecular, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, BR ⁽³⁾ Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, BR

Infecções hospitalares por *Acinetobacter baumannii* multirresistente (Ab-MR) representam grande ameaça à saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento. A incidência de Ab-MR se torna mais preocupante em unidades de terapia intensivas (UTIs), devido a dificuldades de tratamento e prescrição incorreta de antimicrobianos, contribuindo para o aumento da morbidade, mortalidade e custos. Descrevemos uma análise abrangente da epidemiologia de Ab-MR entre os anos de 2013-2017, com objetivo de determinar a incidência, fatores prognósticos e o impacto da terapia inapropriada na evolução de pacientes infectados. Usando a base de dados da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar, todas as informações clínicas e demográficas foram analisadas e o grupo de pacientes que evoluiu para óbito foi comparado com os que sobreviveram, para determinar os fatores de risco associados à mortalidade em 30 dias. Foi realizada reação em cadeia da polimerase para detecção de oxacilinases. Durante os 5 anos de estudo, foram incluídos 546 pacientes, totalizando 804 episódios de infecção por Ab-MR. A incidência de infecção por Ab-MR foi de 0,8/1000 pacientes-dia, associadas principalmente com infecções de trato respiratório (44%) e de corrente sanguínea (31%), com frequência elevada de pacientes internados na UTI (63%). Os fatores de risco associados à mortalidade em 30 dias foram o uso de ventilação mecânica, cateter venoso central, hemodiálise, presença de comorbidades e uso prévio de carbapenêmicos. Dos pacientes que evoluíram para óbito, 45% receberam terapia inapropriada. A curva de Kaplan-Meier evidenciou que o grupo de pacientes com amostras MR e que recebeu terapia inapropriada teve menor probabilidade de sobrevivência em relação àqueles com amostras extensivamente resistentes e terapia inapropriada. No mês de novembro de 2014, a incidência de Ab-MR /1000 pacientes-dia excedeu o limite de controle, caracterizando epidemiologicamente um surto no hospital. Foi observada alta frequência de isolados extensivamente resistentes, associados à presença do gene *blaOXA-23*. Em conclusão, este estudo evidencia alta incidência de infecção e mortalidade por Ab-MR, produtor de *blaOXA-23*, terapia inapropriada como um importante preditor de mortalidade, associada principalmente com fatores de risco extrínsecos. Esses achados sugerem a necessidade de monitoramento constante desses microrganismos no ambiente hospitalar.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)

JU058

Rol de los elementos tipo integrones en la dispersión de genes de resistencia a los antibióticos, asociados a la microbiota de invertebrados de tres ríos de Chile: Choapa, Maipo y Maule

Diego Ruiz Aravena¹, Anibal Araya Figueroa¹, Ignacio Campillay Hrzic¹, Mauricio Carter Montecinos², Jorge Olivares Pacheco¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL ⁽²⁾ Centro Nacional de Medio Ambiente, Universidad de Chile, Santiago, CL

El fenómeno de resistencia a los antibióticos representa una crisis global que afecta por completo el desarrollo de la sociedad humana. Este fenómeno no puede entenderse totalmente sin situarlo en un contexto evolutivo y ecológico, en el cual, los integrones tienen un rol fundamental dado que representan un sistema altamente eficiente. Estos elementos son capaces de captar e integrar genes exógenos, permitiendo que la bacteria los asimile en su genoma o bien los incorpore en plásmidos móviles, y los exprese correctamente o transfiera a otras bacterias, permitiendo la rápida diseminación de elementos de resistencia a los antibióticos, metales pesados o cualquier sustancia tóxica que afecte su supervivencia. Para realizar esta búsqueda, se purificó el ADN de 186 muestras de invertebrados obtenidos en los ríos Choapa, Maipo y Maule, para luego amplificar por PCR el gen *int1*, que codifica para la integrasa tipo 1, característica de los integrones de clase 1. Además, se determinó la presencia de los genes *sul1* y *qacΔE*, elementos también característicos de los integrones de clase 1. Adicionalmente, se amplificó la zona variable de estos integrones. Las secuencias se analizaron con herramientas bioinformáticas de la base de datos BLAST y CARD. Los resultados indican la presencia de un 44,9%, 68,9% y 65,6% de muestras con integrón 1 positivo en los ríos Choapa, Maipo y Maule, respectivamente, las cuales se confirmaron por secuenciación del gen *int1*. Por otra parte, en las regiones variables de los integrones tipo 1 se han encontrado genes de resistencia como *aac(6')-ib7*, *dfrA14* y *dfrA5* confirmados por secuenciación y análisis bioinformático. Existe una alta prevalencia de integrones tipo 1 y la presencia de genes de resistencia a los antibióticos ampliamente conservados en las estructuras de este tipo de elementos. El análisis completo de los elementos tipo integrones en la microbiota de invertebrados obtenidos en tres ríos de Chile altamente afectados por la actividad humana, tiene una gran importancia para comprender el grado de impacto que tienen estos ríos respecto al fenómeno de resistencia. Este estudio constituye el primer acercamiento para medir el impacto del elevado uso de antimicrobianos en los ríos de Chile.

FONDECYT 11150858

JU059

Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de *Citrus paradisi*, *Schinus molle* L. y *Tagetes elliptica* Smith

Julio Reynaldo Ruiz¹. ⁽¹⁾ Microbiología y Parasitología Básica y Aplicada, Farmacia y Bioquímica, Nacional Mayor de San Marcos, Lima, PE

Las enfermedades infecciosas representan un problema crítico de salud y una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, en especial debido al incremento de la resistencia antimicrobiana, por ejemplo debido a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. El Perú posee una cultura muy antigua respecto al uso de las plantas medicinales, entre ellas *Schinus molle* L. (molle) y *Tagetes elliptica* Smith (chincho) y *Citrus paradisi* (toronja). El objetivo del trabajo de investigación fue determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de los aceites esenciales de las hojas de *Schinus molle* y *Tagetes elliptica* Smith y de la cáscara de *Citrus paradisi* contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Las plantas fueron recolectadas en el departamento de Lima (Perú). Los aceites esenciales se obtuvieron por el método de hidrodestilación. La determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se realizó por el método de microdilución en placa, siguiendo el método modificado de Sarker S. et al. Para los ensayos los aceites esenciales se prepararon en las concentraciones de 0,078–40 $\mu\text{L}/\text{mL}$ y se usó como control positivo a ciprofloxacino. Los aceites esenciales de *Schinus molle* L. y *Tagetes elliptica* Smith tuvieron un CMI de 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$ y 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ respectivamente y de $> 40 \mu\text{L}/\text{mL}$ de *Citrus paradisi* contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Los aceites esenciales de *Schinus molle* L. y *Tagetes elliptica* Smith tuvieron un CMI de 0,3125 $\mu\text{L}/\text{mL}$ contra *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, y el de *Citrus paradisi* tuvo un CMI de 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Todos los aceites esenciales ensayados tuvieron un CMI $> 40 \mu\text{L}/\text{mL}$ contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Las diversas actividades antibacterianas halladas de los aceites esenciales se pueden deber a la composición química de los mismos. Nuestros resultados permiten concluir que los aceites esenciales estudiados tienen actividad contra *S. aureus* y *S. epidermidis*, y no tienen actividad contra *P. aeruginosa*.

Al VRI-UNMSM por el financiamiento al proyecto

Actividad del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* frente a biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* formadas sobre lentes de contacto blandos

Katherine Charri¹, Cynthia Huamán¹, **Maria Salazar**^{2,3}.⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología, Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, PE ⁽²⁾ Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, PE ⁽³⁾ Departamento de Microbiología y Parasitología, Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, PE

Los lentes de contacto cada día tienen más usuarios a nivel mundial, sin embargo, se considera probable factor de riesgo de algunas infecciones oculares como la queratitis asociada a los géneros *Staphylococcus* y *Pseudomonas* entre otros. *S. aureus* es un patógeno causante de infecciones asociadas al uso de biomateriales y la formación de biopelículas está asociada con su virulencia. *P. aeruginosa* es una bacteria muy versátil metabólicamente, posee múltiples factores de virulencia, y es un microorganismo modelo para la formación de biopelículas y, los lentes de contacto, ofrecen una superficie apropiada para este tipo de colonización. *Cinnamomum zeylanicum* “canela” se usa principalmente en gastronomía, pero también se le atribuye propiedades antibacterianas. El presente trabajo tuvo como objetivo evidenciar la actividad del aceite esencial de *C. zeylanicum* frente a biopelículas de *P. aeruginosa* y *S. aureus* formadas en lentes de contacto blandos. Para ello, se eligió la concentración de 4xCMi, al comprobar mejor efecto en las curvas de crecimiento y viabilidad para cada microorganismo (1,25 mL/mL y 0,625 mL/mL para la cepa clínica y ATCC de *S. aureus* respectivamente, y de 5 mL/mL para *P. aeruginosa* clínica y ATCC). Como control se empleó una solución multipropósito comercial. La actividad durante la formación de las biopelículas se evaluó a las 2, 4 y 8 horas, y la actividad sobre biopelículas maduras, a las 24 horas. Se evidenció mejor actividad del aceite esencial en la reducción de la formación de biopelículas y de biopelículas maduras de ambas bacterias con respecto al control; demostrando mejor actividad frente a *P. aeruginosa* ATCC 9027 a las 2 horas, con una reducción de 18,25 % más que el control, mientras que en las biopelículas maduras, el aceite esencial también mostró mejor actividad frente a ambas bacterias, logrando reducir 24,85 % más las biopelículas de *S. aureus* ATCC 25923 en comparación al control. Se puede concluir, que el aceite esencial de *C. zeylanicum* “canela” presenta actividad inhibitoria frente a biopelículas de *P. aeruginosa* y *S. aureus* formadas en lentes de contacto blandos.

Se agradece el apoyo financiero del VRIP-UNMSM para la realización del presente trabajo con código A17040154b.

Estudio del mecanismo de acción del dominio alfa hélice de IL-8 de salmónidos sobre *Escherichia coli*

Paula Santana¹, Mónica Aróstica², Roberto Rojas³, Luis F Aguilar ³, Fanny Guzmán². ⁽¹⁾ Instituto de Ciencias Químicas Aplicadas, Ingeniería, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Núcleo de Biotecnología Curauma, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL ⁽³⁾ Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL

Los péptidos antimicrobianos (AMPs), son una excelente alternativa para ser utilizados como agentes terapéuticos dado que son capaces de interactuar con las membranas microbianas, poseen propiedades inmunomodulatorias, son compatibles con el medio ambiente, entre otras. En salmónidos se han descrito AMPs y nuestro grupo de investigación ha identificado AMPs derivados del extremo C-terminal de la quimioquina IL-8 de salmónidos, que poseen actividad antibacteriana frente a bacterias Gram negativo. Sin embargo, aún se desconoce la relación entre la estructura del dominio alfa hélice de IL-8 (IL-8 α) y su función citolítica en bacterias. Es por ello que este trabajo se centró en estudios a nivel estructural de IL-8 α de Trucha arcoíris y Salmón del atlántico sobre *Escherichia coli* (*E. coli*), mediante dicroísmo circular y espectrometría de fluorescencia. Para lograr el objetivo propuesto, se sintetizaron péptidos de 17 residuos derivados de IL-8, a los cuales se les determinó la estructura secundaria en presencia de extractos de membranas de *E. coli*. Los resultados obtenidos mostraron que ambos péptidos pierden su estructura en presencia de estos extractos. Adicionalmente se analizó la estructura de estos péptidos variando la temperatura entre los 5 y 40°C, así como el pH a 5 y 7. Al variar la temperatura ambos péptidos mostraron estructura alfa hélice, cuya propensión estructural disminuye con el aumento de temperatura indicando una posible desnaturación de esta hélice mediada por la temperatura. Frente a cambios de pH, ambos péptidos en medio ligeramente ácido o básico mostraron una predominancia de la estructura secundaria *random coil*. Finalmente, se evaluó la influencia de los péptidos IL-8 α , en las propiedades físicas de los extractos de membrana de *E. coli* a través de espectroscopía estacionaria, utilizando 1,6-difenil-1,3,5-hexatrieno y 6-lauroil-2-dimetilaminonaftaleno como sondas fluorescentes. Los resultados mostraron que los péptidos afectan ligeramente el microambiente de la membrana de lípidos, encontrándose preferencialmente a nivel superficial de la membrana lipídica y es en esta zona donde establecen su efecto antibacteriano. Este estudio presenta evidencias del potencial mecanismo de acción de péptidos de IL-8, lo cual representa un avance en el conocimiento para el desarrollo de futuras terapias antimicrobianas.

FONDECYT POSTDOCTORAL 3150678 Y FONDECYT DE INICIACIÓN 11170244 Beca Doctorado PUCV 2018

Asociación entre los niveles de expresión de genes que codifican bombas de expulsión tipo ABC con la resistencia a levofloxacin en aislamientos clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* multirresistente (MDR) y con resistencia extendida (XDR)

Jenny Santiago¹, Nataly Alvarez², Verónica Gómez³, Jaime Robledo⁴, Francois Rouzaud⁵. ⁽¹⁾ Antioquia, Facultad de Medicina, Universidad CES- Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, CO ⁽²⁾ Antioquia, Universidad Pontificia Bolivaria- Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, CO ⁽³⁾ Antioquia, Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, CO ⁽⁴⁾ Antioquia, Facultad de Medicina, Universidad Pontificia Bolivaria- Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, CO ⁽⁵⁾ Sait-etienne, Equal Opportunity Life Sciences ? EQUOLS, Sait-etienne, FR

Introducción: La levofloxacin es una fluoroquinolona recomendada por la OMS como un medicamento de segunda línea para tratar la tuberculosis multifármaco-resistente. La falta de adherencia al tratamiento, así como el incremento del uso de la levofloxacin en el tratamiento de una variedad de infecciones bacterianas han llevado a la aparición de aislamientos TB-MDR. La resistencia a fluoroquinolonas se caracteriza principalmente por mutaciones en los genes *gyrA* y *gyrB* que codifican las subunidades de la ADN girasa. Sin embargo, entre 15-60% de aislamientos resistentes a fluoroquinolonas no presentan mutaciones en éstos, sugiriendo otros mecanismos implicados, tales como las bombas de expulsión tipo ABC. **Objetivo:** determinar si las bombas de expulsión tipo ABC de *Mycobacterium tuberculosis* están involucradas en el desarrollo de fenotipos resistentes a levofloxacin. **Metodología:** A tres aislamientos multirresistentes y tres con resistencia extendida se les realizó Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) a levofloxacin y se determinaron polimorfismos en *gyrA/gyrB* y 17 genes que codifican proteínas transportadoras ABC. Adicionalmente, se realizó un microarreglo para determinar los niveles de expresión de estos 17 genes al tratar los aislamientos con 1 µg/mL (Multirresistentes) y 2 µg/mL (Resistencia extendida) de levofloxacin. **Resultados:** Las CIM para LVX de los 3 aislamientos MDR fue <0,25 µg/mL y para los XDR estuvo entre 4 y 8 µg/mL. Ningún aislamiento presentó mutaciones en *gyrB* y dos aislamientos XDR presentaron las sustituciones D94G y S91P en *gyrA*. Un aislamiento XDR no presentó mutaciones en *gyrA* pero sí en los genes Rv0194 (P1098L) y Rv1458c (T133A), los cuales estuvieron sobre-expresados (Fold-Chance 11) y sub-expresados (Fold-Chance 12) respectivamente en los aislamientos XDR. Dos aislamientos XDR presentaron la mutación Q243R en el gen Rv1218c el cual estuvo sub-expresado con un Fold-Chance 12. **Conclusión:** El análisis desarrollado en este trabajo permite hacer una aproximación sobre la participación de las bombas de expulsión tipo ABC como mecanismo de resistencia en aislamientos clínicos de MTB-XDR con resistencia fenotípica a levofloxacin. Es necesario plantear estudios posteriores para lograr un tamaño de muestra más significativo, que logre definir cuáles son los polimorfismos en proteínas transportadoras tipo ABC que se asocian con resistencia a fluoroquinolonas específicamente a la levofloxacin.

Colciencias: Código del proyecto 221371250788

JU063

Disseminação da resistência a carbapenêmicos por meio de esgoto de fontes variadas no Brasil: Uma abordagem metagenômica para amostras provenientes de hospitais, criação animal e efluentes domésticos

Jéssica Santiago¹, Maria Inês Zanolli Sato⁵, Carlos Jesus Brandão², Terezinha Knöbl⁴, Marcos Paulo Vieira Da Cunha⁴, André Andrade⁴, Denis Hideki Nakasone⁴, Gesiane Ribeiro³, Ronalda Araújo⁵, Marcio Luiz Fernandes⁷, Nilton Lincopan⁶, Aline Montenegro¹, Geysel Cardoso¹, Maria Tereza Razzollini¹, Milena Dropa¹. ⁽¹⁾ Saúde Ambiental, Faculdade de Saúde Pública - USP, Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, BR ⁽²⁾ Amostragem, CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, São Paulo, BR ⁽³⁾ Hospital Veterinário, Hospital Veterinário das Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo, BR ⁽⁴⁾ Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, São Paulo, BR ⁽⁵⁾ Microbiologia, CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, São Paulo, BR ⁽⁶⁾ Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas da USP, São Paulo, BR ⁽⁷⁾ Diretoria, SABESP - Companhia de Saneamento Básico do Estado de SP, São Paulo, BR

Introdução: Compostos carbapenêmicos estão entre as últimas opções terapêuticas para infecções por bacilos Gram negativos multirresistentes, porém a produção bacteriana de enzimas carbapenemases leva à resistência a essas drogas. O esgoto possui um grande potencial para a disseminação de resistência, facilitando a transferência horizontal de genes entre as bactérias. O objetivo deste estudo foi detectar a presença das carbapenemases OXA - 48, KPC, VIM, NDM, IMP e SPM - 1 em amostras de efluentes brutos e tratados de diversas fontes usando uma abordagem independente de cultivo, já que a maioria das bactérias não são cultiváveis. **Métodos:** Foram coletadas 48 amostras de 500 mL de esgoto proveniente de uma estação de tratamento de esgoto (ETE) (esgoto bruto, efluente secundário e água de reuso), um hospital humano, um hospital veterinário e uma fazenda de criação animal. As amostras foram filtradas em membranas de 0,45µm e o DNA foi diretamente extraído por meio de kit comercial. A pesquisa dos genes codificadores de OXA-48, KPC, VIM, NDM, IMP e SPM-1 foi realizada por meio de PCR e confirmada por sequenciamento. **Resultados:** OXA-48 e KPC foram detectadas em 11 amostras (22,9%) cada, ambas presentes na ETE (esgoto bruto, efluente secundário e água de reuso), hospital humano e hospital veterinário. O grupo OXA-48 estava presente também em amostras de criação animal. Genes *bla*VIM foram detectados em 17 amostras (35,4%), em todos os pontos de coleta, inclusive água de reuso. SPM-1 foi detectada em 10% das amostras, somente na fazenda de criação animal, o grupo IMP foi detectado em 6% das amostras, em hospital humano e na ETE (esgoto bruto), e o grupo NDM estava presente em uma amostra de hospital humano. **Conclusão:** Os resultados mostram a disseminação de genes de resistência a antimicrobianos que representam uma das últimas opções terapêuticas para infecções graves, por meio de esgoto de cenários variados, incluindo efluentes tratados que serão reutilizados ou descartados na natureza. A prevenção da disseminação da resistência antimicrobiana deve pautar-se na conscientização de que todos os campos de conhecimento, trabalho e produção são responsáveis e precisam estabelecer políticas eficazes para reduzir esse alarmante problema de saúde pública.

Financiado pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP

Número do processo: 2016/06469-9

Perfil de sensibilidade de bactérias esporuladas, isoladas de leite cru, a antimicrobianos veterinários

Santos Alisson CA¹, Alves Bruno K¹, Araújo Lorena G¹, Cesar Kellyane KF A¹, Nascimento Maria PS¹, Santos João VCO¹, Silva Tatiane A¹, Lopes Joyce BA¹, Calvet Rodrigo M¹, Oliveira Kleydejany LL². ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia do IFMA - Campus Caxias, IFMA - Campus Caxias, IFMA, Caxias, BR ⁽²⁾ Laboratório de Microbiologia do IFMA - Campus Maracanã, IFMA - Campus Maracanã, IFMA, São Luís, BR

Apesar de as bactérias formadoras de esporos terem incidência relativamente menor na microbiota do leite, estas são importantes contaminantes deste produto por conta da sua habilidade de resistir à temperatura de pasteurização. Devido à ampla utilização de antimicrobianos no tratamento e prevenção de enfermidades em vacas leiteiras, o leite torna-se muito suscetível à contaminação por resíduos antimicrobianos e conseqüentemente seleção de bactérias resistentes. Quando presentes em abundância na cadeia alimentar, bactérias resistentes a antimicrobianos podem prejudicar futuras opções de tratamento para diversas infecções. Diante desse contexto o presente trabalho teve o objetivo de avaliar o perfil de sensibilidade de bactérias aeróbias formadoras de esporos, isoladas de leite cru de regiões do estado do Maranhão, Brasil, a medicamentos antimicrobianos veterinários; verificando o potencial de resistência apresentado por elas. Foram feitas duas visitas em cada farmácia agropecuária do município de Caxias, Maranhão para a pesquisa da variedade dos medicamentos utilizados na prevenção e tratamento da mastite. A partir deste levantamento foram adquiridos nove medicamentos das farmácias agropecuárias, sendo eles: um a base de cefalotina sódica, dois de gentamicina, dois de oxitetraciclina dihidratada; um de oxitetraciclina base; um combinado de penicilina G, dihidroestreptomicina e neomicina; e dois combinados de penicilina G e dihidroestreptomicina. Os testes foram realizados através da técnica de difusão em discos de papel filtro impregnados com 10 µL do medicamento na concentração original em placas contendo ágar Müller Hilton, as quais foram posteriormente incubadas em estufa a 35 ± 2°C por 24 horas. A interpretação dos halos de inibição foi realizada de acordo com os critérios estabelecidos pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Foram testadas seis cepas, sendo duas delas identificadas como *Bacillus* sp.; duas como *Brevibacillus borstelensis*; uma como *Bacillus tequilensis*; e outra como *Brevibacillus* sp. Todas as cepas bacterianas testadas mostraram sensibilidade a todos os antimicrobianos utilizados. A presença de bactérias resistentes no leite representa uma preocupação quanto ao controle de qualidade deste produto, pois pode ser um indicativo de falhas na administração de antimicrobianos nos animais produtores de leite.

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão

JU065

Secondary metabolites from marine microorganisms with bioactivity against pathogenic bacteria

Nicole Sartori Ribeiro¹, Melissa Landell², Macedo Alexandre José¹. ⁽¹⁾ Centro de Biotecnologia, Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR ⁽²⁾ Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, BR

Biofilms are communities of microbial cells enclosed in a self-produced matrix of exopolymeric substances (EPS). This microbial lifestyle allows the bacteria to attach biological or non-biological surfaces, such as medical devices, being able to survive in hostile environments and colonize new niches. Biofilms are associated with 80% of microbial nosocomial infections and play an important role in bacterial defense against antibiotic agents. In this scenario, antivirulence therapies are being developed as an alternative to classical antimicrobial agents, since it aims to find new compounds capable to inhibit virulence mechanisms instead of killing the microorganisms (main responsible for bacteria resistance acquirement). In this context, marine molecules have been highlighted by their effectiveness against bacterial virulence factors, including biofilm. Thus, this work aims to identify new bioactive metabolites from marine microorganisms with antibiofilm and/or antibacterial activity. We started a screening with four marine bacteria (called BMPV 26, BMPV Mel, Bac 208 and Bac 210) isolated from marine sponges that were collected in Alagoas (AL) and Santa Catarina (SC), Brazil. Initially, we grown the bacteria in marine broth (Difco) for different incubation times (24h, 48h, 72h and 96h). Then, the supernatant was ultra filtrated with Amicon Ultra-15 Centrifugal Filter Units (Millipore) to separated molecules >10kDa. The filtrates >10kDa were tested for activity by bioassay against three strains of pathogenic bacteria (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*). Filtrate from BMPV Mel (0.1 mg/mL) presented antimicrobial activity (54%) in 48 and 72 h for *P. aeruginosa*. BMPV 26 showed antibiotic activity against *S. aureus* in 48, 72 and 96h (50%). Bac 208 and Bac 210 also had effect over *S. aureus*; however, they presented antibiofilm instead of antibiotic activity. It was more evident with Bac 208 filtrate (70%) that also showed potential to eradicate mature biofilm (70%). Therefore, our next steps include perform an organic extraction assay to separate aqueous and organic phases, isolate and purify the bioactive compounds.

Financial support: CAPES, CNPq, FAPERGS.

Estudio del perfil metabólico y genómico para la identificación de compuestos antimicrobianos de actinomicetes marinas chilenas

Néstor J Serna-Cardona¹, Leonardo Zamora ¹, Andrés Cumsille¹, Agustina Undabarrena¹, Beatriz Cámara¹. ⁽¹⁾ Centro de Biotecnología Dr. Daniel Alkalay Lowitt. CB-DAL, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL

El uso indiscriminado de antibióticos ha potenciado las condiciones favorables para que microorganismos resistentes sean seleccionados. La comunidad científica actualmente dirige sus esfuerzos hacia la búsqueda de nuevos compuestos antibióticos, lo cual se traduce en la necesidad de identificar moléculas bioactivas con estructuras químicas novedosas. Chile presenta características geográficas únicas, con ecosistemas extremos que albergan microorganismos únicos con rutas biosintéticas especialmente adaptadas para orquestar los cambios metabólicos necesarios para su supervivencia. Específicamente, los actinomicetes marinos han despertado interés debido a que son fuentes emergentes de compuestos antibióticos con estructuras químicas poco comunes. Nuestro grupo ha trabajado en la bioprospección de actinomicetos marinos chilenos, con la finalidad de investigar su potencial biotecnológico para la producción de productos naturales, llegando a obtener una colección de 30 géneros de actinomicetes, las cuales presentaron actividad antimicrobiana frente bacterias patógenos modelo. Además, extractos obtenidos por fermentación de los actinomicetes promisorias analizados a través de espectroscopia de masas de alta resolución (LC-HRMS), evidenciaron que el 37% de los metabolitos identificados no presentaron *match* con los patrones de fragmentación de metabolitos conocidos consignados en el Diccionario de Productos Naturales. Nuestros resultados validan la enorme diversidad estructural que nuestra colección posee. A su vez, en estos extractos se lograron identificar al menos 10 compuestos antibióticos conocidos, entre los cuales resalta la Suguramida A, un octapéptido cíclico aislado de una *Streptomyces* marina del pacífico Norte. Este metabolito alberga dentro de su estructura una configuración aminoacídica única de D-L aminoácidos alternados. Más aún, mediante el análisis de secuenciación de genomas, estos resultados químicos son validados por la identificación de los agrupamientos de genes biosintéticos (BGCs) responsables de su síntesis, predichas *a priori* por su secuencia nucleotídica. La combinación de estos resultados deja entrever la posibilidad de encontrar estructuras químicas novedosas en extractos antibióticos de actinomicetes marinos chilenos. En síntesis, la estrategia combinada del análisis del secretoma por técnicas analíticas, sumado a la predicción de BGCs por herramientas bioinformáticas, permite un reconocimiento aproximado del metaboloma y su potencial utilización como reservorio de compuestos antibióticos novedosos.

Financiamiento: Beca CONICYT de doctorado 21181274, FONDECYT Regular 1171555, proyecto ANILLO ACT172128.

JU067

LyeTxI-b, a modified synthetic compound derived from the *Lycosa erythrognatha* spider venom, is effective to treat resistant bacterial keratitis

Silva Carolina Nunes Da¹, Silva Flávia Rodrigues¹, Dourado Lays F Nunes¹, Reis Pablo V Mendes², Silva Rummenigge Oliveira¹, Costa Bruna Lopes Da¹, Almeida Flávio Amaral¹, Santos Vera Lúcia Dos³, De Lima Maria Elena², Armando Silva Cunha Jr¹. ⁽¹⁾ Produtos farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR ⁽²⁾ Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR ⁽³⁾ Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR

Background: Bacterial keratitis is a serious ocular infectious disease in the world that can lead to severe visual disability. *Staphylococcus aureus* is a major bacterial pathogen of the eye, being often found in areas around the eye that's facilitates its infection. Recent studies by our group demonstrate that the synthetic peptide, LyeTxI-b, derived from the spider, *Lycosa erithrognatha*, has a potent antimicrobial activity. **Objectives:** In the present work the action of a topical formulation (eye drops) containing LyeTxI-b for treatment of resistant bacterial keratitis was evaluated. **Methods:** The induction of keratitis was performed on New Zealand White rabbits, healthy and without ocular problems. As inoculum, were used a *Staphylococcus aureus* strain resistant to penicillin, erythromycin and ampicillin obtained from human ocular sample, processed in a diagnostic laboratory. To induce keratitis, the bacterial inoculum was adjusted with 0.9% non-bacteriostatic isotonic sodium chloride solution to achieve the same density as a 0.5McFarland standart (1×10^8 colony-forming units/mL), 4 μ L was administered by intrastromal injection. The minimum inhibitory concentration (MIC) and biofilm viability by resazurin assay for topical LyeTxI-b formulation was determined. To evaluate the ocular toxicity of LyeTxI-b, chorioallantoic membrane and Draizze test were performed. After 24 hours of induction of keratitis, the treatment was started. One drop of the formulation (LyeTxI-b 16 μ g - 0.5% CMC in 0.9% NaCl) was instilled in each eye 4-times each day, for a week. Analyses by biomicroscopy in Slit-lamp were done daily. In addition, histopathological studies of the cornea and quantification of cellular infiltrate through detection of myeloperoxidase (MPO) and N-acetylglicosaminidase (NAG) were analyzed. **Results and Conclusions:** The results showed that LyeTxI-b was very effective in the treatment of keratitis and topical formulation showed no signs of ocular toxicity. The MIC was 2 μ g and biofilms treated with LyeTxI-b demonstrated reduced viability. It was possible to observe the elimination of the bacterium and also the reduction of the inflammatory cellular activity. The levels of NAG and MPO were similar to the healthy animal after LyeTxI-b treatment. In conclusion, LyeTxI-b proved to be promising in the treatment of resistant bacterial keratitis, being a potent antimicrobial and may be anti-inflammatory agent.

Funding by: FAPEMIG e INCT-Nanofarma/CNPq

Identificação molecular de genes de resistência à fármacos β -Lactâmicos e detecção de grupos de incompatibilidade plasmidial em bactérias de origem clínica

Aquino Alana Fernanda Silva De¹, Silva Telma De França Carvalho¹, Nascimento Ozana Martins De Oliveira¹, Ferreira Rômulo Maia¹, Monteiro Joveliane De Melo¹, Galvao Stanley De Sousa Lima², Farah Emmanuelli Iracema¹, Bomfim Maria Rosa Quaresma², Monteiro Andrea Souza De¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia Aplicada, Universidade CEUMA, São Luís, BR ⁽²⁾ Laboratório de Biologia Molecular de Microrganismos Patogênicos, Universidade CEUMA, São Luís, BR

A problemática da resistência bacteriana estende-se ao mundo inteiro, pois os microrganismos têm adquirido formas resistentes para escapar da ação terapêutica dos fármacos antimicrobianos. O objetivo deste trabalho foi identificar o perfil de suscetibilidade à antimicrobianos e determinar por reação da cadeia da polimerase (PCR) genes associados a enzimas beta-lactamases em bactérias de origem clínica em linhagens da família *Enterobacteriaceae*, obtidas de amostra de pacientes em um hospital de São Luís, Maranhão. O perfil de suscetibilidade a drogas antimicrobianas das linhagens bacterianas foi determinado pelo sistema automatizado VITEK 2. Neste estudo foi observado que 64 (100%) linhagens de bactérias apresentaram resistência para os fármacos ampicilina, ampicilina/sulbactam, cefazolina, ceftriaxona, cefoxitina, cefuroxima. Em relação à sensibilidade, o maior percentual foi apresentado para os fármacos amicacina, polimixina B e sulfametoxazol/trimetropim, com valores de 72,02%, 95,24 e 96,82%, respectivamente. Das 64 amostras analisadas, 4 (2,56%) apresentaram genes de resistência para os genes de enzimas metalo β -lactamases, dentre estas, 3 positivaram para o gene *blaVIM-1* (para enzima Verona Imipenemase-1) e para o gene *blaNDM-1* (para a enzima New Delhi- β - lactamase). Para os genes de enzimas oxacilinas, representadas pelas enzimas OXA-1, OXA-23, OXA-24, OXA-51 e OXA-58, foram observaram 11 amostras positivas, das quais 6 amostras corresponderam a 3,84% (n) para os genes *blaOXA-23* (n) e 3,20% para OXA-58. Também foram observadas 22 amostras positivas para os grupos de incompatibilidade plasmidial (Inc), sendo que o que o grupo IncA/C foi o mais prevalente, sendo detectado em 8 (5,12%) amostras, seguido pelo IncFIIA com 4, (2,56%) das amostras analisadas. Para as β -lactamases SHV, Cefotaxime enzyme (CTX-M) Temoniera (TEM) e Ampicilina enzyme (AmpC) não foram observados resultados positivos. O estudo demonstrou uma alta prevalência de genes de resistência aos antimicrobianos em amostras clínicas de bactérias gram-negativas em São Luís. Os isolados apresentaram genes que levam a resistência como *blaOXA-23*, *blaNDM*, *blaKPC2* e *blaGES*, além dos plasmídeos de incompatibilidades (Inc) IncFIA, IncFIC, IncN, IncA/C, IncHI2, IncY, IncF e presença de plasmídeos conjugativos que facilitam a disseminação de genes de resistência levando a um problema de saúde pública.

Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão - FAPEMA.



JU069

Target-Pathogen: a bioinformatic tool to prioritize proteic drug targets in pathogens

Ezequiel Jorge Sosa¹, German F Burguener¹, Andrés Fernández Benevento¹, Federico Serral¹, Marcelo Martí¹, Adrian G Turjanski¹, Dario A Fernandez Do Porto¹. ⁽¹⁾ Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, CABA, AR

The successful use of antibiotics has been facing challenges because microbial pathogens are developing various forms of resistance in the last decades. Despite this critical situation, new drug development projects have been inadequate for reasons ranging from bad selection of targets to reduced antimicrobial drug discovery efforts by pharmaceutical companies. Currently, it is accepted that identification and validation of appropriate targets are critical steps for designing new drugs. Here, we present Target-Pathogen (<http://target.sbg.qb.fcen.uba.ar/patho>), an online database that allows genome wide target ranking and identification. It integrates essentiality, metabolic role, functional annotation, structural druggability data, and allows data upload for other experimentally obtained or other calculated properties. Also, it permits each user to define a scoring function, to sort / prioritize their protein or pathways search results, according to all the integrated data. In this work we will share our last target prioritization study in *Klebsiella pneumoniae* KP13, where Target-Pathogen gave full support to the methodology followed. Twenty-nine proteins with desirable characteristics from a drug development perspective were shortlisted, which participate in important processes such as lipid synthesis, cofactor production, and core metabolism. Among that results, we highlight *fabB*, *fabI* and *fabH* genes, a subset of the fatty acid elongation pathway and *lpxC*, involved in the first two steps of lipid A biosynthesis.

Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica [ANPCyT, PICT-2015–1863 to D.F.D.]

JU070

Evaluación de la actividad antiviral contra el virus Herpes Simplex 1 de extractos vegetales por qPCR.

Samuel Gabaglio³, Guadalupe Cantero González³, Gloria Maíz-Galeano³, Jonás Chnaiderman¹, Nelson Alvarenga², **Pablo Hernán Sotelo**³. ⁽¹⁾ Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Fitoquímica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, PY ⁽³⁾ Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, PY

El Herpes simplex virus 1 es uno de los principales patógenos virales a nivel mundial, se estima que entre el 60% a 95% de la población mundial se encuentra infectada. Este virus causa infecciones latentes que se manifiestan con lesiones recurrentes que comprometen la piel, la boca, los labios, los ojos y los genitales. Las infecciones graves son la encefalitis, la meningitis, el herpes neonatal y, en pacientes inmunodeficientes, la infección generalizada. El aciclovir es el principal tratamiento utilizado, sin embargo su uso prolongado en pacientes inmunosuprimidos ha llevado a la aparición de cepas resistentes. Ante esta situación se requieren urgentemente nuevas alternativas de tratamiento. Se conoce, a nivel de la medicina tradicional, la existencia de plantas con propiedades medicinales ampliamente utilizadas en el tratamiento de diversas patologías, muchas de las cuales han sido notificadas presentan una fuerte actividad antiviral. Así, éstas constituyen una muy buena fuente de para la obtención de nuevos antivirales. Los ensayos disponibles para la evaluación de la actividad antiviral, mayormente involucran el ensayo de reducción en placa de lisis, una técnica laboriosa y necesita periodos de tiempos largos para la obtención de resultados. A fin de brindar una alternativa a estos ensayos, hemos establecido un método de cuantificación viral por qPCR, obteniendo un rango dinámico de 300-1,5 PFU. Esta reacción de qPCR fue acoplada a un sistema de evaluación de la citotoxicidad utilizando resazurina. De esta manera ha sido posible establecer un método que permite obtener en simultáneo un valor de citotoxicidad y de actividad antiviral, permitiendo el rápido tamizaje de extractos vegetales con potencialidad para el aislamiento de principios activos. Se evaluaron 40 extractos de vegetales, presentando 14 actividad antiviral, muchos de ellos con actividad previamente reportada. Utilizando el mismo método de qPCR, también se calculó el EC50 para los extractos con actividad antiviral. Considerando los resultados obtenidos, el método descrito de qPCR y la evaluación simultánea de la actividad citotóxica permiten la rápida identificación de extractos vegetales con actividad antiviral.

Este proyecto es financiado por el CONACYT a través del Programa PROCIENCIA con recursos del Fondo para la Excelencia e investigación EEI del FONACIDE, proyecto PINV14-149

JU071

Análise de filogrupo e perfil de resistência a β -lactâmicos do tipo carbapenemase em isolados de *Escherichia coli* de hospitais no Distrito Federal.

Jessica Sousa¹, Pereira Alex L¹. ⁽¹⁾ Instituto de Biologia, Biologia Microbiana, Universidade de Brasília, BR

A espécie *Escherichia coli* pertence ao microbioma intestinal humano e animal (sangue quente), por sua habilidade de adaptação, também é detectado em outros ecossistemas. É capaz de realizar trocas genéticas recebendo, assim, plasmídeos que conferem resistência antimicrobiana e fatores de virulência que permitem gerar síndromes clínicas tais, como, doenças diarreicas, infecção urinária, sepse e meningite neonatal. O objetivo deste estudo foi analisar o filogrupo e resistência a β -lactâmicos do tipo carbapenemase de 36 cepas de *E. coli* isoladas de casos de infecção urinária, sepse e vigilância hospitalar (swab retal) do Distrito Federal entre os anos de 2010 a 2017. Foram realizadas reações em cadeia da polimerase (PCR) para identificar genes de carbapenemases metalo-dependentes *bla*NDM, *bla*VIM, *bla*IMP, que conferem resistência a todos os antibióticos beta-lactâmicos com exceção do aztreonam e não-metalo-dependentes *bla*KPC, que confere resistência a penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, carbapenêmicos e *bla*OXA-48 que é resistente a penicilinas, imipenem e o meropenem. A análise de filogrupo foi realizada baseada em Clermont *et al.* As análises demonstraram que 53% (19) dos isolados possuem gene *bla*KPC, 36% (13) possuem gene *bla*NDM e 11% (4) perderam os genes, não sendo detectados juntos no mesmo isolado. Sendo que, 47% (17) dos isolados com *bla*NDM (8) e *bla*KPC (9) também carregam *bla*IMP. Os genes *bla*OXA-48 e *bla*VIM não foram identificados. Dos 36 isolados, 12 pertencem ao filogrupo A, sendo que 6 possuem o gene *bla*KPC e 4 o gene *bla*NDM, 9 isolados como filogrupo B2, os quais 7 têm o gene *bla*KPC e 1 o *bla*NDM; 8 isolados como filogrupo B1, sendo que 6 carregam o gene *bla*NDM e 3 o *bla*KPC e 7 isolados como filogrupo D, sendo que 3 têm o gene *bla*KPC e 2 o *bla*NDM. O estudo conclui que, há predominância do gene *bla*KPC, porém, nota-se crescente aumento na presença do gene *bla*NDM na espécie *E. coli*. O gene *bla*IMP também é encontrado junto aos isolados, que já possuem o gene *bla*NDM ou *bla*KPC. Quanto aos filogrupos: A, o qual é predominantemente comensal, está em maior presença; e D, que é predominantemente patogênico, em menor frequência.

Tolerância a biocidas e outros aspectos fenotípicos e moleculares de fatores de virulência de células sésseis e planctônicas de *Corynebacterium striatum*

Cassius Souza¹, Cabral Fellipe Oliveira ², Cabral Guilherme Goulart ², Teixeira Freire Débora Marinho², Mota Higor Franceschi¹, Faria Vieira Y², Ramos Juliana Nunes³, Monica Cristina Souza², Santos Louisy Sanches², Santos Cíntia S², Vieira Verônica V³, Raphael Hirata Júnior², Moreira Lílian Oliveira⁴, Ana Luiza Mattos-Guaraldi². ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia Clínica da Pós Graduação em Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR ⁽²⁾ Departamento de Microbiologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR ⁽³⁾ Departamento de pesquisa e genômica, Fundação Oswaldo Cruz - Rio de Janeiro, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, INCQS/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, Rio de Janeiro, BR ⁽⁴⁾ Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, Faculdade de Farmácia da UFRJ, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR

Microrganismos resistentes a agentes antimicrobianos, capacidade de transferência de genes de resistência e de formação de biofilme, aliados a processos inadequados de antibioticoterapia e de desinfecção, dentre outros fatores, contribuem para a ocorrência de infecções relacionadas à Assistência à Saúde. *Corynebacterium striatum*, vem sendocrescentemente relacionado com quadros de infecções nosocomiais, incluindo pacientes que fazem uso de dispositivos médicos invasivos, apesar de permanecer como espécie subestimada pelos clínicos e negligenciada nos laboratórios de diagnóstico. No presente estudo foram avaliados aspectos fenotípicos e moleculares de fatores de virulência de duas cepas multirresistentes (MDR) e duas multisensíveis (MDS) de *C. striatum* expressando diferentes perfis clonais isoladas de hospital da região metropolitana do Rio de Janeiro. A susceptibilidade de células sésseis e planctônicas de *C. striatum* ao glutaraldeído (2%) foi avaliada pelo teste Time Kill. Ensaio de formação de biofilme na superfície de metal cirúrgico também foram realizados. A presença de genes de resistência *ermX* (eritromicina) *cmxB* (clorofenicol) *aphA1*(aminoglicosídeos) foi investigada por PCR. Os resultados demonstraram que células sésseis e planctônicas de *C. striatum* foram tolerantes ao glutaraldeído, porém em diferentes intensidades. A cepa 1961/III MDS (urina) apresentou tolerância ao glutaraldeído até 30 minutos de tratamento. Apenas as cepas MDR amplificaram os genes de resistência testados. Todas as cepas de *C. striatum*, independente dos níveis de tolerância ao glutaraldeído, sítios de isolamento, PFGE-tipos, perfis e da presença de genes resistência foram capazes de formar biofilme em metal cirúrgico em intensidades variadas. Maior e menor produção de biofilme foram observadas para as cepas 1987/I MDR (lavado broncoalveolar) e 1954/IV MDS (secreção de ferida), respectivamente. Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura revelou a formação de biofilme maduro com presença de *halo voids* e deposição de substâncias exopoliméricas. Deste modo, células sésseis e planctônicas de cepas MDR e MDS *C. striatum* de diferentes pulsotipos relacionadas com quadros de infecções nosocomiais apresentaram tolerância ao glutaraldeído e mostraram-se capazes de formar biofilme em substratos abióticos diversos, como cateter de poliuretano e metal cirúrgico. Estes fatores podem favorecer a patogenicidade de *C. striatum* uma vez que, auxiliam a sobrevivência e a permanência da espécie em dispositivos médicos.

FAPERJ, CAPES, SR2-UERJ CAPES, CNPq, PRONEX, UFRJ

JU073

Determinação da concentração inibitória mínima ao fluconazol em espécies pouco prevalentes de *Candida* isoladas de hemoculturas de pacientes atendidos em hospital terciário da região sul do Brasil no período de 2004 a 2018

Souza Ândrea Celestino¹, Pereira Dariane Castro¹, Roesch Eliane Würdig¹, Larissa Lutz¹, Sampaio Paulo André Souza¹, Aquino Valério Rodrigues¹, Goldani Luciano Zubaran². ⁽¹⁾Serviço de Diagnóstico Laboratorial - Unidade de Microbiologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, BR ⁽²⁾Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR

Introdução: De acordo com critérios do European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), apenas as espécies mais frequentes de *Candida* possuem padronização para teste de disco difusão e critérios de interpretação para concentração inibitória mínima (CIM) para fluconazol (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata*). Para as demais espécies é necessária a determinação da CIM para este antifúngico. O objetivo deste estudo foi determinar os valores de CIM das espécies de *Candida* para as quais o teste de sensibilidade ao fluconazol deve ser realizado por microdiluição. **Metodologia:** Foi realizada microdiluição em caldo para fluconazol (Sigma-Aldrich) dos isolados de *Candida* spp. não padronizados para teste de suscetibilidade pela técnica de disco difusão segundo EUCAST, utilizando *C. krusei* ATCC 6258 como controle da técnica. As amostras foram provenientes de hemoculturas de pacientes atendidos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, no período de dezembro de 2004 a junho de 2018. A identificação das espécies foi realizada através do Vitek®2 (BioMérieux) ou Vitek MS™. **Resultados:** Do total de 808 isolados no período, 43 (5,3%) eram espécies elegíveis para determinação da CIM e destas, 35 (4,3%) foram testadas. A CIM50% e CIM90% foi, respectivamente, 1µg/mL e 4µg/mL quando se avaliou as espécies em conjunto. A frequência dos isolados, valores de variação da CIM, CIM50% e CIM90% para fluconazol entre as espécies foram os seguintes, respectivamente: *Candida guilliermondii* 13 (37,1%), 125-16µg/mL, 4µg/mL e 8µg/mL; *Candida famata* 9(25,7%), 0,25-4µg/mL, 1µg/mL e 4µg/mL; *Candida dubliniensis* 6(17,1%), 0,125-4µg/mL, 0,125µg/mL e 0,25µg/mL. *Candida lusitanae* 3 (8,6%), CIM=0,5µg/mL (3 amostras); *Candida kefyr* 2 (5,7%), CIM=0,5µg/mL (1 amostra) e CIM=8µg/mL (1 amostra); *Candida norvegensis* 1 (2,9%), CIM=32µg/mL (1 amostra); e *Candida pelliculosa* 1 (2,9%) CIM=1µg/mL (1 amostra). **Conclusão:** Do total de amostras testadas, os valores de CIM mais elevados foram detectados entre os isolados de *Candida guilliermondii* CIM 90%=8µg/mL, *Candida kefyr* CIM=8µg/mL (1 amostra) e *Candida norvegensis* CIM=32µg/mL (1 amostra). Para os demais isolados, em mais de 90% foram detectados valores de CIM≤4µg/mL.

Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Schinopsis brasiliensis engler*

Santos Clisiane CS³, Simas Daniel LR¹, Estevam Charles Santos², Goulart Fátima RV³, Luiz Sandra RS³, Santos Fabiane CV³, Alviano Celuta Sales³, Moreno Daniela SA³. ⁽¹⁾ Química, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR ⁽²⁾ Fisiologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, BR ⁽³⁾ Departamento de Microbiologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR

Introdução: O crescente número de infecções causadas por bactérias e fungos multirresistentes tem incentivado a busca por produtos naturais para fins terapêuticos. Neste sentido, a planta *Schinopsis brasiliensis* Engl., popularmente conhecida como baraúna e bastante utilizada na medicina popular para este fim, foi selecionada para este estudo. **Objetivos:** Avaliar a composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial da folha de *S. brasiliensis* (OE). **Métodos:** A extração do OE foi feita pelo método de hidrodestilação e para sua caracterização química foi utilizada a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (CG-EM). A atividade antimicrobiana foi realizada utilizando a metodologia padrão internacional do CLSI/NCCLS para estabelecer o valor da concentração mínima inibitória (CMI) do óleo essencial de *S. brasiliensis*, quando avaliado contra os fungos *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, cepas de *Cryptococcus neoformans* e as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium fortuitum* e *M. tuberculosis*. Além disso, foi realizado também o teste de bioautografia para identificação da substância ativa. **Resultados:** A composição química do OE demonstrou a presença principalmente de sesquiterpenos, apresentando como substâncias majoritárias o *epi*-globulol, cariofileno, α -felandreno e bicilogermacreno, bem como o monoterpene α -felandreno. O OE foi ativo frente ao fungo *Cryptococcus neoformans* e as bactérias *Mycobacterium fortuitum* e *Staphylococcus aureus*, com valores de CMI de 78, 156 e 312 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente. A suscetibilidade de *C. neoformans* ao EO foi confirmada usando várias cepas de *Cryptococcus* spp. A partir da técnica de bioautografia, constatou-se que o composto ativo contra este fungo foi o *epi*-globulol. **Conclusões:** O óleo essencial extraído da folha de *S. brasiliensis* possui compostos ativos com potencial antimicrobiano, principalmente frente ao fungo *Cryptococcus* spp e sua atividade pode ser atribuída ao sesquiterpene *epi*-globulol, substância que está presente no óleo em 10% da sua proporção relativa.

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

JU075

Persistent bacteremia due to carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* successfully eradicated after intestinal decontamination

María De Los Ángeles Spencer⁴, Lina María Rivas⁴, Laura Rojas^{1,2}, Matías Sanchez³, Rafael Araos⁴, José Manuel Munita^{4,5}. ⁽¹⁾ Department of Molecular Biology and Microbiology, Case Western Reserve University, Cleveland, US ⁽²⁾ Research Service, Louis Stokes Cleveland Department of Veterans Affairs Medical Center, Cleveland, US ⁽³⁾ Unidad de Onco-Hematología, Clínica Alemana de Santiago, Santiago, CL ⁽⁴⁾ ICIM, Programa de Genómica y Resistencia Microbiana, Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo, Santiago, CL ⁽⁵⁾ Laboratory for Antimicrobial Research, Medical School, University of Texas, Houston, US

Background: Infection by carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) has become a major health problem, with *K. pneumoniae* (CRKP) being the leading organisms. Carbapenem-resistance is frequently related to production of enzymes (e.g. KPC) or other mechanisms (e.g. permeability changes). CRE infections leave few therapeutic options and carry high mortality rates. Intestinal decontamination has been used as prophylaxis in ICU patients but is not regularly used to treat invasive infections. **Objective:** To identify the resistant mechanisms of CRKP isolates, from a patient with persistent bacteremia (BSI) that was eradicated after intestinal decontamination with oral colistin and gentamicin. **Methods:** We characterized 5 CRKP isolates from a 27-year-old-man with relapsing/refractory acute myeloid leukemia. Patient consent was obtained. Isolates were identified by MALDI-TOF and susceptibility was determined by Vitek2. Colistin susceptibility was performed by broth microdilution as per CLSI. Molecular epidemiology was assessed by PFGE and MLST. Carbapenemase production was evaluated phenotypically by carba-NP. Multiplex PCR for *blaKPC*, *blaNDM*, *blaVIM*, *blaIMP* and *blaOXA-48* was also performed. **Results:** The patient developed a BSI with a CRKP only susceptible to meropenem, imipenem and amikacin. He was treated with imipenem 1gQ6h (3-h infusion) plus tigecycline. Amikacin (MIC 16mg/mL) was initially administered to be later replaced by colistin after 8 days. Blood cultures remained persistently positive in spite of therapy. A rectal swab obtained after 10 days of therapy showed CRKP. Intestinal decontamination with colistin (100mgQ6h) plus gentamicin (80mgQ6h) was started at day 12. Blood cultures finally became negative after 21 days BSI. All isolates (4 BSI and 1 rectal swab) had identical PFGE patterns and MLST (non-ST258), were resistant to ertapenem (MIC 16-128mg/mL) and showed a progressive MIC increase to meropenem and imipenem (1-32 and 0.25-2mg/mL, respectively). Isolates were resistant to all other antibiotics except for amikacin (MIC 16-64mg/mL) and aztreonam (MIC 0.19-258mg/mL). Carba-NP was negative and no carbapenemase genes were detected by PCR. **Conclusion:** CRKP are a major health threat and remain important clinical challenge due to the scarcity of therapeutic options. Intestinal decontamination might be an alternative in the treatment of invasive CRKP infections. Combination of permeability changes and production of ESBL could explain the resistant phenotype.

Programa de Genómica y Resistencia Microbiana, Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Facultad de Medicina Clínica Alemana, Universidad del Desarrollo, Chile

JU076

Characterization of quinolone resistance in *Achromobacter* sp. isolated from Brazilian soils

Furlan João Pedro R¹, Sanchez Danilo G¹, Gallo Inara Fernanda L¹, **Stehling Eliana G¹**. ⁽¹⁾ Department of Clinical Analysis, Toxicology and Food Science, School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto, University of Sao Paulo, Ribeirão Preto, BR

Achromobacter sp. is an opportunistic pathogen, which cause different types of infection, especially in patients with cystic fibrosis (CF), although there are reports in non-CF patients. The fluoroquinolones represent a class of highly effective synthetic antibiotics, which exert their activities by inhibiting DNA replication. Among the mechanisms of resistance to these antibiotics, amino acid substitutions in the quinolone-resistance determining region and the presence of plasmid-mediate quinolone resistance genes stand out. The present study aimed to characterize 16 *Achromobacter* sp. isolated from Brazilian soils regarding the resistance profile, the presence of mutations in quinolone-resistance determining regions, plasmid-mediate quinolone resistance genes and the different plasmid families. Several soil samples were collected from different plantation areas, cities and states of Brazil. The soil samples were processed and the bacterial isolation was carried out. Posteriorly the genomic DNA was extracted and the identification was performed using the sequencing of 23S rRNA gene. The minimum inhibitory concentration was performed using the plate dilution method with a range from 1 to 256 µg/mL of ciprofloxacin, levofloxacin and norfloxacin. The detection of plasmid-mediated quinolone resistance genes and different plasmid families was performed by PCR reactions. A total of 16 isolates was obtained and among them, all were non-susceptible (intermediate and resistant) to norfloxacin, 14 (87.5%) to levofloxacin and 8 (50%) to ciprofloxacin, presenting MIC between 4 and > 64 µg/mL. All isolates presented the two main mutation points in the *gyrA* gene, Ser-83-Leu and Asp-87-Asn. In addition, some isolates presented mutation points in the *parC* gene, such as Ser-80-Ile and Glu-84-Ala. Thirteen isolates presented one or more plasmid-mediate quinolone resistance genes, being the *aac(6')Ib-cr* the most prevalent, found in ten isolates, followed by *qnrA* (8), *oqxA* and *oqxB* (4) and *qnrB* and *qnrS* (3). The ColE plasmid family was detected in 15 (93.75%) isolates, followed by IncFIB (3), IncA/C (2) and IncP (1). The results indicate that the isolates of *Achromobacter* sp. have the two mutation points in the *gyrA* gene in which they are strictly related to non-susceptibility to fluoroquinolones. In addition, different plasmid determinants associated with different plasmid families were also detected.

This work was supported by São Paulo Research Foundation - FAPESP [grant number 2015/18990-2].

JU077

Programmed cell death in yeast by thionin-like peptide from *Capsicum annuum* fruits involving activation of caspases and extracellular H⁺ flux

Gabriel Taveira¹, Érica Mello¹, Sávio Souza¹, Renan Monteiro², Alessandro Ramos¹, André Carvalho¹, Rosana Rodrigues³, Lev Okorokov¹, Valdirene Gomes¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, BR ⁽²⁾ Departamento de Farmácia, Universidade Iguçu-Campus V, Itaperuna, BR ⁽³⁾ Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, CL

CaThi is a thionin-like peptide isolated from fruits of *Capsicum annuum*, which has strong antimicrobial activity against bacteria, yeasts and filamentous fungi, and that induced reactive oxygen species (ROS) in fungi. ROS are molecules that appear in the early stages of programmed cell death or apoptosis in fungi. Due to this fact, in this work we analyzed some events that may be related to process of apoptosis on yeast induced by *CaThi*. To investigate this possibility, we evaluated phosphatidylserine (PS) externalization, presence of active caspases and the ability of *CaThi* to binding to DNA in *C. tropicalis* cells. Additionally, we investigated mitochondrial membrane potential, cell surface pH, and extracellular H⁺ fluxes in *C. tropicalis* cells after treatment with *CaThi*. Our results showed that *CaThi* induced PS externalization in the outer leaflet of the cell membrane, activation of caspases, and it had the ability for DNA binding and to dissipate mitochondrial membrane potential. In addition, it was observed changes on external pH in *C. tropicalis* cells treated with *CaThi* which corroborates with around 96 % inhibition on extracellular H⁺ efflux. Taking together, these data suggest this peptide is capable to promote an imbalance in pH homeostasis during yeast cell death playing a modulatory role in the H⁺ transport systems. In conclusion, our results strongly indicated that *CaThi* triggers apoptosis in *C. tropicalis* cells, involving a pH signaling mechanism.

Financial support of the Brazilian agencies CNPq (305766/2013-9) FAPERJ (E-26/203090/2016; E-26/202.132/2015; E-26/202.735/2016), CAPES through the CAPES/Toxinology project.



JU079

Genome-based natural product discovery from northern Chilean Patagonia marine actinomycetes

Agustina Undabarrena¹, Andrés Cumsille¹, Ricardo Valencia¹, Vania Molina¹, Eduardo Castro-Nallar², Francisco Salvà-Serra³, Daniel Jaén-Luchoro³, Juan Ugalde², Edward Moore³, Michael Seeger¹, Beatriz Cámara¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL ⁽²⁾ Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL

(3) Department of Infectious Diseases, Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Gothenburg, SE

Bacterial natural products (NPs) represent a diverse group of chemical entities with a wide variety of biological activities. Mostly, NPs represent the main source to overcome the present crisis in drug discovery, where the increase of resistance in pathogenic bacteria has become alarming world-wide. Recently, the burst of the genomic era has opened new opportunities in the NP discovery field, by unveiling the potential of producing bioactive compounds through whole-genome sequencing. Bioactive compounds are often synthesized by complex and specialized secondary metabolic pathways, whose genes are clustered together in the so-called biosynthetic gene clusters (BGCs). Actinomycetes, have been for decades a renowned source for the discovery of new bioactive compounds, and recently, focus has been directed to marine actinomycetes, as they may provide novel chemical diversity. However, knowledge about their genomics or metabolomics still remains scarce. In this work, we present the sequencing of actinomycetes isolated from marine sediments of the Northern Chilean Patagonia, along with a genome-based exploration of their biosynthetic potential and chemical diversity of NPs. *Rhodococcus* sp. H-CA8f whole-genome was achieved using PacBio sequencing. It comprises one closed, complete chromosome of 6.19 Mbp with a 62.45 % G+C content, along with one linear megaplasmid of 301 Kbp and 62.34 % G+C content. Genomic analyses revealed that the mega-plasmid harbours mostly putative ORFs with unknown functions, providing novel insights into the genetic features of marine actinomycetes. In addition, the potential of producing bioactive compounds was conducted by genome mining using the antiSMASH tool, revealing 17 mostly unique BGCs. Among them, 6 non-ribosomal peptide synthetases (NRPSs) and 2 polyketide synthases (PKSs) were detected. A gene cluster family networking was constructed to unveil the similarities between *Rhodococcus* sp. H-CA8f's BGCs and BGCs coding for already-known compounds. Regarding antimicrobial activity, fermentations of *Rhodococcus* sp. H-CA8f were explored in five different culture media and chemical profiling through dereplication using liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (LC-HRMS) was achieved. Overall, these results suggest that Chilean marine actinomycetes genomes represent an unexploited resource fulfilled with a rich repertoire of BGCs which may serve as promising candidates for the discovery of novel molecules.

FONDECYT Regular 1171555 (B.C); FONDECYT Postdoctorado 3180399 (A.U)



JU080

Antimicrobial activity of phenolic compounds obtained from seed and skin of avocado (*Persea americana*)

Catherine I Urra-Sanhueza¹, María E Zuñiga-Hansen^{1,2}, Alejandra V Arancibia-Diaz^{1,2}, Carmen G Soto-Maldonado². ⁽¹⁾ Laboratorio Biomoléculas, Ingeniería en Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL ⁽²⁾ CREAS, Centro Regional de Estudios en Alimentos Saludables, Valparaíso, CL

By-products from avocado industrialization (seed and skin), have important functional properties. Polyphenols extracted from them, including catechin, apigenin, protocatechuic acid, chlorogenic acid, among others, are potential antioxidants, anti-bacterial, and anti-carcinogenic. The aim of this work was the obtention of polyphenolic extracts of the avocado seed and skin by means of hydroalcoholic extraction, and to evaluate the inhibitory effect on bacteria Gram+ and Gram- using antibiogram. Additionally, the minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by microtiter plate assay, whenever inhibition was detected. The bacteria tested were: Gram+ strains: *Staphylococcus aureus* VQSA68, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, and *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* sp. and *Bacillus subtilis* all wild types. Gram- strains: *Salmonella* Typhimurium ATCC 140285, *Salmonella* Enteritidis SARB16, *Proteus* sp. and *Escherichia coli*, all wild types. For the antibiogram, concentrations in the range from 5 to 100 mg·mL⁻¹ were tested. All Gram+ strain showed inhibition halo >1 cm diameter at <30 mg·mL⁻¹, showing a MIC of < 5 mg·mL⁻¹. Gram- strains (*Proteus* sp.) showed halo >1 cm diameter at < 45 mg·mL⁻¹, showing a MIC of <20 mg·mL⁻¹, in skin and seed extracts. Therefore, Gram+ strains are more sensitive than Gram- strains, exposed to phenolic compounds of avocado seed and skin.

JU081

Ação antibacteriana de extratos etanólicos e em tampão salina fosfato (pbs) de pólen apícola de *Apis mellifera*

Vale Vera Lúcia Cost¹, Sousa Renata Simões¹, Karam Viviane Miranda¹, Silva Marcos Da Costa², Lima Luciene Cristina¹, Marques Edson De Jesus¹. ⁽¹⁾ Ciências Exatas e da Terra, Campus II -Alagoinhas, Universidade do Estado da Bahia, Alagoinhas, BR ⁽²⁾ Ciências da Vida, Campus I, Universidade do Estado da Bahia, Salvador, BR

O pólen apícola, um alimento rico em nutrientes, resultado da aglutinação do pólen das flores pelas abelhas, utilizando néctar e substâncias salivares, vem ganhando destaque entre as fontes alimentares. Foram avaliadas, quanto aos tipos polínicos e o potencial antimicrobiano, doze amostras coletadas mensalmente em Mata Atlântica de Alagoinhas-BA/Brasil, de extratos do pólen apícola de *Apis mellifera*, obtidos por dois solventes diferentes: etanol (70%) e Tampão Salina Fosfato (PBS). A atividade antimicrobiana foi avaliada, aplicando-se 10 µL do extrato a 200 e 100 mg/mL, pela medida do halo de difusão em disco de 6 mm. Como controle positivo foi utilizado o cloranfenicol (0,1%) e os controles negativos foram discos embebidos em etanol a 70% e em PBS. Observou-se inibição do crescimento bacteriano nos meses de setembro e dezembro, para o extrato etanólico e maio e junho, para o extrato em PBS. O percentual de inibição para a *Escherichia coli* (33,33% e 64,47%); *Micrococcus luteus*; (57,14% e 62,38%), para a menor e maior concentração, respectivamente. *Staphylococcus aureus* apresentou 57,14% para as duas concentrações e *Bacillus subtilis* 62,3%, apenas para concentração mais elevada, todas no mês de dezembro. No mês de setembro, apenas *Bacillus subtilis* apresentou resultado positivo com 34,78% de inibição (200 mg/mL). Para os extratos em PBS foi observada 69,7% de inibição da atividade para *Micrococcus luteus* em maio (200 mg/mL) e 31,74%, em junho (100 mg/mL). Em relação aos tipos polínicos, os destaques observados foram para *Piper divaricatum* (Piperaceae) com 38,3%, *Tapirira guianensis* (Anacardiceae) 13,7%, para dezembro. A *Mimosa pudica/sensitiva* (Fabaceae) aparece nos meses de junho, setembro e dezembro, com 73,82; 75,3 e 8,4%, respectivamente e *Mimosa caesalinifolia* (Fabaceae) 82,77%, em maio. Desta forma, observa-se presença do gênero *Mimosa* em todos os meses que tiveram atividade, o que sugere ação dos constituintes químicos do metabolismo secundário dessas plantas. Quanto aos extratos, ambos inibiram o crescimento bacteriano, entretanto, os etanólicos foram ativos para um maior número de microrganismos, quando comparados ao PBS.

Molecular characterization of extended spectrum β -lactamase (ESBL) - producing Enterobacteriaceae in companion animals, Brazil

Valencia Bacca Juan David¹, Fernanda Esposito², Brenda Cardoso³, Louise Teixeira Cerdeira², Tatiana Jimenez Villegas⁴, Da Silva Meire Maria⁵, Fernando Cortez Pereira⁵, Nilton Lincopan³. ⁽¹⁾ Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal - VPS, Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Sao Paulo, BR ⁽²⁾ Departamento de Fisiologia e Toxicologia, Facultad de Ciências Farmacéuticas, Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo, BR ⁽³⁾ Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas II, Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo, BR ⁽⁴⁾ Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal - VPS, Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Sao Paulo, BR ⁽⁵⁾ Centro de Saúde e Tecnologia Rural/CSTR, Medicina Veterinaria, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, BR

The emergence and spread of β -lactamases in *Enterobacteria* is a critical global health issue in human and veterinary medicine. Moreover, extended-spectrum β -lactamases (ESBL), producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* are widely associated with companion animal infections. ESBL are defined as a group of β -lactamases which share the ability to hydrolyze third-generation cephalosporins and aztreonam but are inhibited by clavulanic acid. In addition the lack of surveillance studies about the dissemination of β -lactamases in small animals are still limited. In this regard, the aim of this study was to investigate the presence of multidrug-resistant (MDR) *Enterobacteriaceae* (non-susceptible to at least one antimicrobial agent in three or more antimicrobial classes), and the genetic background of genes encoding ESBL in companion animals, in Brazil. Between November 2017 and March 2018, a total of 48 MDR strains were recovered from rectal swabs collected from free-roaming cats (n=50), shelter cats (n=47) and dogs (n=65). Furthermore, 17 antibiotic-resistant strains were recovered from cats with different infections (n=22) and one dog (n=1). PCR's were performed for the detection of $bla_{CTX-M-8}$, $bla_{CTX-M-15}$, bla_{CMY-2} and bla_{TEM} . Besides, whole-genome-sequencing of two *K. pneumoniae* (cat samples) and one *E. coli* (dog) was performed. Of these, 26 samples carry one or more resistant genes as follows: bla_{CMY-2} (16), $bla_{CTX-M-15}$ (7), $bla_{CTX-M-8}$ (1), bla_{CMY-2} and $bla_{CTX-M-15}$ (2). Interestingly, in a *K. pneumoniae* belonging to the ST340 was identified the presence of $bla_{CTX-M-11}$, bla_{TEM-1B} , bla_{SHV-11} genes. On the other hand, one ST147 *K. pneumoniae* carry the $bla_{CTX-M-15}$, bla_{SHV-11} , bla_{CMY-98} , and bla_{OXA-1} genes. In contrast, was identified in an *E. coli* ST617 the presence of $bla_{CTX-M-15}$ and bla_{TEM-1A} . Likewise, it should be noted that were identified several virulence factors and resistant genes to a wide range of antimicrobial classes in the genome sequenced strains. In this study, we report the occurrence of ESBL and AmpC genes in free-roaming, shelter, infected cats and shelter dogs. These outcomes display the potential of pets spreading MDR and β -lactamases producing strains. Thus, further studies are necessary to elucidate the epidemiology of ESBL, as well is imperative promote antimicrobial stewardship in small animals practice.

Factores de virulencia y multiclonalidad en aislamientos clínicos hiper mucoviscosos de *Klebsiella pneumoniae* productores de carbapenemasas

Juan Martín Vargas¹, María Paula Moreno Mochi¹, Juan Manuel Nuñez², Mariel Cáceres³, Silvana Mochi³, Marta Cobo⁴, Carmen Rosa Del Campo⁴, María Angela Jure¹.⁽¹⁾ Instituto de Microbiología Luis C. Verna, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán, AR ⁽²⁾ Infectología, Hospital Ángel C. Padilla, San Miguel de Tucumán, AR ⁽³⁾ Bacteriología, Hospital Ángel C. Padilla, San Miguel de Tucumán, AR ⁽⁴⁾ Microbiología, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria, Madrid, ES

La diseminación de *K. pneumoniae* productora de carbapenemasas (KPC) es un problema de salud pública importante. El objetivo de este trabajo fue determinar la susceptibilidad antibiótica y el trasfondo genético de aislamientos clínicos productores de KPC de un hospital en Tucumán, Argentina. Caracterizamos 35 aislamientos clínicos de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenemes con valores de CIM ≥ 2 mg/mL. La hiper mucoviscosidad se determinó mediante String Test. Los genes de carbapenemasas y BLEE fueron detectados por Multiplex PCR y posterior secuenciación. Los factores de virulencia propuestos se determinaron por Multiplex PCR (*magA*, *fimH*, *uge*, *iutA*, *wabG*, *rpmA*, *cnf1*, *ycfM*, *hly*, *iroN*, *k2A*, *mrkD*, *kpn*, *allS*, *entB*, and *wcaG*). La capacidad de conjugación fue evaluada usando *E.coli* J53 azida-resistente como receptor. La tipificación plasmídica fue realizada mediante la caracterización de relaxasas. La diversidad clonal fue determinada por PFGE y MLST. Los 35 aislamientos mostraron resistencia a β -lactámicos y ciprofloxacina y resistencia parcial a otros antibióticos: gentamicina (91.43%), TMS (88.57%), tigeciclina (6%), y fosfomicina (6%). Confirmamos la presencia del gen *blaKPC-2* asociado a *blaTEM*. La distribución de BLEE en las cepas estudiadas resultó: SHV(n=5), CTX-M-Universal(n=17), asociación entre SHV y CTX-M(n=4) y 9 cepas fueron negativas. Se detectaron 17 patrones diferentes por PFGE que correspondieron a 10 secuenciotipos; se observó predominio de ST25, seguido por ST629, ST17, ST147, ST268, ST258, ST11, ST111, ST133, ST551 y 4 aislamientos cuyas combinaciones alélicas no se encuentran documentadas. El gen *blaKPC-2* se encontró en un plásmido transferible IncL/M. La incidencia global de *K. pneumoniae*-KPC fue de 0.290 cada 1000 pacientes hospitalizados. La caracterización de los factores de virulencia demostró la presencia de fimbrias (97,14%), sideróforos (94,29%) y factores de resistencia a la fagocitosis (74,28%). El 68,57% de los aislamientos pertenecían al serotipo capsular K2 mientras que un 31,43% de los aislamientos fueron considerados No Tipificables (NT). Este es el primer estudio de caracterización de factores de virulencia en múltiples clones de *K. pneumoniae* hiper mucoviscosas productoras de KPC 2 en esta región. Nuestros hallazgos indicarían que no existe una correlación significativa entre la asociación de factores de virulencia, resistencia a carbapenemes, tipos de infección y tipo clonal en las cepas estudiadas.



JU084

Molecular characterization of Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBL's) and carbapenemases from gut microbiota of *Salmo salar* in Chilean salmon farming

Felipe Vásquez¹, Jorge Olivares¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL

The widespread occurrence of antibiotic resistant bacteria (ARB) and antibiotic-resistance genes (ARGs) in the environment is currently a major global public health issue. Recent studies have shown that natural environmental reservoirs contribute significantly to the global proliferation of antibiotic resistance. Chile is the second largest worldwide producer of farmed salmon after Norway. This industry has been intensively impact with high concentration of antimicrobial agents. Constant exposure to this molecules tent to the selection of resistant bacteria and increase the horizontal transfer of ARGs. One of the most spread it resistant elements are the Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESLBs) and carbapenemases, because they are now observed worldwide in most *Enterobacteriaceae* species and are important component of clinical environment. Recently, our research group has described the presence of ARB and ARGs from gut microbiota of *Salmo salar* expose to high concentration of florfenicol and oxytetracycline. In addition, we describe a high prevalence of class 1 integrons in these isolates shown a high similarity with human pathogen's integrases. These results suggest an important component of anthropogenic pollution in this industry and could be and important reservoir to ARGs like β -lactamases and carbapenemases of clinical relevance. In this study, we work with two banks of culturable resistant bacteria to florfenicol and oxytetracycline. Both banks were challenged with different β -lactams antibiotics like amoxicillin, ampicillin, aztreonam, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, ceftazidime, ceftriaxone, doripenem, ertapenem, imipenem, meropenem, piperacillin and many of them showed high resistance levels. In order to identify the properly mechanism of resistance against these drugs, we looked for different groups of ESLB and carbapenemases like ACC, BIC, CMY, CTX, DHA, FOX, IMP, KPC, NDM, OXA, SHV, SMP, TEM, VEB and VIM in all isolates of two banks. Our results showed an important prevalence of different ESLB and carbapenemase genes in the two different banks of culturable bacteria and intermediate resistance to ceftazidime, meropenem and imipenem in *Aeromonas salmonicida* (Fish pathogen) and *Pseudomonas* genus. These results suggest that Chilean salmon farming is an important reservoir to β -lactamases and carbapenemases of clinical relevance.

Proyecto FONDECYT 11150858

JU085

Single and combined treatments based in plant essential oils for the effective control of *Escherichia coli* biofilms formed on stainless steel and polystyrene surfaces

Daniel Vázquez-Sánchez¹, Galvão Juliana A¹, Mazine Marina R¹, Gloria Eduardo M¹, Marília Oetterer¹. ⁽¹⁾ Agroindústria, Alimentos e Nutrição, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, BR

Novel sanitizing treatments based in plant essential oils (EOs) were evaluated to increase the hygiene of food-contact surfaces and decrease the environmental impact of traditional disinfectants applied in the food industry. The efficacy of EOs from *Lippia sidoides*, *Thymus vulgaris* and *Pimenta pseudochariophyllus* was determined against biofilms formed by two *Escherichia coli* strains, a Shiga toxin producer (E6) and an *E. coli* O157:H7 (E7) persistent in food-processing facilities. Surface materials (stainless steel and polystyrene), disinfectants (peracetic acid and sodium hypochlorite) and conditions (25°C, frequency of sanitizing of 24 h) commonly present in the food industry were also used to reach a more realistic approach. All disinfectants were able to kill 99.99% of biofilm cells at the range of concentrations tested (0.1-3% v/v), except sodium hypochlorite. *T. vulgaris* and *L. sidoides* oils were significantly ($P < 0.05$) the most effective against biofilms formed by E6 and E7, respectively, followed by peracetic acid. Meanwhile, *P. pseudochariophyllus* oil showed an efficacy significantly ($P < 0.05$) higher than sodium hypochlorite. According to the GC/MS analysis, the efficacy of these EOs on *E. coli* biofilms could be due to the presence of high concentrations of thymol, chavibetol, carvacrol or eugenol in their composition, as well as a feasible synergy with some minor compounds such as limonene, α -pinene, α -terpineol, terpinen-4-oil and linalool. In addition, binary combinations of these EOs, as well as combinations with peracetic acid, allowed considerably reduce doses needed to remove 99.99% of biofilm cells. In particular, blends of *L. sidoides* with *T. vulgaris* or peracetic acid showed a high effectiveness against *E. coli* biofilms. Results obtained in the present study therefore demonstrated the high performance of combined treatments containing effective EOs to control *E. coli* biofilms in food-processing surfaces, representing a sanitizing alternative more environmentally-friendly than traditional disinfectants.

This work was supported by the São Paulo Research Foundation (FAPESP 2014/20590-0).

Caracterización del rol en la actividad antibacteriana de las proteínas que conforman la Mutacina IV

Guillermo Sebastián Wiese^{1,2}, Camila Manzano^{1,2}, Samantha Gonzalez¹, Piedad Cortés-Cortés¹, Gino Corsini². ⁽¹⁾ Unidad de Desarrollo, Corbio-Q, San Miguel, CL ⁽²⁾ Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL

Streptococcus mutans es una bacteria Gram positivo, caracterizada por ser uno de los principales patógenos del consorcio bacteriano asociados a la formación de caries dental. Este microorganismo posee variadas cualidades que le permiten establecerse en la cavidad oral, dentro de ellas encontramos su gran capacidad de adhesión, formación biopelícula y síntesis de bacteriocinas denominadas mutacinas. Dentro de las mutacinas producidas por *S. mutans*, podemos encontrar tanto de clase I (lantibióticas) como de clase II (no-lantibióticas). La mutacina IV es una bacteriocina clase II compuesta por 2 proteínas NImA y NImB. La literatura ha sido contradictoria con el rol de NImA y NImB en la actividad antibacteriana de la mutacina IV, ya que antecedentes del año 2005 indicarían que solo NImA es la responsable de la actividad. Pero en 2008, se hace referencia que ambas proteínas son necesarias para la funcionalidad de la mutacina IV. Teniendo como objetivo determinar el rol de cada una de las proteínas que conforman la mutacina IV. Para ello, se realizó la expresión de forma heteróloga de NImA y NImB, de manera independiente, evaluando su actividad frente a cepas indicadoras *Streptococcus gordonii* y *Streptococcus salivarius* y frente a un panel de bacterias Gram positivo y Gram negativo. Se evidenció que ambos componentes presentan actividad sobre las cepas indicadoras *S.gordonii* y *S. salivarius*. Utilizando ambos componentes en proporciones iguales se observó una leve sinergia en la actividad evidenciando un aumento del 30%. Sin embargo, el espectro de acción se mantuvo. Podemos concluir que tanto la proteína NImA como NImB, presentan actividad por separado.

JU087

Compuestos fenólicos como inhibidores de serina betalactamasas: análisis del tipo de inhibición y determinación de la interacción enzima-inhibidor

Nayra Muñoz¹, Carolina Mascayano², Marcela Wilkens¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Básica y Aplicada, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Laboratorio de Simulación Computacional y Diseño Racional de Fármacos, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL

Actualmente, la resistencia bacteriana a antibióticos es una gran amenaza para la salud pública, siendo el principal mecanismo de resistencia en bacterias Gram negativo, las enzimas hidrolíticas conocidas como betalactamasas. Estas inactivan la acción de los antibióticos betalactámicos, familia de antibacterianos más utilizada en la práctica clínica. Es por esto, que se requiere de nuevas estrategias para combatir la resistencia mediada por dichas enzimas, siendo una posible alternativa el descubrimiento de nuevos inhibidores de éstas. Mediante el método cromogénico basado en la hidrólisis de la nitrocefina, se determinó el efecto de distintos compuestos fenólicos, como los ácidos gálico y vanílico, y los flavonoides quercetina y (+)-catequina, sobre la actividad de la betalactamasa tipo IV de *Enterobacter cloacae* y otras serina-betalactamasas identificadas fenotípicamente en cepas bacterianas pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, observándose que tanto ácidos fenólicos como flavonoides alteran la capacidad hidrolítica de estas enzimas. Por otra parte, se determinó que los compuestos fenólicos poseen un mecanismo de inhibición de tipo mixto para la betalactamasa tipo IV de *E. cloacae*, al provocar una disminución de la velocidad máxima y un aumento de la constante de Michaelis-Menten en la cinética enzimática de esta enzima. Finalmente, utilizando la técnica “*docking*”, se predijo cómo estos compuestos podrían unirse con AmpC de *E. cloacae* para formar el complejo enzima-inhibidor, observándose que todos presentan una interacción de tipo puente de hidrógeno con Glu272, residuo que delimita el sitio activo y cuya sustitución afecta la constante de velocidad de desacilación. Por otro lado, el ácido gálico y vanílico también podrían interactuar con el residuo catalítico Lys315, mientras que la quercetina y (+)-catequina lo hacen con el residuo de unión Thr316. Estas interacciones concuerdan con una inhibición del tipo mixta, al interferir con la unión del sustrato y al afectar a la formación de producto. Además, se observó que los compuestos fenólicos con un dihidroxibenceno en su estructura química presentaron menores constantes de inhibición, lo que sugiere que compuestos con un grupo catecol serían potenciales candidatos como inhibidores de betalactamasas de clase C.

Universidad de Santiago de Chile, USACH. Proyecto Código 021843WA, Dirección de Investigación, Científica y Tecnológica, DICYT.



JU088

Antibacterial activity of *Eugenia uniflora* L. leaves extracts against clinical isolates of *Streptococcus agalactiae*

Daniana L Winnik^{1,2}, Fernando J Bobadilla^{1,2}, Marina G Novosak^{1,2}, Analia V Kachuk^{1,2}, Margarita E Laczeski^{1,2}, Marina I Quiroga^{1,2}. ⁽¹⁾ Instituto de Biotecnología de Misiones (INBIOMIS), Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones ⁽²⁾ Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Posadas, AR

Streptococcus agalactiae (GBS) causes invasive diseases in human and is a pathogen that affects livestock and fish. Streptococcosis is considered a destructive disease as it can cause massive fish death and is responsible for large economic losses worldwide. The most common strategy for the treatment of infectious diseases is the use of antibiotics. However, drug resistance has become an increasingly serious problem, what makes the development of alternative antibiotics a very urgent issue. Based on folk medicine in the Guaranitic region of South America, *Eugenia uniflora* L. (“pitanga”) leaves are commonly used for antihypertensive, diuretic and antimicrobial purposes. The aim of this study was to search for antimicrobial activity of leaf extracts of *Eugenia uniflora* L. against clinical isolates of GBS. The extracts were prepared from leaves collected in Oberá, Misiones Province, Argentina. They were obtained by controlled digestion at 37°C for 24 h and 48 h using water and ethanol, respectively. The antimicrobial activity was tested against fifteen strains of GBS, using the disc diffusion method and the Minimum Inhibitory Doses (MID) were calculated. The ethanolic extract was used to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) by the broth dilution method. Aqueous and ethanolic extracts of pitanga showed the same inhibitory activity by the disc diffusion method (median MID= 3 mg disco-1, range =2) without significant differences (P-value = 0.57). The ethanolic extract inhibited the development of GBS at a MIC value of 1.4 mg mL⁻¹ (SD=0.69) and a MBC value of 5.3 mg mL⁻¹ (SD=2.65). The MBC/MIC ratio was 4.33 (SD=2.62). We conclude that the ethanolic extract of *E. uniflora* L. has antimicrobial activity against GBS. This activity would be bacteriostatic according to the values obtained and the available bibliography. These results indicate the need to continue with the studies to identify and characterize responsible metabolites that could represent new sources to develop products with application in human and animal medicine.

Beca de Estímulo a las Vocaciones Científicas EVC-CIN

Xylostoma ciliatifolia: antimicrobial activity against Staphylococcus from goat milk

Martins Caio Augusto¹, Junior Reinaldo Martins², Souza Mariane Parma², Folly Mariany Lopes¹, Lang Karen Luise¹, Pieri Fabio Alessandro². ⁽¹⁾ Microbiologia, Universidade federal de juiz de fora- campus gv, Universidade Federal de Juiz de fora- gv, Governador Valadares, BR ⁽²⁾ ciências da saúde, Universidade federal de juiz de fora- campus gv, Universidade Federal de Juiz de fora- gv, Governador Valadares, BR

Staphylococcus spp. are dispersed in different environments, being closely linked to the human body and food, and can cause the most diverse diseases, among them dermatites and food poisoning. Nowadays, due to the emergence of resistance of microorganisms to conventional drugs, we have looked for alternatives of natural compounds as an antimicrobial alternative. *Xylostoma ciliatifolia*, has been cited with several therapeutic activities, such as sedative, antioxidant and antifungal, however, there are few reports of evaluation of the antimicrobial activity of fractions obtained from leaf extracts of this plant. The objective of this work was to evaluate fractions extracted from leaves of the *X. ciliatifolia* plant on *Staphylococcus* spp. the strains ATCC MRSA 33591 (methicillin resistant) and MSSA 25293 (methicillin sensitive), plus two isolates of *Staphylococcus* spp., a positive coagulase and a negative coagulase, derived from goat milk samples. From the leaves of *X. ciliatifolia* the antimicrobial activities of the fractions in dichloromethane (DCM), hexane (HEX), butanol (BuOH) and ethyl acetate (AcEt) were obtained and tested. The assays were done by agar diffusion test with concentrations of 10 mg/mL of the extracts and microdilution in plates with concentrations between 128 and 0.5 µg/mL. The results showed antimicrobial activity of the BuOH fraction at the concentration of 10 mg/mL, in the diffusion test, on MRSA, MSSA and *S. aureus* coagulase negative with halos of 15 mm, 16.5 mm and 9.5 mm respectively. Also, in this assay, the HEX, DCM and AcEt fractions at 10 mg/mL inhibited the growth of the MSSA strain with halos of 7.5 mm, 14 mm and 9 mm respectively. In broth microdilution assays for evaluation of minimum inhibitory concentrations, all concentrations tested were ineffective against all microorganisms tested, indicating the need for high concentrations of the fractions for the effective inhibition on the above bacteria. It is concluded that despite the antimicrobial action presented by some extracts on strains of *Staphylococcus*, in this work high concentrations were required for effective microbial inhibition. However, it is important to emphasize that the strain considered to be resistant to conventional antimicrobials and of public health relevance, MRSA, was inhibited by the butanolic extract, and further studies are necessary to establish the adequate concentrations for an effective treatment of infections caused by this bacterium.

Evaluación *in vitro* del efecto bactericida de extractos etanólicos y flavonoides de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*

Pool Marcos Carbajal¹, Alberto Alcibíades Salazar Granara², Salomón Huancahuire Vega², Miguel Otiniano Trujillo², Marco Antonio Galarza Perez², Juan Carlos Castro Sanchez³. ⁽¹⁾ EP Medicina Humana, Ciencias de la salud, Universidad Peruana Unión - Lima - Perú, Lima, PE ⁽²⁾ Centro de Investigación en Medicina Tradicional y Farmacología, Medicina Humana, Universidad San Martín de Porres, Lima, PE ⁽³⁾ Área de microbiología, Patología Clínica y Banco de Sangre, Clínica Americana Juliaca, Juliaca, PE

Introducción: La aparición de bacterias *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) constituye un problema en salud pública, principalmente en infecciones intrahospitalarias. Por otro lado, las industrias farmacéuticas han dejado de producir nuevos antibióticos. Ante este escenario, es necesaria la búsqueda de principios activos en plantas nativas con efecto bactericida. *Maytenus macrocarpa* "Chuchuhuasi" es un árbol nativo de la región Amazónica del Perú utilizado como anticonceptivo, antiinflamatorio y antioxidante. Así mismo, contiene compuestos activos como triterpenoquinonas y dímeros triterpénicos con actividad antimicrobiana. **Objetivo:** Evaluar *in vitro* el efecto bactericida de extractos etanólicos y flavonoides de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. **Materiales y métodos:** La planta *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) posee registro sanitario y fue caracterizada taxonómicamente. Los extractos etanólicos y flavonoides (corteza y hojas) de "Chuchuhuasi" fueron obtenidos por destilación, diluidos en etanol (1:1) y homogenizados hasta diluirlas e impregnarlas en papel whatman N° 4. La preparación del inóculo de cepas *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 sensible a meticilina y hospitalarias) se realizaron a escala 0,5 de McFarland siguiendo las normas de CLSI. La actividad bactericida contra *Staphylococcus aureus* se realizó mediante el método de Kirby Bauer, incubándose a 37 °C por 24 horas. **Resultados:** Los extractos etanólicos y flavonoides de "Chuchuhuasi" mostraron actividad bactericida tanto para la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 como para las cepas hospitalarias, observándose con un halo de inhibición de 20 mm de diámetro como promedio. **Conclusiones:** Estos resultados preliminares evidencian la capacidad bactericida específica de los extractos etanólicos y flavonoides (corteza y hojas) del "Chuchuhuasi" sobre cepas sensibles a meticilina y hospitalarias de *Staphylococcus aureus*, bacterias gram positivo.

JU091

Inhibition of bacterial dental plaque formation in dogs by a natural sesquiterpene

Pieri Fabio A¹, Souza Marina CC², Vermelho Ligia LR², Vermelho Marina LR², Perciano Pedro G², Vargas Fabiano S³, Borges Andrea PB², Veiga-Junior Valdir F⁴, Moreira Maria AS². ⁽¹⁾ Departamento de Ciências Básicas da Vida, Medicine/ Pharmacy/Dentistry, Universidade Federal de Juiz de Fora - Campus Governador Valadares, Governador Valadares, BR ⁽²⁾ Departamento de Veterinária, Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, BR ⁽³⁾ Instituto de Ciências Exatas, Química, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, BR ⁽⁴⁾ Química, Quimiica, Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, BR

Surveys are being conducted throughout the world in order to identify potential substitutes for chlorhexidine to antimicrobial therapy of dental plaque and prevention of periodontal disease in dogs and humans. The aim was to evaluate the antimicrobial activity of beta-caryophyllene against bacteria from dogs dental plaque *in vitro* and *in vivo*. The minimum inhibitory concentration (MIC) was evaluated by agar microdilution assay, the induction or inhibition of bacterial adherence by sub-inhibitory concentrations in 96-well plates, and reduction of dental plaque formation in mongrel dogs subjected to topical solution with beta-caryophyllene for 15 days. Results showed MICs above 100 mg/mL for 25% of the isolates, 100 mg/mL for 3%, 50 mg/mL for 25%, 25 mg/mL for 12%, 12.5 mg/mL for 19% and 6.25 mg/mL for 16%. Bacterial adherences of eight isolates were inhibited and three were stimulated to adhere by subinhibitory concentrations. *In vivo* assay showed reduction in dental plaque formation by beta-caryophyllene, with final plaque coverage of 23.3±2.6% of the total area of the teeth, with significant difference compared with chlorhexidine group (37.5±3.7% - p<0.05) and negative control group (65.5±2.5% - p<0.001). Results showed minimum inhibitory concentrations above 100 mg/mL for 25% of the isolates, 100 mg/mL for 3%, 50 mg/mL for 25%, 25 mg/mL for 12%, 12.5 mg/mL for 19% and 6.25 mg/mL for 16%. Bacterial adherences of eight diferent isolates were inhibited by subinhibitory concentration. One *Lactococcus* sp., one *Bacillus* sp. and one *Streptococcus* sp. were stimulated to adhere by concentrations of 0.19, 1.56 and 0.78 mg/mL, respectively. *In vivo* assay showed reduction in dental plaque formation by beta-caryophyllene, with final plaque coverage of 23.3±2.6% of the total area of the teeth, with significant difference compared with chlorhexidine group (37.5±3.7% - p<0.05) and negative control group (65.5±2.5% - p<0.001). The results showed that beta-caryophyllene has antimicrobial activity against the proliferation of dogs dental plaque-forming bacteria representing a suitable alternative to the use of chlorhexidine in prophylaxis and treatment of periodontal disease of dogs.

Acknowledgements: PROPP-UFJF, FAPEMIG, CAPES and CNPq

Caracterização fenotípica e molecular da resistência a claritromicina em *Mycobacterium abscessus* isolados no estado do Pará, norte do Brasil

Quaresma Ana Judith Garcia¹, Lopes Maria Luiza², Da Costa Ana Roberta Fusco², Lima Karla Valéria Batista². ⁽¹⁾ Seção de Bacteriologia e Micologia, Instituto Evandro Chagas/Ministério da Saúde do Brasil, Ananindeua, BR ⁽²⁾ Seção de Bacteriologia e Micologia, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, BR

Os membros do grupo *M. abscessus* são importantes patógenos oportunistas, intrinsecamente resistentes a maioria dos antibióticos disponíveis. Curiosamente, exibem variável sensibilidade à claritromicina, principal droga oral utilizada no tratamento, observada inclusive entre linhagens da mesma espécie. Avaliou-se 59 isolados sendo 12 de *M. abscessus*, 19 de *M. bolletii* e 28 de *M. massiliense* obtidos a partir de amostras pulmonares e extrapulmonares isolados no Estado do Pará no período de 2004 a 2014, para determinar o perfil fenotípico e molecular associado à resistência a claritromicina. A suscetibilidade aos antimicrobianos foi determinada utilizando painel comercial *RAPMYCOI* com leitura realizada após 3 dias de incubação, exceto para claritromicina, para qual a incubação foi estendida para 14 dias, segundo as recomendações do CLSI. Os genes *rrl*, *rplD*, *rplV* e *erm(41)* foram analisados por PCR seguida de análise por sequenciamento onde avaliou-se a presença de mutações, a característica do gene *erm(41)* e a presença de polimorfismos. Todos apresentaram resistência para sulfametoxazol/trimetoprim, minociclina, e tobramicina. Para ciprofloxacino, doxiciclina, moxifloxacino e imipenem foram observados 98%, 98%, 90% e 81% de resistência, respectivamente. A resistência a claritromicina foi observada em 75% dos isolados sendo 34% de resistência adquirida e 41% de resistência induzida. Entre as subespécies foi observado 100% de resistência a claritromicina em *M. bolletii*, 92% em *M. abscessus* e 50% em *M. massiliense*. As mutações nos genes *rrl*, *rplD* e *rplV* relacionadas à resistência a claritromicina não foram exibidas pelos isolados deste estudo. Em relação ao *erm(41)*, os isolados de *M. massiliense* apresentaram o gene truncado, já os isolados de *M. bolletii* e *M. abscessus* exibiram o gene completo sendo que 100% dos isolados de *M. bolletii* apresentaram o polimorfismo T28 e 3 isolados de *M. abscessus* apresentaram a substituição C28 contudo apenas 1 mostrou-se sensível a claritromicina. A resistência à claritromicina no grupo *M. abscessus* foi elevada inclusive na subespécie *M. massiliense*. A identificação em nível de subespécie e a detecção da deleção no gene *erm(41)* não são suficientes para prever a suscetibilidade aos macrolídeos. Esses achados reforçam a necessidade de realização de testes de sensibilidade em todos os isolados do grupo *M. abscessus*.

Instituto Evandro Chagas/SVS/MS

JU093

Avaliação da diversidade de fungos filamentosos celulolíticos isolados de ambiente costeiro

Araújo João Gabriel Saback¹, Johnson Norman Heleno¹, Nascimento João Victor Fernandes¹, Nascimento Rodrigo Pires¹.

⁽¹⁾ Engenharia Bioquímica, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR

O território brasileiro possui uma grande biodiversidade, tornando-o um excelente “hotspot” para o isolamento de novos microrganismos com potencial biotecnológico. Dentre os ecossistemas brasileiros, os ambientes costeiros, como Restinga e Manguezal, apresentam características peculiares pelo encontro da faixa litorânea arenosa e salina com vegetação herbácea, representando um ambiente pouco explorado no estudo de biodiversidade de fungos filamentosos e outros microrganismos. Os fungos são capazes de produzir uma série de enzimas hidrolíticas com potencial biotecnológico, como as proteases, ligninases, celulasas e xilanases. Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar a biodiversidade de fungos filamentosos celulolíticos isolados de sedimento arenoso e manguezal da Restinga de Marambaia, Rio de Janeiro. Doze amostras ambientais (3 sedimentos de manguezal e 9 sedimentos arenosos próximos a arbustos) foram coletadas e os fungos isolados, através da técnica da diluição seriada, em meio seletivo contendo 1% (p/v) celulose microcristalina. Após incubação a 28°C por 10 dias, 190 fungos foram isolados, conservados em água estéril. As linhagens fúngicas foram crescidas em meio Agar Malte 20% e identificadas, em nível de gênero, através da observação microscópica (aumento de 100x e 400x) das estruturas de reprodução no estágio anamórfico, pela técnica do microcultivo. Os fungos foram identificados como pertencentes aos gêneros *Penicillium* (35%), *Aspergillus* (22%), *Trichoderma* (9%), *Memnoniella* (1%), *Cladosporium* (2%), *Mycotypha* (0,5%), *Phanerochaete* (0,5%), *Rhizopus* (1%), *Paecilomyces* (2%), *Verticillium* (0,5%), *Curvularia* (0,5%), *Gonatobotrys* (0,5%), *Chlamydomyces* (1%), *Talaromyces* (0,5%), *Botryotrichum* (0,5%), *Chrysosporium* (1%) e *Scopulariopsis* (0,5%). 21% das linhagens não foram identificadas. O potencial celulolítico das linhagens de fungos foi avaliado por fermentação submersa (7 dias a 28°C / 180 rpm) utilizando 1% (p/v) papel de filtro como substrato. A atividade de endoglucanase foi quantificada através da técnica de DNS. Os melhores resultados foram observados com as linhagens *Penicillium* sp. M6-23 (1.088,47 U.L-1), *Trichoderma* sp. M6-50 (1.020,44 U.L-1), *Mycotypha* sp. M11-12 (1.015,94 U.L-1) ao fim de 7 dias. Os resultados aqui obtidos sugerem o grande potencial biotecnológico de ambientes costeiros, como a Restinga de Marambaia, no isolamento de fungos filamentosos celulolíticos.

CNPq

Potencial prebiótico e avaliação nutricional da farinha de batata doce de polpa alaranjada

Nascimento Camila Olimpio¹, Cunha Júnior Paulo Cezar Da¹, Silva César Augusto Da², Santos Matheus Augusto Silva¹, Maria Ivone Barbosa Martins². ⁽¹⁾ Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos - Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, BR ⁽²⁾ Departamento de Tecnologia de Alimentos - Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, BR

A batata doce (*Ipomoea Batatas*) é um tubérculo amplamente consumido, que apresenta diversas cultivares, em especial a batata doce de polpa alaranjada (BDPA), sendo esta fonte de β -caroteno, um carotenoide que além de ser um pigmento natural, possui atividade pró-vitâmica A. No Brasil seu consumo é discreto, ao contrário de países da África e Ásia. A fim de incorporar este tubérculo na alimentação dos brasileiros, uma das alternativas tem sido seu processamento, como a obtenção de farinha, com o objetivo de aumentar sua vida útil e tornar mais versátil sua utilização. Devido sua coloração, estudos indicam a sua aplicação como corante natural em produtos lácteos, em especial, fermentados. Porém, poucos são os estudos que avaliam o potencial prebiótico desta farinha frente a micro-organismos, como o *Lactobacillus casei*. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial prebiótico da farinha de BDPA na incorporação em produtos lácteos e compará-lo a prebióticos já utilizados, como os frutooligossacarídeos (FOS). A BDPA (variedade IAPAR 69) foi obtida no Sistema Integrado de Produção Agroecológica – SIPA (220 48'00" de latitude Sul e 430 41'00" de longitude Oeste). A farinha foi obtida em desidratador com circulação de ar em temperatura de 55 °C /24 h. Foram utilizadas duas concentrações de farinha (2,5 % m/v e 5,0 % m/v), 2,5 % m/v de FOS e leite desnatado estéril (controle). As condições de processo fermentativo foram as seguintes: 12 horas de fermentação, 37 °C e anaerobiose e um inóculo de *Lactobacillus casei* (L. casei 01 – CHR Hansen®) com contagem inicial de 6,50 log UFC.mL⁻¹. Foram obtidas as seguintes contagens em placas: 9,44 log UFC.mL⁻¹; 9,59 log UFC.mL⁻¹; 9,16 log UFC.mL⁻¹; 9,03 log UFC.mL⁻¹, respectivamente. Além disso, foi avaliada a acidificação do leite por potenciometria, tendo as seguintes leituras de pH: 4,82; 4,16; 4,74; 5,10, respectivamente. Também foram avaliadas a cor instrumental, índice de acidez, teor de carotenoides e amido resistente da farinha de BDPA. A partir das contagens obtidas, é possível constatar que a adição de farinha de BDPA apresenta efeito prebiótico e, quando comparado ao FOS, a mesma propiciou um melhor desenvolvimento do *Lactobacillus casei*.

Os autores gostariam de agradecer às seguintes instituições: CNPq (CNPq/MCTIC N 016/2016), CAPES, UFRRJ e PPGCTA.

JU095

Evaluation of β -glucosidases production by *Penicillium* sp. I7-05 and *Trichoderma reesei* RUTC30 using agro-industrial by-products

Oliveira Matheus Uchoa¹, Silva Lucas Cardoso², Nascimento Rodrigo Pires³. ⁽¹⁾ Escola de Química, Biotecnologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Rio de Janeiro, BR ⁽²⁾ Escola de Química, Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Rio de Janeiro, BR ⁽³⁾ Escola de Química, Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Rio de Janeiro, BR

Fungi are an extremely diverse group of chemoorganotrophic eukaryotic microorganisms which are exploited for various biotechnological applications. The mainly industrial applications are in the production of organic acids, health foods, antibiotics, and enzymes. There are a several genus of filamentous fungi which could be used for industrial applications, as *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Phanerochaete*, etc. *Penicillium* and *Trichoderma* species have been used as a model of basic studies with enormous biotechnological potential. Some species could be used in biocontrol and mycoparasitism, besides the use of several secondary metabolites, such as antibiotics and industrial enzymes, as cellulases, hemicellulases, amylases, peptidases, lipases, etc. β -glucosidases (BGU) are cellulases enzymes very important on biomass conversion of hexose fraction. So the present work aimed study the production of BGU from *Penicillium* sp. I7-05 and mutant strain *Trichoderma reesei* RUTC30 using a minimal medium in the presence of agro-industrial by-products. The strains were inoculated in conical flasks (250 mL) containing 50 mL of distilled water, pH 5.0, supplemented with 2% (w/v) sugarcane bagasse *in natura* (SCB), sugarcane straw *in natura* (SCS) and wheat bran (WB) in the presence or not of 0.3% (w/v) yeast extract (YE). The fermentation systems were incubated at 180 rpm for 3 and 6 days at 28°C. Aliquots were collected and enzymatic assay was carried out by quantification of released of *p*-nitrofenil from colorimetric substrate. When WB supplemented with YE condition was used, the best BGU activity produced by *Penicillium* sp. I7-5 was 13.74 U.mL⁻¹ while for *T. reesei* RUTC30 was 47.02 U.mL⁻¹, after 6 days. However, when WB was used alone, the BGU activity produced by *Penicillium* sp. I7-5 was 25.07 U.mL⁻¹ while for *T. reesei* RUTC30 was 32.91 U.mL⁻¹, after 6 days. The results showed the biotechnological potential of wild strain *Penicillium* sp. I7-05 to produce BGU in comparison to mutant strain *T. reesei* RUT-C30, using a low cost fermentation media.

Financial Support: CNPq

Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) 22 para o uso de soro de leite e sacarose na fase de inóculo da bactéria *Ralstonia solanacearum* RS produtora de P(3HB)

De Oliveira Patricia Diaz¹, Alves Mariane Igansi², Macagnan Karine Laste¹, Torres Matheus Marques³, Piecha Camila Rios³, Moreira Angelita Silveira⁴. ⁽¹⁾ Laboratório de Biopolímeros, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR ⁽²⁾ Laboratório de Biopolímeros, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS, Pelotas, BR ⁽³⁾ Laboratório de Biopolímeros, Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR ⁽⁴⁾ Laboratório de Biopolímeros, Química de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR

Poli(3-hidroxibutirato) P(3HB) é um biopolímero biodegradável da família dos Polihidroxicanoatos (PHA) acumuladono citoplasma microbiano como corpos de inclusão lipofílicos para reserva de carbono e energia. O soro do leite é o líquido amarelo-esverdeado resultante da precipitação e remoção das caseínas do leite durante o processo de fabricação de queijos. É considerado um importante coproduto na indústria de laticínios, devido ao grande volume produzido além da sua composição. Obtenção de inóculos densos são o passo inicial para uma produção relevante de P(3HB). Objetivou-se estudar o efeito combinado de sacarose e soro de leite no crescimento celular na fase de inóculo de *Ralstonia solanacearum* RS em agitador incubador orbital utilizando DCCR 22. A bactéria, cedida pelo Laboratório de Bacteriologia da FAEM, UFPel, foi primeiramente incubada a 32°C, durante 72 h, em meio sólido *Nutritive Yeast Agar*; após, as células foram diluídas em meio líquido YM modificado, pH 6; até atingirem densidade óptica (DO600 nm) inicial de 0,5 abs. As condições de incubação foram 32°C e 150 rpm durante 24 h em Erlenmeyer aletados de 500mL com 200 mL de meio. Testou-se 11 combinações diferentes de sacarose (15 a 40 g/L) e soro de leite (15 a 60 g/L). Avaliou-se pH, DO600nm do caldo fermentado, MCS, consumo de açúcar e nitrogênio residual em 24h. Observou-se maior crescimento celular na combinação de 12,9 g/L de sacarose e 37,5 g/L de soro de leite, resultando DO600 nm de 13,73 abs, MCS de 5 g/L, consumo de açúcar foi de 85,8 %, nitrogênio residual de 77,81 mg/dL nas combinações de 45g/L de sacarose e 60 g/L de soro. O pH final variou entre 7,6 (15 g/L e 15 g/L) e 5,9 (30 g/L e 37,5 g/L). Concluiu-se que a melhor combinação de sacarose e soro de leite para crescimento celular nesse estudo foi de 12,9 g/L de sacarose e 37,5 g/L de soro de leite.

Os autores agradecem ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UFPel pelo apoio no desenvolvimento da pesquisa

Microalgas no tratamento de esgoto

Oliveira Raquel Gomes¹, Santiago Aníbal Fonseca², Fabio Vassoler¹, Silva Ludymyla Marcelle Lima¹. ⁽¹⁾ Departamento de Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Ouro Preto, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, BR ⁽²⁾ Departamento de Engenharia Civil, Universidade Federal de Ouro Preto, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, BR

Em busca de tecnologias sustentáveis e econômicas no tratamento de esgoto, que causem mínimos impactos ambientais e que no final do processo de tratamento gerem co-produtos, surge o tratamento a partir de microalgas. As microalgas são microrganismos fotossintéticos e utilizam energia luminosa para crescer, consumindo nitrogênio, fósforo e gás carbônico, além de poder acumular matéria orgânica na forma de proteínas, lipídios, carboidratos, hidrocarbonetos e outras moléculas e pigmentos. Existem diversos biorreatores que podem ser utilizados no cultivo de microalgas visando tanto a remoção de nutrientes em esgoto quanto a produção de biomassa, como os fotobiorreatores, “open ponds” e lagoas de alta taxa (LATs) e nestes sistemas, o tratamento do esgoto ocorre através da interação ecológica entre microalgas e bactérias. Este estudo teve como objetivo avaliar o crescimento de biomassa algal e o tratamento de esgoto em um sistema de fotobiorreator aberto iluminado por diodos emissores de luz (LED), operado em regime contínuo com vazão de 2,88 L dia⁻¹ e simulando o funcionamento de uma LAT. A combinação de dois comprimentos de onda de LED azul e vermelho foi utilizada visando uma melhor produtividade de biomassa e melhoria no tratamento do esgoto doméstico sintético utilizado para análise. Foram medidos os sólidos suspensos voláteis (SSV), para analisar o crescimento da cultura mista de microalgas, composta predominantemente pelo gênero *Chlorella* Beyerinck 1890 (Beijerinck). A análise da demanda química de oxigênio (DQO) foi realizada para verificar a remoção de matéria orgânica e outros parâmetros de controle foram analisados diariamente como pH, temperatura e oxigênio dissolvido. O maior valor de SSV encontrado foi de 400 mg L⁻¹ e o valor médio de 253,1 ± 74,2 mg L⁻¹, valores semelhantes são encontrados na literatura. Além disso, o fotobiorreator sob valor de carga orgânica volumétrica na ordem de 123,4 ± 4,6 g DQO m⁻³dia⁻¹ e carga biológica 10,5 mg DQO / mg SSV foi eficiente na remoção de matéria orgânica, apresentando um porcentual máximo de remoção de 90,3 ± 1,7%, que se apresenta acima do estabelecido pela Deliberação Normativa Conjunta 430/2011 do Conselho Estadual de Política Ambiental do Brasil.

Agradecimento especial às fontes de financiamento deste trabalho: FAPEMIG, Fundação Gorceix e CNPQ

Identificação e atividade antagonista *in vitro* de actinobactérias para o biocontrole de *Fusarium verticillioides*, agente causal da podridão do colmo em milho (*Zea mays* L.)

Dornelas João Carlos Maia¹, Figueiredo José Edson Fontes³, Gomes Eliane Aparecida², Oliveira Christiane Abreu³, Lana Ubiraci Gomes De P², Marriel Ivanildo Evódio³, Stoianoff Maria Aparecida Resende¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR ⁽²⁾ NBA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Sete Lagoas, BR ⁽³⁾ NFIT, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Sete Lagoas, BR

As doenças causadas por fungos do gênero *Fusarium* na cultura do milho vem assumindo grande importância devido à ausência de métodos eficientes de controle. Nas últimas décadas, o controle das doenças na agricultura tem se intensificado, sendo realizado basicamente através do emprego de produtos sintéticos sendo a busca de substitutos para estes produtos uma alternativa de interesse econômico e ecológico bastante promissor. Assim, o controle biológico com o uso de micro-organismos mostra-se como importante estratégia viável e sustentável para preservar a cultura e reduzir o uso de agroquímicos. As actinobactérias representam um grupo abundante e diversificado de bactérias filamentosas Gram-positivas encontradas principalmente no solo e que se destacam pela capacidade em produzir inúmeros compostos bioativos. O objetivo do trabalho foi identificar por meio de método molecular e selecionar *in vitro* isolados de actinobactérias com potencial antagonista para o biocontrole de *Fusarium verticillioides*. Foram identificados através do sequenciamento parcial da região 16S rDNA e avaliados *in vitro* 69 isolados de actinobactérias pertencentes à Coleção de Cultura de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo, isoladas de amostras ambientais diversas contra a espécie *F. verticillioides* por meio do método de culturas pareadas. Em placas de Petri contendo meio sólido BDA foram depositados, equidistantemente, quatro propágulos de diferentes actinobactérias e ao centro da placa foi depositado um disco contendo o micélio do fungo. As placas foram incubadas por 168 horas a 25°C e, em seguida, a presença de zonas de inibição, indicativas de antibiose foram determinadas em % pela equação: $(ZI) = (\text{Ø halo total} - \text{Ø colônia}) / \text{Ø colônia} \times 100$. Os resultados da análise molecular revelou a existência de uma alta variabilidade entre os isolados, agrupados em três gêneros: *Streptomyces* (82,6%), *Amycolatopsis* (10,1%) e *Kitasatospora* (7,3%). A técnica de pareamento demonstrou que 40,0% dos isolados pareados com *F. verticillioides* apresentaram atividade antagonista. Os maiores índices de inibição foram apresentados pelos isolados AC 26, 80 e 363, identificados como *Streptomyces* sp. A identificação de actinobactérias com atividade antagonista contra *F. verticillioides* viabiliza o uso destes micro-organismos como estratégia de biocontrole da podridão do colmo no milho no Brasil.

UFMG, EMBRAPA, CAPES, CNPq, FAPEMIG.



JU099

Mycelial characteristics of *Talaromyces amestolkiae* associated with its colorants production in shake flasks and stirred-tank bioreactor

Fernanda Oliveira¹, Santos-Ebinuma Valéria Carvalho¹. ⁽¹⁾ Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara, BR

There is a trend towards the replacement of synthetic colorants by natural ones, mainly because of the increase of consumer demand for natural products. In this work, the effect of several mineral elements on *Talaromyces amestolkiae* colorants production in shake flask cultures were studied according to Plackett-Burman design. Preliminary studies using the best condition obtained on shake flasks were performed in a 4L stirred-tank bioreactor. The extracellular colorants produced were estimated by reading the absorbance of supernatant at 410, 470 and 500 nm. Moreover, the colorants were submitted to colorimetric and 3D-fluorescence analysis. Mycelial morphology was observed by Scanning electron microscopy. Higher colorants production was obtained in the presence of Mg^{2+} , Fe^{2+} and Ca^{+} in the culture at their maximal level (6, 10 and 15 mg/L, respectively). The statistical analysis demonstrated that increasing Mg^{2+} enhances red colorants production. An additional assay was performed varying Mg^{2+} concentration in the culture medium. The colorimetric analysis resulted in lower hue angles and high chroma values that corresponded to deep red color and agreed with the results of absorbance with the maximum production achieved (13.44 UA500nm) at 12 mg/L of Mg^{2+} . Furthermore, higher amounts of Mg^{2+} showed inhibitory effect for colorants biosynthesis. An untied mycelia hyphae with high rate of sporulation were observed. Interestingly, the increase of Mg^{2+} in the medium led to a remarkable increase in glucose consumption without raise on cell production, which is extremely important in scale-up processes. The fluorescence spectrum presented three distinct areas of fluorescence with emissions wavelengths at yellow and blue fluorescence spectra. Regarding the scale-up process in stirred-tank bioreactor, although it produced almost 3-fold less than in shake flasks culture, there was no change in growth, spectral and fluorescence pattern and fungal forms from best flasks condition to bioreactor culture. The lowest colorants production in bioreactor probably occurred because of not efficient oxygen and mass transfer. So, the volumetric oxygen transfer coefficient (kLa) is fundamental in scale-up processes and should be deep studied. These values demonstrate the feasibility of producing natural colorants with a possible use for food industry and as fluorescent probes for pharmaceutical purposes.

CNPq and FAPESP



JU100

Evaluation of polyhydroxyalkanoates and exopolysaccharide synthesis in fast-growing antarctic bacterium using low cost feedstocks

Matias Orellana¹, Nicolas Pacheco¹, Ignacio Poblete-Castro¹. ⁽¹⁾ Centro de Bioinformática y Biología Integrativa, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL

Background. Petrochemical-based plastics have polluted the earth as small particles exerting detrimental effects on natural life and human health. In an attempt to obtain more environmental-friendly polymers, efforts have been made to develop the microbial conversion of renewable raw materials into biopolymers. Among the best-studied biodegradable polymers, polyhydroxyalkanoates (PHAs) are promising biomaterials, which similar properties than petroleum-based plastics. PHAs accumulate in the cytoplasm of various bacterial cells under nutrient imbalance. This kind of biopolymers are currently being produced at industrial scale, but the high costs associated to the production, hinder the overtake of conventional plastic market. Various Antarctic psychrophilic bacteria from the genus *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas*, and *Halomonas* have been reported to accumulate PHAs as a mechanism to cope with the harsh environmental conditions where they thrive. In the pursuit of obtaining biopolymers with improved functionalities, we characterized two *Pseudomonas*-like strains from Antarctic soil, which show high titers of PHAs at 4°C and 30°C. The main aim of this work is to characterize the PHA and Exopolysaccharide (EPS) production capacity of both bacterial strains on glycerol as well as the metabolic response to stress condition such as high salinity and heavy metals. **Methods.** We used two Antarctic bacterial strains (MPC5 and MPC6) to evaluate PHA production and EPS synthesis at two different growth-temperature conditions. The strains were propagated in minimal medium using glycerol as carbon source in flask cultures and 3 L top-bench bioreactor. Additionally, the bacteria were cultured in different concentration of metals (Cd, Cu, As) to evaluate the minimal inhibitory concentration. Furthermore, a wide range of NaCl titers were also tested in both strains. **Results.** We found that MPC5 and MPC6 strains had a specific growth rate of 0.28 and 0.30 (1/h) respectively at 30°C. The specific growth rate of the MPC5 strain diminished (90%) but not in the MPC6. MPC5 and MPC6 accumulated high levels of PHAs and EPS in both growth-temperatures. **Conclusions.** The strains MPC5 and MPC6 are capable to produce PHA and EPS at high levels to 4 and 30°C. They show different growth patterns, which we attributed to the secretion EPS and PHA production.

FONDECYT Inicio 11150174

JU101

Co-purificação e caracterização bioquímica da fosfatase e fitase alcalinas de *Rhizopus microsporus* var. *microsporus* produzidas em fermentação submersa

Ornela Pedro Henrique O¹, Guimarães Luis Henrique S². ⁽¹⁾ Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, BR ⁽²⁾ Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, BR

Fosfatases (EC 3.1.3) e fitases (EC 3.1.3.8 e EC 3.1.3.26) são enzimas com potencial de aplicação em diferentes setores, como na indústria de alimentos e rações, e em biologia molecular. As fosfatases hidrolisam ésteres e anidridos do ácido fosfórico, enquanto as fitases atuam sobre o ácido fítico. Ambas as enzimas podem ser encontradas em procariotos e eucariotos, sendo que entres estes últimos, os fungos filamentosos vêm se destacando como bons produtores. Desta forma, nossos objetivos foram purificar e caracterizar bioquimicamente a fosfatase e fitase alcalina extracelulares produzidas por *R. microsporus* var. *microsporus* em fermentação submersa (FSbm). A FSbm foi realizada em meio Khanna com 0,5% (m/v) de farinha de centeio, a 32°C, pH 6,3, 100 rpm por 72 h. Após a filtração sob vácuo, o filtrado bruto foi utilizado como fonte de enzima extracelular. As atividades fosfatásica e fitásica foram determinadas usando 2,5 mmol.L⁻¹ de *p*-nitrofenilfosfato e 1% (m/v) de ácido fítico como substratos, respectivamente, ambos em tampão Tris-HCl 100 mmol.L⁻¹, pH 8,0. Ambas as enzimas foram co-purificadas até a homogeneidade eletroforética (SDS-PAGE 12%) empregando-se dois passos cromatográficos, DEAE-Celulose e Sepharose CL-6B. A fosfatase alcalina foi purificada 10 vezes com recuperação de 13%, e a fitase alcalina 86 vezes com recuperação de 167%, respectivamente. A fosfatase alcalina apresentou massa molecular de 122 kDa, com temperatura e pH ótimos de atividade de 45°C e 8,5, respectivamente, e tempo de meia vida (T50) de 40 min a 50°C, sendo ativada na presença de FeCl₃. A fitase alcalina apresentou massa molecular de 55 kDa, com temperatura e pH ótimos de atividade de 65°C e 9,5, respectivamente, mantendo sua atividade acima de 60% a 80°C por 270 min. Ambas enzimas foram estáveis em diferentes solventes, sendo a atividade fitásica reduzida por detergentes. A fosfatase melhor hidrolisou o substrato *p*-nitrofenilfosfato, seguido por ATP. O Km e Vmax foram de 0,45 e 3,95 para a fosfatase, e 0,41 e 2,46 para a fitase. Assim, as enzimas foram caracterizadas, evidenciando-se suas importantes características bioquímicas, além de ser a primeira caracterização de uma fitase alcalina fúngica.

Agradecimentos a FAPESP e CNPq pelo apoio financeiro e ao Maurício de Souza pelo apoio técnico.



JU102

Improving the biosorption of Au(III) by *Lysinibacillus sphaericus* immobilized in alginate spheres and electrospun nanofibers

Carolina Páez-Vélez¹, JL Castro-Mayorga², Jenny Dussán-Garzón¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigaciones Microbiológicas (CIMIC), Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Bogotá, CO ⁽²⁾ Grupo de investigación en Nanobiotecnología y Microbiología Aplicada (NANOBIOT), Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Bogotá, CO

Previous studies have shown that free cells of *Lysinibacillus sphaericus* are capable of gold sorption and there are evidences of the biosynthesis of nanoparticles from that metal. Nevertheless, it took 48 hours for the cells to adsorb 98% of the gold in solution. Therefore, a cell immobilization protocol was developed to enhance the efficiency of Au(III) sorption. The free cells of *L. sphaericus* were immobilized by entrapment in alginate spheres. The results showed that the immobilized cells adsorbed 71% of the total Au(III) in 2 hours, 30% more than the free cells in the same period of time. The spheres without cells retained only 18% of the dissolved metal. The presence of cells within the spheres was verified by SEM and there was evidence of biosynthesis of triangular gold nanoparticles by an EDS analysis and a red color observed inside the alginate spheres. A second immobilization strategy based on nanotechnology is also being developed. Chitosan/polyvinyl alcohol nanostructured membrane was fabricated via electrospinning. The electrospun fiber obtained was characterized with SEM. The morphological analysis showed nanofibers with diameters between 200-300 nm within the structure. This morphology is suitable for immobilization of *L. sphaericus* and the S-layer of this bacterium and for further bioadsorption studies.

JU103

Eficiência da biosolubilização de fosfato “in vitro” resultante da mistura de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus* sp.

Ribeiro Vitória Palhares¹, Diniz Gisele De Fátima Dias², Ferreira Fabrício Nascimento³, Marriel Ivanildo Evódio⁵, Gomes Eliane Aparecida⁴, Lana Ubiraci Gomes Paula⁴, De Sousa Sylvia Moraes⁴, Oliveira Christiane Abreu De⁵. ⁽¹⁾ Programa de pós graduação em Bioengenharia, Universidade Federal de São João del Rei, São João del Rei, BR ⁽²⁾ Programa de pós graduação em Ciências Agrárias, Universidade Federal de São João del Rei, Sete Lagoas, BR ⁽³⁾ Unidade de Ensino em Ciências Gerenciais- Engenharia Ambiental, Centro Universitário de Sete Lagoas, Sete Lagoas, BR ⁽⁴⁾ Núcleo de Biologia Aplicada, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- Milho e Sorgo, Sete Lagoas, BR ⁽⁵⁾ Laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- Milho e Sorgo, Sete Lagoas, BR

O fósforo (P) é indispensável para todos os organismos e apresenta baixa disponibilidade para as plantas. Uma das alternativas para minimizar esse problema está na solubilização de fosfatos insolúveis por microrganismos solubilizadores. O objetivo do estudo foi avaliar o potencial de duas estirpes de *Azospirillum brasilense* (1626 e 2142) e duas estirpes de *Bacillus* sp. (B116 e B2084) inoculadas de forma isolada e mista na biossolubilização de fosfato. As estirpes foram crescidas em meio de cultura líquido contendo fosfato de cálcio (P-Ca), ferro (P-Fe) e fitato de sódio (P-Fit) durante nove dias. Para determinação do P solúvel foi utilizado o método colorimétrico e as leituras realizadas no espectrofotômetro em 880 nm. Ocorreu diferença significativa para as estirpes testadas de forma isoladas e mistas nos três meios de cultura utilizados, sendo que os tratamentos com adição de P-Ca apresentaram, em média, melhor atividade solubilizadora. As estirpes isoladas B116 e B2084, e as combinações B116x2142, B116x1626, B2084x2142, 2142x1626 apresentaram elevada liberação de P solúvel a partir de P-Ca, comparado com o valor do controle não inoculado e as demais estirpes, sendo que, para a combinação 2142x1626 a liberação de P foi superior com relação a essas estirpes isoladas. As formas mistas B116x2142, B116x1626, B2084x2142 e 2142x1626 também apresentaram valores altos de liberação de P solúvel a partir de P-Ferro, variando de 36 mg P L-1 a 41 mg P L-1. A mistura de B2084x2142 foi superior com relação a essas estirpes isoladas. A taxa de P-Fit, variou-se de 3,64 mgP L-1 a 28,67 mgP L-1, sendo que os maiores valores comparado com o valor do controle não inoculado e as demais estirpes, ocorreram para as combinações B2084xB116, B2084x2142 e para as estirpes puras de *Bacillus* sp. (B116 e B2084) com a liberação de 28,67 mgP L-1; 16,15 mgP L-1; 12,15 mgP L-1 e 24,67 mgP L-1 respectivamente. Concluiu-se que em geral, as formas mistas de *Bacillus* sp. e *Azospirillum brasilense* apresentaram maior biossolubilização de P em relação aos valores apresentados pelas cepas isoladas. Isso indica que as combinações analisadas podem ser testadas em testes futuros em plantas, como inoculantes.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Milho e Sorgo,

CNPq,

FAPEMIG,

UFMG,

UFSJ.

JU104

Caracterización de hemaglutinina de unión a heparina (HBHA) de *Mycobacterium tuberculosis* expresada en *Rhodococcus erythropolis* como proteína metilada y asociada a cuerpos lipídicos

María Cristina Parada¹, Neri Cecilia Badillo², Segura Erika Salinas², Guzman Silvia Laura Gutierrez³, Silva Mayra Miranda², Vallecillo Antonio Javier Maza², Arreguin Roberto Espinosa D⁴, Espitia Clara I Pinzón². ⁽¹⁾ Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México ⁽²⁾ Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas,, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, MX ⁽³⁾ Biomoléculas, Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, MX ⁽⁴⁾ Biomacromoléculas, Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, MX

Antecedentes: La proteína Hemaglutinina de Unión a Heparina (HBHA) es un antígeno de *M. tuberculosis* que interacciona con los proteoglicanos de las células epiteliales del hospedero a través del dominio C-terminal rico en lisinas el cual está asociado con la diseminación extra-pulmonar de *M. tuberculosis*. Además, este dominio está modificado post-traduccionalmente con grupos metilos en estas lisinas, cuya presencia es importante para la inducción de una respuesta inmune protectora en animales retados con *M. tuberculosis*. Puesto que *E. coli*, no metila, se eligió al actinomiceto *Rhodococcus erythropolis* para la expresión de la HBHA. **Objetivo:** Expresión y caracterización bioquímica e inmunológica de la proteína HBHA de *M. tuberculosis* en *Rhodococcus erythropolis*. **Resultados/ Conclusiones:** Por Maldi-ToF la HBHA que se expresó en *R. erythropolis* presenta una masa mayor con respecto a la masa teórica de la proteína HBHA nativa, lo que sugirió la presencia de grupos metilos, confirmándose por su reactividad con un anticuerpo anti-metil-lisina. Interesantemente, se encontró que la rHBHA-*Rhodo* se asocia a cuerpos lipídicos cuando se crece al *R. erythropolis* en condiciones de privación de nitrógeno y exceso de carbono. Una observación importante fue que en un ensayo *in vitro* la proteína metilada, no interaccionó con los proteoglicanos de las células epiteliales a diferencia de la rHBHA-*E. coli*, sugiriendo que la metilación tiene un papel importante en la interacción de la HBHA-proteoglicanos. Las proteínas recombinantes fueron reconocidas por sueros de bovinos y humanos enfermos e infectados con *M. tuberculosis*; en los humanos la proteína metilada fue reconocida por anticuerpos de tipo IgM a diferencia de las IgG que reconocieron indistintamente por las proteínas de rHBHA-*Rhodo* o rHBHA-*E.coli*. Se han iniciado los ensayos para evaluar la actividad inmunológica de esta proteína en un modelo animal de tuberculosis pulmonar por aerosoles.

Fue hecha con el apoyo del Programa “Nuevas Alternativas de Tratamiento para Enfermedades Infecciosas” (NUATEI) del Instituto de Investigaciones Biomédicas UNAM y el Programa PAPIIT-UNAM: IN207717. Universidad Nacional Autónoma de México

JU105

Estudo do potencial biotecnológico de microrganismos com atividades enzimáticas de interesse industrial isolados a partir do sistema digestivo de peixes Curimatá

Pereira Samille Henriques¹, Silva Breno De Mello¹, Boutros Sarrouh². ⁽¹⁾ Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, BR ⁽²⁾ Departamento de Química, Biotecnologia e Engenharia de Bioprocessos, Universidade Federal de São João del Rei, Ouro Branco, BR

O Brasil possui um potencial significativo para a piscicultura, devido a sua grande extensão territorial e a grande quantidade de águas doces. Os microrganismos isolados de ambientes aquáticos apresentam um alto potencial biotecnológico. Os peixes Curimatás (*Prochilodus lineatus*) são abundantes e correspondem a maior parte da biomassa ictiológica de grandes massas de água. O aumento no consumo de peixes pela população mundial gera uma quantidade significativa de resíduos provenientes do processo de evisceração, provocando dessa forma danos ambientais. Sendo assim, esse trabalho teve por objetivo isolar e identificar microrganismos, com potencial para uso industrial, encontrados no trato digestivo do peixe Curimatá. Inicialmente, o trato digestivo foi colocado em uma solução salina e em seguida foi retirada uma alíquota e inoculada em placas Petri com meio ágar nutriente. As colônias isoladas foram identificadas bioquimicamente pelo teste de coloração Gram e pelo crescimento em meios seletivos (Ágar Eosina, Simmons Citrate e Ágar Manitol). Para avaliar a atividade enzimática, foi realizado testes em meios enriquecidos, com ácido tânico para avaliação da atividade tanásica, com carboximetilcelulose (CMC) 1% (p/v) para atividade celulolítica, e com ácido gálico para avaliação das fenoloxidasas. Dentre as cinco colônias isoladas denominadas BI1, BI2, BI3, LE1, BE2, foram identificadas microscopicamente quatro bactérias e uma levedura. Duas bactérias (BI1 e BE2) apresentaram uma coloração violeta (Gram-positiva) e duas (BI2 e BI3) uma coloração vermelha (Gram-negativa). As bactérias BI1 e BE2 fermentaram o meio ágar manitol e apresentaram coloração amarela, indicando serem estafilococcus positivo para coagulase, já a bactéria BI3, após a fermentação, apresentou coloração rosa, indicando estafilococcus negativo para coagulase. A levedura LE1 cresceu no meio ágar Eosina/Lactose, indicando ser capaz de fermentar lactose. Em relação à atividade enzimática, BI1, BI3 e LE1 apresentaram atividade tanásica, da mesma forma todos os microrganismos estudados apresentaram atividade celulolítica e apenas a LE1 apresentou atividade para a enzima fenoloxidase. As enzimas estudadas neste trabalho possuem aplicações em diversos processos biotecnológicos como, por exemplo, degradação de materiais lignocelulósicos para a produção de biocombustíveis, tratamento de efluentes, indústria alimentícia e síntese de compostos químicos de interesse industrial.

Agradecimentos: UFOP, UFSJ e Capes.

JU106

Efeitos da produção descontínua e contínua alimentada com sacarose na produtividade de P(3HB) produzido pela cepa brasileira *Ralstonia solanacearum* RS na fase de inóculo

Piecha Camila Rios¹, Alves Mariane Igansi², Macagnan Karine Laste², Perez Izadora Almeida², Torres Matheus Marques¹, Becker Jackson Gabriel Morais¹, Moreira Angelita Silveira², Oliveira Patrícia Diaz¹.⁽¹⁾ Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR ⁽²⁾ Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Química de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR

O Poli(3-hidroxibutirato) [P(3HB)] é um bioplástico microbiano biodegradável com propriedades físicas e mecânicas similares ao polipropileno. Entretanto, seu custo é maior. O aumento da produtividade dos processos fermentativos contribui para a redução do seu preço. Fermentações contínuas, geralmente, possuem maior produtividade. Assim, o objetivo foi estudar o efeito do modo de condução da fermentação contínua e descontínua na produtividade de P(3HB) por *Ralstonia solanacearum* RS na fase de inóculo, avaliando os parâmetros: Densidade Óptica (DO_{600nm}), Massa Celular Seca (MCS), produtividade de P(3HB), açúcar e nitrogênio residual. A produção do pré-inóculo foi realizada em Erlenmeyer de 500 mL contendo 200 ml de meio YM modificado, em incubador agitador orbital em 32°C, 150 rpm, e 24 h, até atingir DO_{600nm} de 0,5 abs a partir de repiques multiplicativos em meio AN sólido incubados por 72 h a 32°C. Após, foram transferidos 600 mL para biorreator de bancada, contendo 5400 mL de YM modificado com concentração inicial de 40 g/L de sacarose; utilizou-se aeração de 1 vvm, agitação de 250 rpm, 32°C por 48 h; avaliou-se o processo de fermentação descontínua e contínua alimentada, após 10 h, com uma vazão de entrada de 40 mL/h e de saída de 45 mL/h com o meio mesmo meio. A cada 2 h retirou-se 90 mL e analisou-se DO_{600nm} por espectrofotometria, MCS por gravimetria, rendimento de P(3HB) por extração química, açúcar por DNS e nitrogênio por método colorimétrico (*Lab Test*[®]). O processo descontínuo teve os maiores resultados de DO_{600nm} (23,9 abs em 36 h) e MCS (7,4 g/L em 48 h). O maior rendimento de P(3HB) foi em 26 h (44,3%) na fermentação contínua e 24 h (40,6%) na descontínua; mas a produtividade foi maior na fermentação descontínua (1,55 g/l/h contra 1,44 g/l/h). A concentração de açúcar final (48 h) foi maior no processo contínuo (24 g/L) e o nitrogênio residual final foi maior no processo descontínuo, sendo 0,29 g/L. Portanto, o processo descontínuo teve maior produtividade (11%) e os melhores custos benéficos de produção e crescimento celular, apesar do contínuo proporcionar o maior acúmulo de P(3HB).

In vitro control of the phytopathogenic bacterium *Streptomyces scabiei* by lemon and orange essential oils

M Cecilia Prieto¹, Claudia M Asensio¹, Carolina Vazquez², Carolina Merlo², Mariela Archilla², Enrique I Lucini², Nelson R Grosso¹. ⁽¹⁾ Departamento de Fundamentación Biológica, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, AR ⁽²⁾ Departamento de Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, AR

The genus *Streptomyces* (Order *Actinomycetales*) play an important role in soil nutrient cycling and produce biologically active secondary metabolites. Though, some *Streptomyces* species are important plant pathogens. *S. scabiei* has been widely described as the causal agent responsible for potato common scab (PCS), a worldwide disease that causes large economic losses. An alternative control strategy based on essential oils (EOs) could be appropriate. EOs are aromatic oily liquids obtained from aromatic plants. It is known that EOs of lemon and orange show antimicrobial activity against Gram-positive bacteria. The aim of this research was to determine the antibacterial effect of lemon (*Citrus limon* L. Burm.) and orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) EOs against *S. scabies*. Orange and lemon EOs were purchased in local market and were analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometry. Two bacterial strains of *S. scabies* were tested: M1, which was obtained by isolation from infected tubers harvested in Córdoba (Argentina), and M2, obtained from the Universidad de la República, Uruguay. Broad microdilution assay with resazurin (redox indicator) was carried out to determine the minimum inhibitory concentration (MIC). Additionally the minimum bactericidal concentration (MBC) was determined. Lemon EO result mainly composed by limonene (48.38%), α -Citral (18.85%) and β -citral (16.29%), follow by traces of β -linalool (1.69%). Orange EO presented Limonene (96.74%), followed by traces of myrcene (1.78%), 1R- α -pinene (0.66%) and sabinene (0.40%). Lemon EO was more effective against *S. scabiei*, showing the lowest MIC and MBC for both strains (MIC on M1 and M2 =0.1575 g/L; MBC on M1 =0.1575 g/L and M2 =0.1772 g/L). The antibacterial effectiveness of lemon EO could be attributed to the high concentration of α -citral and β -citral, and the presence of β -linalool, previously reported for their antimicrobial effects. The presence of limonene could explain, in part, the strong antibacterial activity of lemon EO, and also could be responsible for orange EO antibacterial effectiveness (MIC on M1 =0.3513 g/L, M2 =0.3864 g/L; MBC on M1 =0.4215 g/L and M2 =1.2290 g/L). The results indicate that lemon and orange EOs are a promising alternative in PCS control.

Prieto MC; Asensio CM; Merlo C y Grosso NR agradecen al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por el soporte económico.

JU108

Identificación de proteínas que participan en biosíntesis/estabilización de Quantum Dots de CdS en bacterias: Rol de la proteína E2 del complejo de la piruvato deshidrogenasa

Carolina Paz Quezada¹, Matías Vargas-Reyes¹, José Manuel Pérez-Donoso¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Bionanotecnología y Microbiología, Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL

Los quantum dots (QDs) son nanocristales (1-100 nm) semiconductores fluorescentes que presentan propiedades ópticas y electrónicas únicas. Estas propiedades (e.g. fotoluminiscencia de color ajustable y resistencia a degradación lumínica) permiten su aplicación en distintas áreas como biomedicina, Quantum dot display TV y en celdas solares. La síntesis biológica de QDs llevada a cabo por bacterias ofrece ventajas en relación a la síntesis química en cuanto a condiciones de producción más ecoamigables y económicas. El mecanismo por el cual las bacterias biosintetizan QDs así como la mayoría de las proteínas involucradas en el proceso aún se desconocen. En nuestro laboratorio hemos logrado establecer protocolos de biosíntesis de QDs con distintos metales (Cu y Cd) utilizando diferentes microorganismos. Logramos purificar QDs de CdS producidos por una enterobacteria, una bacteria halófila y otra acidófila. Luego determinamos mediante espectrometría de masas las proteínas que permanecieron unidas a estos QDs. El análisis de los resultados arrojó grupos de proteínas que fueron compartidas por los QDs purificados desde las 3 bacterias, entre ellos chaperonas, proteínas ribosomales, proteínas de unión a DNA, proteínas inducidas por estrés térmico y algunas enzimas. Una de estas enzimas, E2, fue expresada heterológamente en *E. coli* para evaluar su participación en la biosíntesis de QDs de CdS. En la cepa en que se sobreexpresó E2 se produjo una mayor intensidad de fluorescencia producida por los QDs. Al agregar esta enzima purificada a cepas que no la sobreexpresan también se observa un aumento en la fluorescencia de los QDs. Además, al agregar la enzima a una reacción de síntesis biomimética (sin bacterias) se observa que E2 favorece la síntesis de los QDs. Estos resultados sugieren la participación de la enzima E2 en la biosíntesis/estabilización de QDs de CdS en bacterias y también como un catalizador para la síntesis de QDs en ausencia de bacterias.

Este proyecto es financiado por FONDECYT postdoctorado 3170718 y FONDECYT regular 1151255.

JU109

Optimization of the decolorization process of a binary mixture of industrial dyes by the white-rot fungus *Irpex lacteus* under solid-state fermentation

Andrea Restrepo¹, Felipe Mejía Otálvaro¹, Andrés Merino Restrepo¹, Angelina Hormaza Anaguano¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Química Experimental, Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, CO

Aquatic ecosystems have been severely affected by increased discharges of industrial wastes with a high content of pollutants. This fact has endangered both the water resource and the biotic diversity that inhabits these ecosystems. Particularly, the textile industry discharges a large amount of effluents containing synthetic dyes, which are recalcitrant molecules that cause aesthetic problems in the landscape and affect the aquatic biota, leading to a decrease of photosynthesis. Thus, the combined methodology of adsorption with agroindustrial by-products and solid-state fermentation (SSF) has emerged as an efficient, economic and appropriate alternative to address this growing problem. The aim of the present study was to optimize the decolorization process of the binary mixture of dyes brilliant blue FCF (BB) and allura red AC (AR) adsorbed onto corncob (CC) under SSF conditions. Initially, 250.0±0.1 mg of dyed material with a load of 3.15 mg BB g⁻¹ CC and 3.58 mg AR g⁻¹ CC were taken. Subsequently, the adsorbent was inoculated with the fungus *Irpex lacteus* and incubated at 20°C for 20 days. Then, the optimal conditions were determined through a 2³ factorial design with a central point of the variables: percentage of humidity (%H) 60-80%, concentration of MnSO₄ 1-4 mM and concentration of veratryl alcohol (VA) 1-4 mM. Finally, the decolorization was quantified by UV-VIS spectrophotometry at the maximum wavelength of the dyes. The average maximum decolorization was 87.4% with 60% relative moisture, 4 mM MnSO₄ and 1 mM VA. The lowest level of %H can be attributed to the fact that SSF recreates the natural growth conditions of *I. lacteus*. Both MnSO₄ and AV are inductor of ligninolytic enzymes involved in the decolorization of these dyes, so it would be expected that the maximum decolorization would happen at their maximum concentrations, but the optimal one took place under the minimum concentration of VA, possibly because the dyes and nitrogen source supplied are also inductors of ligninolytic enzymes, so the effect of AV was not relevant. The obtained results showed the SSF with *I. lacteus* under the established conditions has the potential for large-scale bioremediation of effluents contaminated with dye mixtures.

The authors acknowledge “Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín” and COLCIENCIAS for the financial support of the project code 111871250685.

JU110

Optimization of culture conditions for intracellular oil production by *Fusarium solani*

Alvim Raquel Patrícia Rungue¹, Lyra Fernanda Henrique², Penido Fernanda C. Leal³, Takahashi Jacqueline Aparecida², **Rezende Flávia Gonçalves¹**. ⁽¹⁾ Departamento de Química, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR ⁽²⁾ Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR ⁽³⁾ Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR

Fixed oils have a great industrial applicability. Many researchers have studied the potential of the oleaginous microorganisms, also called Single Cell Oil (SCO), which can accumulate a minimum oil content of 20% in relation to their biomass, for the production of lipids on large scale. The use of microbial oil is interesting because there is no necessity to use large cultivation areas, there is no competition for food oil and the final product is considered bio-oil. In order to achieve lipid production by the SCO, excess of carbon sources and nitrogen privation are essential factors for the induction of lipogenesis. Therefore, the C/N ratio is the key to maximize this production. The carbon source is also responsible for modulation of the oil composition. One of the promising biotechnological applications for these oils is biodiesel, which reduces pollution and represents a clean and recyclable energy source. Microbial lipids can also be used in food and cosmetic industries as cocoa butter substitutes and polyunsaturated fatty acids sources. *Fusarium solani* is a filamentous phytopathogenic fungus capable of growing in several types of soils. In the present work, the *F. solani* ability to produce oil and the culture conditions to maximize this oil production were evaluated. The assays were performed altering the C/N ratios in the liquid culture medium composition. Glucose and yeast extract were used as carbon and nitrogen sources, respectively. The flasks were incubated for 21, 28 and 35 days. After incubation, the oil was extracted with hexane and dry biomass was determined. The results indicated that the C/N ratio of 130% in 21 days of incubation was the condition in which *F. solani* behaved as an SCO, producing more than 20% intracellular oil in relation to its dry biomass. However, the best condition for the highest lipid production, 1.23 g L⁻¹ of oil, was C/N ratio of 11% in 21 days of fermentation. Consequently, it was observed that a high C/N ratio in the culture medium, excess of carbon and limitation of nitrogen stimulated a decrease in the biomass produced and an increase in the lipid production.

CEFET-MG

JU111

Desarrollo, caracterización y evaluación de lisados bacterianos polivalentes como inmunoestimulantes para el tratamiento de infecciones respiratorias

Analía Rial¹, Florencia Ferrara¹, Norma Suárez¹, José Alejandro Chabalgoity¹. ⁽¹⁾ Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, UY

La prevención y/o tratamiento de las infecciones del tracto respiratorio (ITRs) sigue siendo un desafío de Salud Pública mundial. Las inmunoterapias basadas en la administración mucosa de lisados bacterianos polivalentes ha mostrado tener buenos resultados en la clínica. Si bien se han logrado importantes avances, aún restan por conocer mediadores específicos que permitan establecer un mecanismo de acción universal para ellos. En este trabajo, nos planteamos desarrollar lisados bacterianos polivalentes en condiciones eventualmente escalables a la industria y caracterizar tanto su composición como su actividad inmunoestimuladora. Trabajamos con cepas de colección de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* no tipificable, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*, crecidas en medios definidos o carentes de componentes animales. Se evaluaron dos procedimientos de lisis, habiéndose seleccionado el mecánico (frente al químico) por mostrar mejor conservación antigénica. A continuación, se formuló el lisado bacteriano polivalente (LBPM) y se avanzó en la caracterización de sus componentes y en la evaluación de su actividad biológica mediante ensayos *in vivo* e *in vitro*. La activación de células epiteliales alveolares con LBPM indujo un aumento significativo en la expresión de *Il6*, *Tnfa*, *Cxcl1*, *Cxcl8* y *Ccl20* (Fold changes: 25, 343, 11, 20, 143, respectivamente, en relación al control sin estimular). Además, LBPM también indujo la activación de NF-κB en la línea reportera de monocitos RAW- Blue (incremento de 17 veces con respecto al control sin estimular). Estos datos muestran la capacidad de LBPM de inducir una respuesta pro-inflamatoria *in vitro*. Por otro lado, la administración intranasal de LBPM, generó una fuerte respuesta de resistencia frente a la infección letal por *S. pneumoniae*, observándose una supervivencia superior al 80% en los animales tratados vs no tratados (0% supervivencia). Además, los animales depletados de neutrófilos presentaron igual supervivencia que los controles, lo que sugiere que éstos serían dispensables para la protección. De manera similar, trabajando con animales *Il17a*^{-/-} o *Casp1*^{-/-}, confirmamos que ninguno de estos dos mediadores serían esenciales en la respuesta de resistencia *in vivo*. Por último, considerando los resultados obtenidos a partir de la activación de la línea de epitelio alveolar junto con los publicados por otros autores, creemos que las células epiteliales constituyen un protagonista clave en la respuesta de resistencia observada.

ANII

JU112

Evaluation of surfactin's ability to remove bacterial biofilm from *Escherichia coli*

Garcia Marina RP¹, Bresciani Thiely M¹, Derami Mariana S¹, Hiroshi Aoyama², Leite Domingos S¹, Miranda Márcio A³. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, BR ⁽²⁾ Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, BR ⁽³⁾ Campus Campinas, Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia de São Paulo, Campinas, BR

Removal of particles and bacterial biofilms from medical devices is a major challenge regarding hospital infections and costs to the healthcare system. It is important to develop cleaning products that are effective in removing the visible dirt and microbial load of these devices. The biosurfactant surfactin, synthesized by bacteria of the genus *Bacillus*, is considered as a "green option" to substitute the chemical surfactants, due to its biodegradability, low toxicity, and activity under extreme conditions of temperature, pH and salinity. In this study, we evaluated the surfactin ability to remove *Escherichia coli* biofilms, at different concentrations, exposition times and temperature conditions. After bacterial biofilm was produced by growth of *E. coli* ATCC 35218, we performed the treatment with 0.9% NaCl (negative control), 0.25% SDS (positive control) and surfactin concentrations of 0.1% and 0.5% (m/v). The biofilm biomass was quantified by Crystal Violet Assay and cell viability by Tetrazolium Salt Assay, using a spectrophotometer. In all the analyses, positive control values higher than 95% have been obtained for total biomass removal and cell death. At room temperature, surfactin removed 40% of total biofilm biomass in 30 minutes and in 1 h of exposure, independently of the concentration. After 2 h exposition, surfactin removed 50% and 60% at concentrations of 0.1% and 0.5%, respectively. Regarding the cell viability, 20% of cell death were observed, independently of surfactin concentration and time of exposition. The increase of temperature, after 2 h exposition, was unable to improve the total biofilm biomass removal, but promoted bacterial death increases of 30% and 40%, for 0.1% and 0.5% surfactin concentrations, respectively. In conclusion, surfactin removed significant amounts of biomass, however, for the cell death it was occurred only after 2 h, at 30°C and 45°C. Due to the high cost of production and the low biotechnological process, we can suggest that surfactin is not yet able to replace the conventional chemical surfactants.

CNPq/IFSP-LabNews LTDA.

JU113

Overexpression of long-chain flavodoxins FldA and FldB of *Burkholderia xenovorans* LB400 contributes to enhanced tolerance to oxidizing agents

Laura Rodríguez Castro¹, Roberto Durán¹, Valentina Méndez¹, Michael Seeger¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL

Burkholderia xenovorans LB400 is a model bacterium for the degradation of polychlorinated biphenyls and diverse aromatic compounds. The aerobic metabolism of these compounds produce reactive oxygen species and therefore oxidative stress. Flavodoxins are small electronic transfer proteins expressed in conditions of oxidative stress for cell redox balance. The aim of this study were to identify and to evaluate the protective effect of LB400 long-chain flavodoxins during oxidative stress in *B. xenovorans* LB400. Two genes encoding flavodoxins (Bxe_A0278 and Bxe_B0391) were identified at the major chromosome (FldA) and the minor chromosome (FldB). The genes *fldA* and *fldB* were cloned into the plasmid pBBR1MCS-2 and transferred to strain LB400 by biparental mating with *E. coli* S17λpir. The expression of these proteins was verified by SDS-PAGE. Survival assay in presence of 1 mM hydrogen peroxide (H₂O₂) and 1 mM paraquat were performed with the recombinant *B. xenovorans* strains. Recombinant strains overexpressing FldA and FldB showed a higher survival during exposure to paraquat compared to the control strain. The protein carbonyl content was determined after exposure to 1 mM H₂O₂ and 1 mM paraquat. Compared to control cells, *B. xenovorans* overexpressing FldA displayed less protein carbonylation in the presence of H₂O₂, while *B. xenovorans* overexpressing FldB showed a lower carbonyl content during incubation with paraquat. To study the lipid peroxidation in recombinant *B. xenovorans* strains, the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were determined after exposure to 1 mM H₂O₂ and 1 mM paraquat. The strains overexpressing both flavodoxins displayed a lower TBARS content after incubation with H₂O₂. In conclusion, the flavodoxins FldA and FldB of *B. xenovorans* LB400 confers protection during oxidative stress conditions.

ANILLO GAMBIO ACT172128 (MS), FONDECYT 1151174 (MS) grants, CONICYT PhD fellowship (LRC, 21170062) and CONICYT Gastos Operacionales scholarship (LRC, 21170062/2017).

JU114

Produção de β -ciclodextrina pela CGTase de *Paenibacillus campinasensis* H69-3 utilizando amido de milho como substrato

Sanches Raisa DO¹, Eleni Gomes², Roberto Silva³, Alves Do Prado Heloiza F⁴. ⁽¹⁾ Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Aplicada, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, BR ⁽²⁾ Biologia, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, BR ⁽³⁾ Química e Ciências Ambientais, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, BR ⁽⁴⁾ Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócios Economia, Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, BR

A ciclomaltodextrina glucanotransferase (CGTase - EC 2.4.1.19), é uma enzima que através da reação de ciclização na presença de amido é capaz de formar ciclodextrinas. As ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos formados principalmente 6, 7 e 8 unidades de glicose interligadas por ligações α -1,4, encontradas em três principais formas, α -, β - e γ -CD. A conformação das ciclodextrinas favorece a formação de complexos de inclusões com diversas moléculas, melhorando as propriedades físicas e/ou químicas das moléculas encapsuladas amplamente aplicada nas indústrias de alimentos, farmacêuticas e têxteis. Este trabalho teve como objetivo, analisar a produção de β -CD a partir da CGTase produzida por *Paenibacillus campinasensis* H69-3, utilizando amido de milho como substrato na presença de etanol. Para a obtenção da CGTase utilizou-se a fermentação submersa, a linhagem foi cultivada em meio nutriente alcalino otimizado, a 45°C, durante 72 horas. O extrato enzimático bruto foi concentrado por ultrafiltração para a aplicação no processo de hidrólise. Para os ensaios quanto à produção de β -CD, o substrato foi preparado na concentração de 5,0% em tampão acetato, 100 mM, pH 5,5, gelatinizado em microondas e esterilizado em autoclave. A concentração de etanol utilizada foi 0% e 10,0% que foi adicionado no início da hidrólise. Quinhentos microlitros (98,0 U mL⁻¹, método dextrinizante) da enzima, foram adicionados para 100 mL da solução de substrato, e estes foram incubados a 55°C, sob agitação por 24 horas. Alíquotas foram submetidas a análises de atividade dextrinizante e atividade CD-fenolftaleína, transferidas para tubos do tipo Eppendorf, foram submetidos a fervura seguida do congelamento, para posterior análise cromatográfica. O perfil de hidrólise mostrou uma melhor dextrinização do substrato foi de 5,4 U mL⁻¹ à 5,0%, na presença de etanol 10,0% seguido de 4,3 U mL⁻¹ na ausência de etanol. A melhor conversão em β -CD foi na presença de etanol, sendo de 1,46 μ mol/mL⁻¹ e de 1,0 μ mol/mL⁻¹. A presença de etanol no processo de hidrólise apresentou maior rendimento na produção de β -CD, e a CGTase produzida por esse microrganismo mostrou-se eficiente na obtenção de ciclodextrinas utilizando diferentes substratos e concentrações em estudos anteriores. Estudos posteriores devem ser realizados para aumentar a performance da produção de ciclodextrinas.

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico



JU115

Oil-field produced water treatment with iron excess by immobilized *Lysinibacillus sphaericus*

Julie Melissa Sánchez¹, Jenny Dussán¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigaciones Microbiológicas (CIMIC), Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Bogotá, CO

Produced water is an important waste stream associated with oil and gas industries. The aim of this study was to investigate the use of immobilized *Lysinibacillus sphaericus* (a microorganism with the capacity to metabolize hydrocarbons and perform metal adsorption) in a biological aerated filter (BAF) to treat oil-field produced water with iron excess (50 mg L⁻¹). The BAF was operated with various hydraulic retention times (HRT= 4.5 to 6.5 h) and chemical oxygen demand concentrations (COD= 250 mg L⁻¹ to 1000 mg L⁻¹). It was found that, for an HRT of 6h, COD influent concentration with the highest removal efficiency was 576 mg L⁻¹, the effluent COD removal efficiency was above 80%, turbidity was below 2 NTU and the iron concentration met the required levels for reuse. *L. sphaericus* could constitute an efficient alternative for produced water treatment.

We would like to acknowledge the Faculty of Sciences of Universidad de Los Andes (seed projects fund), Biointech S.A.S and Occidental Petroleum Corporation (Colombia).



JU116

Evaluación de la inmovilización de la cepa *Tetraselmis marina* AC16-MESO en sustratos artificiales mediante biopelículas microalgales generadoras de sustancias poliméricas extracelulares (EPS)

Victor Sanchez Rivera¹, Maria Teresa Mata Contreras¹, Carlos Riquelme Salamanca¹. ⁽¹⁾ Centro de Bioinnovación Antofagasta, Universidad De Antofagasta, Antofagasta, CL

La industria de la acuicultura se encuentra en una búsqueda constante de nuevas fuentes y formas de incorporación del alimento, debido fundamentalmente a la sobredemanda de algunas materias primas y requerimientos específicos para el cultivo de las diferentes especies. Esto ha hecho que el interés por el empleo de microalgas en las diferentes etapas de producción se vuelva cada vez más relevante, generando la necesidad de entender mejor los mecanismos de crecimiento y desarrollo que presentan estos microorganismos, así como también la búsqueda de nuevas formas de administración para diferentes organismos. En este aspecto, el empleo de biopelículas para especies que se alimentan de microalgas bentónicas presentan gran interés, sin embargo, no todas las microalgas con características beneficiosas presentan la capacidad o misma facilidad para generar biopelículas, por lo que se hace necesario utilizar mezclas con especies que producen una mayor cantidad de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) como las diatomeas, pudiendo ser una buena forma de mejorar la inmovilización de microalgas de interés. En esta investigación se evaluó el cocultivo de una cepa endémica de la bahía de Antofagasta y con características nutricionales de interés, *Tetraselmis marina*, con diferentes diatomeas para la generación de biopelículas estables, caracterizando la capacidad de inmovilización, estabilidad de la adherencia y su relación con los EPS, así como las características nutricionales asociadas. Los resultados obtenidos en este trabajo permitieron determinar que la adhesión de *T. marina* a sustratos artificiales si se puede ver mejorada por la presencia de diatomeas. Sin embargo, este mecanismo es especie-específico, y no necesariamente va a ser efectivo con todas las diatomeas que produzcan altas concentraciones de EPS, ni tampoco con la utilización directa de biopelículas de diatomeas. En concreto, en este trabajo se observó que el cocultivo con la diatomea *Navicula incerta* mostró los mejores resultados, obteniéndose biopelículas con una mayor densidad celular, sin embargo, éstas no presentaron más resistencia a la desadhesión. Por otra parte, los EPS mostraron tener un rol fundamental en la adherencia.

FONDEF D10E1050

JU117

Biorremediação in situ de sedimentos contaminados com creosoto por meio da bioaugmentação com um consórcio de bactérias obtidas através de técnicas de enriquecimento com o uso desse contaminante

Júlio Aline DL¹, Souza Aline Bernardes¹, Retes Henrique Morais¹, Alves Natalia LS¹, Castanon Francisco Singulani¹, **Santos Vera Lúcia Dos¹**. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Laboratório de Microbiologia Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR

O creosoto é uma mistura de mais de 200 compostos orgânicos, mas contém predominantemente Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs), dentre os quais de 20 a 40% correspondem aos 16 HPAs definidos como poluentes prioritários por agências de proteção ambiental por apresentarem propriedades cancerígenas. Essas áreas contaminadas são prioritárias à remediação, utilizando técnicas como a biorremediação, que é dependente de fatores que bioestimulem a degradação do contaminante pela microbiota local ou bioaugmentação com inoculantes com alto potencial catabólico. O objetivo do estudo foi isolar bactérias a partir do sedimento de uma lagoa contaminada com creosoto para formular um consórcio composto pelos isolados com maior potencial catabólico e delinear os fatores e condições necessárias para otimizar a degradação do contaminante em microcosmos com amostras da área. Foram isoladas 43 bactérias a partir das amostras do sedimento submetidas a um enriquecimento baseado em três cultivos consecutivos de 7 dias em meio mineral adicionado de creosoto (10% v/v). Esses isolados foram testados, inicialmente, quanto à degradação de creosoto total e de alguns HPAs específicos em meio mineral suplementado com 0,25% de creosoto. Os 15 isolados que apresentaram os melhores resultados foram avaliados quanto à remoção do contaminante em amostras de sedimento provenientes da área e contaminadas com 1% de creosoto. Ao final desse ensaio, definiu-se o consórcio a ser testado nos experimentos de biorremediação em microcosmos, consistindo de 300g dos sedimentos e com variação dos fatores aeração, nutrientes e presença da microbiota autóctone. Ele foi composto pelos isolados *Stenotrophomonas maltophilia* LAPER 27, *Comamonas terrigena* 3FM8, *Comamonas terrigena* 5FM2, *Pseudomonas* sp 3C10M3, *Bacillus* sp. 2FM2, *Bacillus subtilis* LAPER93, *Enterobacter* sp 4FM2 e *Bacillus* sp LAPM39, que apresentaram os melhores resultados de degradação individualmente. Por meio de análises estatísticas fatoriais completas foi possível confirmar efeito significativo da bioaugmentação com o consórcio bacteriano, atingindo percentuais de remoção de creosoto próxima de 100%, após 30 dias de incubação. Isso indica que o consórcio é capaz de aumentar de forma significativa a degradação do contaminante e possui grande potencial para ser utilizado como inoculante na biorremediação *in situ* de ambientes contaminados com creosoto.

Vale SA, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

JU118

Desenvolvimento de suco de manga funcional utilizando *Lactobacillus casei*: cinética de crescimento microbiano e propriedades funcionais do suco fermentado

Santos Matheus AS¹, Cunha Júnior Paulo C¹, Nascimento Camila MO¹, Machado Mariana TC², Ferreira Elisa HR². ⁽¹⁾ Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos - Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, BR ⁽²⁾ Departamento de Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, BR

A manga (*Mangifera indica* L.) é uma das frutas tropicais de maior importância econômica no mundo, sendo o Brasil o sexto maior produtor global. A nível nacional, o Nordeste apresenta-se como o mais expressivo produtor de manga, com aproximadamente 66% da produção. Por ser um fruto carnoso, uma das principais formas de consumo é *in natura*, mas quando processada, destaca-se a sua utilização na produção de sucos e néctares. Entretanto, poucas são as opções disponíveis no mercado que apresentam a manga como ingrediente de produtos com alegação funcional, ou seja, aquele que quando consumido em doses recomendadas traz algum benefício ao indivíduo, além do aporte nutricional. Desta forma, a utilização da manga como matriz para o desenvolvimento de bebidas funcionais torna-se promissora. Mediante ao exposto, propõe-se neste trabalho a utilização de polpa de manga para a elaboração de um suco fermentado por adição de um micro-organismo probiótico. Foi utilizada a polpa de manga Palmer, adquirida em um mercado local do município de Seropédica – RJ. A esta polpa foi adicionada água, para a obtenção de um suco com 10 °Brix e, em seguida, esterilizado. Como probiótico, utilizou-se a cepa de *Lactobacillus casei* (*L. casei* 01CHR Hansen®), com um inóculo inicial de 6,50 log UFC.mL⁻¹. Foram respeitados os seguintes parâmetros de processo: anaerobiose, 37°C e 24 horas de fermentação. Foram realizadas cinéticas de crescimento da cultura probiótica, pela contagem em placas e acidificação do suco, pelo índice de acidez e pH, em intervalos de tempo, a fim de conhecer o comportamento do micro-organismo na matriz utilizada. Além disso, foram realizadas análises de carotenoides, flavonoides e a atividade antioxidante (FRAP e DPPH) do suco de manga fermentado. O crescimento dos micro-organismos probióticos no suco foi maior nos tempos finais de fermentação, alcançando uma concentração de 8,36 log UFC.mL⁻¹, com pH 3,25 e índice de acidez de 4,31 mg KOH.mL⁻¹. O suco fermentado obtido apresentou alto conteúdo de compostos bioativos, assim, por meio dos resultados obtidos é possível inferir que, a utilização da manga como matriz para o desenvolvimento de um produto com alegação funcional se faz viável.

Os autores gostariam de agradecer às seguintes instituições: CNPq, CAPES, UFRRJ e PPGCTA.

JU119

Bioacumulação de cádmio por células do isolado de *Ensifer meliloti*

Saran Luciana M¹, Morais Aline A¹, Cristiane Moretto¹, Leonel Tatiane F¹, Carareto-Alves Lucia M¹, Macedo-Lemos Eliana G¹. ⁽¹⁾ Technology, School of Agricultural and Veterinarian Sciences, São Paulo State University (UNESP), Jaboticabal, BR

Células vivas de isolados de bactérias podem bioacumular íons metálicos potencialmente tóxicos presentes no ambiente ou em efluentes industriais. Dentre os mecanismos de bioabsorção/bioacumulação, têm-se interações entre o íon metálico a ser removido e a parede celular do micro-organismo. Essas interações ocorrem por processos físicos e/ou químicos, relacionados à presença de grupos funcionais na parede celular. Tendo em vista o emprego de células vivas do isolado de *Ensifer meliloti* (LBMP-C02) para a remoção de íons Cd²⁺, realizou-se a identificação dos grupos químicos presentes na parede celular deste micro-organismo e avaliou-se o seu potencial para a bioacumulação do Cd²⁺. Para tanto, amostras do isolado bacteriano foram analisadas por espectroscopia molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), visando à identificação de grupos funcionais característicos dos sítios de ligação presentes na parede celular do micro-organismo e microscopia eletrônica de transmissão, para a obtenção de imagens da superfície e do interior das células da bactéria. As amostras do isolado resultaram de ensaios de bioacumulação, em meio de cultivo caldo nutritivo, sem Cd²⁺ (controle) e contendo 1,12 (concentração inibitória mínima), 25, 50 e 100 mg L⁻¹ de Cd²⁺. Estes ensaios foram realizados a 30°C, com agitação de 150 rpm, durante 72 h, empregando-se as seguintes doses de células vivas de *Ensifer meliloti* (LBMP-C02): 10 % (v/v) nos ensaios com a concentração inibitória mínima de Cd²⁺ e controle; 20 % (v/v) nos demais ensaios. Os espectros obtidos mostraram que as células do isolado apresentam grupos funcionais hidroxila, amida e fosfato, dentre outros com potencial para interagir com Cd²⁺ ou outros íons metálicos. Nas micrografias do tratamento controle não foram identificados grânulos eletrondensos no citoplasma das células do micro-organismo. Entretanto, este tipo de grânulo foi observado no citoplasma das células cultivadas em caldo nutritivo contendo a concentração inibitória mínima de Cd²⁺. As micrografias resultantes da análise das células do micro-organismo revelaram que estas têm capacidade para reter Cd²⁺ em seu interior e que possivelmente produzem biopolímeros nas condições estudadas.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - Processo N. 17/03146-7.

JU120

Clonagem, expressão e modelagem de uma lacase de metagenôma do solo de eucalipto

Monteiro Lima Natalia Sarmanho^{2,3}, Pereira Mariana Rangel¹, Gomes-Pepe Elisângela Soares^{2,3}, Lemos Eliana G De Macedo². ⁽¹⁾ Department of Biochemistry, University of Cambridge, Cambridge, GB ⁽²⁾ Laboratório de Biologia Molecular, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Instituto de Pesquisa em Bioenergia, Jaboticabal, BR ⁽³⁾ Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, BR

As lacases são enzimas com alto potencial, pois atuam sobre diversos compostos, o que possibilita uma vasta diversidade de possíveis aplicações. Entre as formas de prospecção de novas enzimas microbianas, encontra-se a metagenômica. Diante disto, foi realizada a busca por potenciais lacases em uma base de dados metagenômicos composta por amostras de solo diversos ambientes, pertencente ao Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas (LBMP). Após a seleção, a sequência possivelmente codificadora de lacase foi utilizada para a construção de seus respectivos “primers” para amplificação do gene e em seguida a clonagem e expressão da proteína correspondente. Uma vez obtidos os “amplicons”, estes foram clivados com as enzimas de restrição correspondentes para o vetor pHAT2, e os produtos da clivagem foram utilizados para a ligação no respectivo vetor e posterior transformação em células competentes de *Echerichia coli* BL21 (DE3). Após a clonagem, as colônias foram submetidas a análise por PCR utilizando os respectivos “primers” de cada construção para confirmação da clonagem. Os clones que apresentaram amplificação para o gene, foram coletados e somente um foi selecionado para os testes de expressão. Para isso, o clone positivo foi inoculado em meio Luria-Bertani (LB) e indução foi feita adicionando 0,1 e 0,2 mM de isopropil-β-D-tiogalactopiranosídeo (IPTG) à cultura, e foram avaliadas as temperaturas de 25, 30 e 37°C. Uma vez determinada a melhor condição de expressão, os ensaios foram realizados em larga escala utilizando volumes maiores, seguindo o procedimento descrito anteriormente. A partir da análise do metagenôma do solo de eucalipto foi possível encontrar um gene correspondente lacase, ORF51ME. Para a construção pHAT2-ORF51ME quatro clones, dos cinco coletados, possuíam a construção correspondente. Os melhores parâmetros obtidos foram de 0,1 mM de IPTG, 30°C, 150 rpm. Com o propósito de obter informações quanto à possível conformação estrutural da proteína, foi construído um modelo tridimensional de estrutura proteica por inferência de homologia, sendo assim, a ORF demonstrou claramente a forma de homotrímero esperado para lacases. Sendo assim, os resultados obtidos demonstram que através metagenômica foi possível identificar, clonar e expressar um gene de lacase.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES

JU121

Producción de polihidroxialcanoatos (PHAs) a partir de fuentes de carbono renovables por bacterias ambientales de Cuba y Chile

Pamela Villegas^{1,3}, María Elena Carballo², Marcia Rojas², **Michael Seeger**³. ⁽¹⁾ Programa Institucional de Fomento a la Investigación, Desarrollo e Innovación, Universidad Tecnológica Metropolitana, Santiago, CL ⁽²⁾ Departamento de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, La Habana, CU ⁽³⁾ Laboratorio Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL

Los PHAs son biopolímeros sintetizados por diferentes géneros bacterianos y con propiedades que permiten sustituir los plásticos derivados de la petroquímica. Las fuentes de carbono representan un importante factor para el escalamiento del proceso de producción. El objetivo de este estudio es caracterizar la producción de PHAs a partir de sustratos naturales como fuente de carbono por bacterias de ecosistemas terrestres y marinos de Cuba y Chile. El método cualitativo con Rojo de Nilo, permitió seleccionar diversas cepas bacterianas aisladas de suelo de Cuba y de diferentes ecosistemas de Chile que presentan la capacidad de producir PHAs. A partir de 83 bacterias, se preseleccionaron las cepas LC43, LC35, LC36, NuR4a, GpP26d por la producción a partir de glucosa de PHA de cadena media (PHAMCL) y la cepa BmR6b por la producción de PHB. Basado en ensayos bioquímicos y la secuenciación del gen que codifica RNAr 16S, estas cepas se clasificaron en los géneros *Pseudomonas* (LC43, LC35, LC36 y NuR4a), *Frondehabitans* (GpP26d) y *Janthinobacterium* (BmR6b). Las cepas *Pseudomonas* sp. LC43 y NuR4a, *Frondehabitans* sp. GpP26d cultivadas en sacarosa sintetizaron PHAMCL. Se seleccionó la cepa *Janthinobacterium* sp. BmR6b por su alta capacidad de producir PHB a partir de sacarosa. En medio M9 con melaza de remolacha al 2% y NH₄Cl 1 g L⁻¹, la producción de PHB por *Janthinobacterium* sp. BmR6b, alcanzó a las 24 h un Y_{p/s}= 0,072 g y 15% PHB de la biomasa seca. En el medio M10 con melaza al 2% y NH₄Cl 1 g L⁻¹, pero sin adición de fosfatos, de sales y de microelementos, se alcanzó una mayor producción de PHB. La adición de aceite de maravilla usado al medio M10, incrementó notablemente la síntesis de PHB, alcanzando un 54% PHB. Estos resultados confirman que la utilización de fuentes de carbono de bajo valor agregado puede ser una atractiva alternativa para la producción industrial de PHB.

Red RIABIN y proyectos FONDECYT 1151174, ANILLO GAMBIO ACT172128, PMI InES FSM1402GOP2 y USM 131562.

JU122

Producción de metabolitos de alto valor económico mediante la exposición a un campo magnético estático tipo continuo y tipo pulso en las microalgas *Scenedesmus obliquus* y *Nannochloropsis gaditana*

Genesis Serrano¹, Carol Miranda², Alejandro Maureira², Cristian Wulff ¹, Pablo Ferrada³, Mariella Rivas^{4,5}, Manuel Zapata^{4,5}. ⁽¹⁾ Bioquímica, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL ⁽²⁾ Laboratorio de Biotecnología Algal y Sustentabilidad, Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL ⁽³⁾ Centro de Desarrollo Energético Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL ⁽⁴⁾ Laboratorio de Biotecnología Algal y Sustentabilidad, CICITEM, Antofagasta, CL ⁽⁵⁾ Biotecnología. Laboratorio de Biotecnología Algal y Sustentabilidad, Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL

El campo magnético estático (CME) produce un efecto sobre sistemas biológicos donde el mecanismo de intercambio de información de un estado magnético (definido) genera respuestas a nivel celular sobre moléculas biológicas. En esta investigación se evaluó la influencia del CME de intensidad moderada sobre dos microalgas modelos: *Scenedesmus obliquus* y *Nannochloropsis gaditana* en la producción de metabolitos de alto valor económico. Los cultivos de microalgas (triplicado) en fase exponencial fueron sometidos a estrés mediante un CME. Para esto, se diseñó un dispositivo compuesto por imanes de neodimio con intensidad moderada en 3 conformaciones Norte, Sur, Mixto y un control sin exposición al campo magnético. Se utilizaron dos métodos de exposición continuo y pulso, el primero fue expuesto de forma prolongada y el segundo en periodos de tiempo (1 hora diaria). Además se realizaron mediciones de los parámetros fisicoquímicos (pH, Temperatura, entre otros parámetros), cinética, eficiencia fotosintética cada 24 horas por 5 días. En respuesta al estrés oxidativo producido por el CME, se evaluaron agentes antioxidantes de alto peso molecular: superóxido dismutasa, glutatión reductasa, ascorbato peroxidasa y catalasa. Además se cuantificó la producción de metabolitos de interés producidos por las microalgas, a través de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). Finalmente, los análisis de datos como la media y su desviación estándar, fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA). El CME influye sobre los parámetros fisicoquímicos, crecimiento, afectando el metabolismo de los cultivos microalgales con la finalidad de mejorar la producción de metabolitos de interés como antioxidantes, carotenoides, pigmentos accesorios, entre otros.

Programa Semilleros de Investigación de la Universidad de Antofagasta, 2016

JU123

A pré inoculação e o tratamento fitossanitários das sementes de soja: efeitos sobre o *Bradyrhizobium japonicum*

Lucas Kim Sguarezi¹, Wallace Nascimento Gabriel¹, Fabiano Carlos Ferreira², Daniela Tiago Da Silva Campos³. ⁽¹⁾ Laboratório de microbiologia do solo, Agronomia e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, BR ⁽²⁾ Laboratório de microbiologia do solo, Petrovina Sementes, Pedra Preta, BR ⁽³⁾ Dep. Fitotecnia e Fitossanidade, Agronomia e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, BR

O tratamento químico das sementes de soja é uma prática realizada como proteção contra as pragas e doenças presentes nos solos. No mercado brasileiro há diversos princípios ativos que são utilizados e após este processo ocorre a inoculação das sementes com as bactérias fixadoras de nitrogênio, geralmente na propriedade rural. A técnica da pré inoculação é um processo que vem sendo testado por muitas empresas produtoras de inoculantes, sementes e de defensivos químicos como forma de reduzir os processos realizados “on farm”. Assim o objetivo desse trabalho foi verificar se a bactéria *Bradyrhizobium japonicum* sobrevive em pré inoculação com diferentes misturas de defensivos agrícolas nas sementes de soja. O trabalho foi realizado em laboratório, e os tratamentos foram: 1. Derosal Plus + Cropstar + Peridiam + Talkum Gloss + Inoculante comercial (IC). 2. Standak Top + Cm Florite + Sepret + (IC). 3. Cropstar + Derosal + Peridiam + Talkum Gloss + (IC). 4. Cropstar + Derosal, Peridiam + Talkum Gloss + (IC). 5. Cruiser + Avicta + Maxim Aduanced + Fortenza + Biocroma + (IC). 6. Standak Top + (IC). As sementes de soja foram tratadas e armazenadas por 38 dias em ambiente e temperatura adequados e enviados ao laboratório para as análises. Para a quantificação das bactérias utilizou-se o meio de cultura YMA (“yeast manitol agar”), com vermelho congo, as placas foram incubadas `28°C por sete dias. O tempo de armazenamento e os tratamentos utilizados não foram capazes de garantir a sobrevivência do *Bradyrhizobium japonicum* não foram observadas colônias das bactérias fixadoras de nitrogênio. Com este resultado é possível prever alguns possíveis motivos da não sobrevivência das bactérias, como a incompatibilidade dos inoculantes com os tratamentos químicos; o tempo muito longo de armazenamento das sementes; a necessidade de utilizar protetores celulares para garantir a sobrevivência das bactérias.

Monitoramento da estrutura e crescimento da comunidade bacteriana: uma nova ferramenta para estudos de biorremediação

Silva Guilherme OA¹, Simone Pennafirme², Pereira Daniella C², Waite Carolina CC², Lucy Seldin³, Lopes Ricardo T⁴, Diogo Jurelevicius³, Inaya Lima⁴, Mirian Crapez². ⁽¹⁾ Brasil, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro ⁽²⁾ Departamento de Biologia Marinha, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, BR ⁽³⁾ Departamento de Microbiologia Geral, Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR ⁽⁴⁾ Programa de Engenharia Nuclear, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR

Sedimentos costeiros são intensamente colonizados por microrganismos, principalmente bactérias, a maioria delas tende a agregar e crescer em superfícies, secretando substâncias poliméricas extracelulares (EPS), formando os chamados biofilmes. A formação desse biofilme é uma estratégia de vida dos microrganismos, pois criam seus próprios microhabitats, que apresentam uma composição e estrutura específica de acordo com o ambiente em que se encontram. Em medicina, ciências naturais e em sistemas de engenharia, estratégias de monitoramento do biofilme, com base em uma melhor compreensão das características de crescimento do biofilme, bem como o comportamento de resposta ao estresse, tornaram-se um importante desafio. Seja para remediação de metais e outros poluentes ou aplicação na área biomédica, diversas abordagens metodológicas são necessárias para uma análise mais acurada do papel e do potencial uso do biofilme bacteriano. Nesse trabalho foi explorada uma abordagem interdisciplinar que possibilitou lançar mão de técnicas experimentais variadas, correlacionando-as, para uma melhor interpretação dos dados, propiciando um melhor entendimento das propriedades ecológicas complexas do biofilme e sua função nos ciclos biogeoquímicos e no processo de biorremediação. O uso da microtomografia computadorizada para monitoramento do crescimento do biofilme surge como uma ferramenta vantajosa pelo seu caráter não destrutivo e por possibilitar uma visualização 2D e 3D das amostras. Além disso, técnicas como a análise de parâmetros microbiológicos, dosagem de biopolímeros e análise metagenômica, foram utilizadas para complementar a quantificação realizada por meio do imageamento em 2D e 3D. A quantificação da porosidade da amostra por meio da microtomografia foi validada pelo aumento da atividade enzimática e conseqüentemente da síntese de biopolímeros do EPS para a formação do biofilme, indicando o crescimento do mesmo em 96h de bioensaio. O uso de dados de porosidade é viável, e menos dependente da utilização do contraste para um monitoramento acurado do crescimento do biofilme. O crescimento do biofilme justifica o seu potencial como agente de biorremediação de áreas impactadas por poluentes orgânicos e inorgânicos. Essa abordagem interdisciplinar permite uma melhor compreensão dos dados, viabilizando o uso dessas técnicas, de forma integrada, como uma importante ferramenta em estudos de biorremediação de ambientes costeiros impactados por poluentes.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Potencial proteolítico de actinomicetos isolados da Caatinga

Marghuel Silveira¹, Debora Okamoto², Melo Itamar Soares³, Maria Aparecida Juliano¹, Chagas Jair Ribeiro¹, Vasconcellos Suzan Pantaroto². ⁽¹⁾ Departamento de Biofísica, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, BR ⁽²⁾ Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo, Diadema, BR ⁽³⁾ Laboratório de Microbiologia Ambiental, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Jaguariúna, BR

Ambientes como a Caatinga, semiárido exclusivamente brasileiro, caracterizam-se pelo baixo índice pluviométrico, regiões sem cobertura vegetal, temperaturas elevadas e altos níveis de salinidade. Este bioma é composto por microrganismos altamente resistentes às condições adversas cominadas pelo clima local, dentre estes, os actinomicetos compõe um grupo de microrganismos com características morfológicas e bioquímicas distintas dentre os procariotos, sendo responsáveis por 70% de novas fontes de antibióticos, inibidores enzimáticos e outros compostos bioativos como as enzimas. Uma vez provenientes de actinomicetos, estas enzimas podem representar um grande potencial biotecnológico, por exibirem as mesmas características dos microrganismos, sendo altamente interessantes aos processos de biocatálise. Dentre estas, as proteases, constituem um dos maiores grupos de enzimas comercializadas mundialmente, com ampla aplicabilidade industrial. Neste contexto, o presente estudo buscou avaliar as proteases de actinomicetos isolados da rizosfera da Caatinga, através do uso de substratos FRET na forma de ensaios miniaturizados em placas de 96 poços, baseado no princípio de alto desempenho (HTS). Foram analisados 52 microrganismos em diferentes meios de cultura com diferentes fontes e proporções de carbono a fim de se identificar o melhor meio para cultivo. Após esta etapa, diferentes temperaturas de crescimento (20, 30, 37 e 45°C) foram testadas, além da análise de estabilidade dos isolados em tempos distintos (24, 48 e 72 h). Um dos isolados apresentou crescimento constante nas 4 faixas de temperatura e tempos estabelecidos. Em relação à atividade proteolítica, 78% dos isolados apresentaram atividade clivando a sonda peptídica Abz-KLRSSKQ-EDDnp. Curvas de pH, salinidade e temperatura, bem como, ensaios com inibidores e análise dos pontos de hidrólise demonstraram que a maior parte das proteases é alcalina, halotolerante e com temperatura ótima de 30°C, além de uma predominância de inibição por PMSF e ortofenantrolina, sugerindo a presença de serino e metaloproteases. Destaca-se ainda, que novos ensaios acerca da especificidade da protease ativa estão sendo realizados, assim como, a identificação por 16S rRNA para os microrganismos de interesse. Dessa forma, confirma-se o potencial de atividade proteolítica dos actinomicetos avaliados, que podem ser descritos como uma nova fonte para a bioprospecção de novos compostos e biocatalistas.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (processo 2018/01133-8)

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES

JU126

Cuantificación del fago filamentoso M13 por qPCR revela diferencias entre fagos totales e infectivos independiente de la modificación de sus proteínas estructurales

Emilio Mendez², María Paz Mujica², Natalia Rojas², Patricia Langjahr¹, **Pablo Hernán Sotelo**². ⁽¹⁾ Cátedra de Immunología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, PY ⁽²⁾ Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, PY

El bacteriófago filamentoso M13 pertenece al género *Inovirus* y es un virus de morfología tubular o filamentosa que infecta principalmente bacterias Gram negativo. Este virus es ampliamente utilizado en la tecnología “*PhageDisplay*”, que consiste principalmente en expresar péptidos foráneos acoplados a las proteínas de la cápside, atribuyéndole varias aplicaciones biotecnológicas a los fagos. De esta manera, han sido ampliamente utilizado para la generación de genotecas y, más recientemente, como nanoestructuras para la construcción de materiales en el ámbito de la biomedicina y bioingeniería. En la utilización de los bacteriófagos para las aplicaciones mencionadas, es necesario realizar una cuantificación precisa de los mismos. El principal método utilizado es la titulación de los fagos filamentosos por el ensayo de formación de placas de lisis o unidades formadoras de colonias resistentes a antibiótico. Esta técnica presenta varias desventajas, tales como ser laboriosa, poco precisa, además de solo determinar la presencia de virus infectivos. A fin de buscar una alternativa para la cuantificación viral, hemos desarrollado un método de qPCR dirigido contra el origen de replicación viral, el cual detecta entre 3 y $3,3 \times 10^8$ copias de genomas virales (CGV) con una linealidad de $R^2=0,9992$. Este método fue utilizado para cuantificar fagos silvestres y fagos modificados tanto en PIII como PVIII. En todos los casos, pudimos observar una diferencia de aproximadamente 1000 unidades menor entre el método de UFC comparado con el de CGV. Esta diferencia no fue debida a la presencia de genoma libre, lo que sugiere la presencia de partículas no infectivas. Debido a estas diferencias, sugerimos la cuantificación de los fagos por qPCR, en aquellos casos de que sea necesario establecer el número total de partículas virales, debido a la mayor exactitud del método.

Este proyecto es financiado por el CONACYT a través del Programa PROCIENCIA con recursos del Fondo para la Excelencia e investigación EEI del FONACIDE, Proyecto PINV15-224



JU127

Anti-inflammatory effect of microbial consortia during the utilization of dietary polysaccharides

Pamela Thomson¹, Medina Daniel A¹, Naschla Gasaly², Verónica Ortúzar¹, Martín Gotteland², Daniel Garrido¹. ⁽¹⁾Ingeniería Química y Bioprocesos, Ingeniería, Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL

The gut microbiome has a significant impact on host health, especially at the metabolic level. Dietary compounds arriving at the colon have a large influence on the composition of the gut microbiome. High fiber diets have been associated to health benefits that are mediated in great part by short chain fatty acids (SCFA). Gut microbial interactions are relevant for the utilization of complex carbohydrates in the gut microbiome. In this work we characterized the utilization of two dietary polysaccharides by combinations of representative adult gut microbes, and the impact of their activities on a cellular inflammation model. Paired combinations of *Bifidobacterium adolescentis*, *Bacteroides dorei*, *Lactobacillus plantarum*, *Escherichia coli* and *Clostridium symbiosum* were grown in inulin or xylan as carbon source. Their relative abundance, substrate consumption and major SCFAs produced were determined. Higher cell growth was observed during inulin consumption, and *B. adolescentis* and *L. plantarum* were dominant in co-cultures. The co-culture of *B. dorei* and *C. symbiosum* was dominant in xylan. In several cases the combined bacterial growth was lower in co-cultures than monocultures, with a few exceptions of synergistic growth between microorganisms. Inulin fermentation resulted in larger acetate and lactate concentrations, and several combinations grown in xylan containing *C. symbiosum* were characterized by high amounts of butyrate. These microbial consortia were scaled to batch bioreactor fermentations reaching high cell densities and similar profiles to co-culture experiments. Interestingly, a microbial combination producing high amounts of butyrate was able to reduce IL-8 expression in HT-29 cells co-incubated with TNF α . In summary, this work shows that microbial interactions during the utilization of dietary polysaccharides are complex and substrate dependent. Moreover, certain combinations deploy potent anti-inflammatory effects, which are independent of individual microbial growth, and could be mediated in part by higher butyrate production.

This work was funded by FONDECYT de Iniciacion11130518, FONDECYT de Postdoctorado 3170609 and FONDEF IDEAID 16i10045.

MALDI-TOF mass spectrometry for the fast identification of fungi of the Polyporaceae family (Basidiomycota)

Tomé Luiz Marcelo Ribeiro¹, Assis Gabriella Borba², Fernanda Badotti³, Da Silva Genivaldo Alves⁴, De Rezende Diogo Henrique Costa⁵, Fonseca Paula Luize Camargos¹, Dos Santos Elisandro Ricardo Drechsler⁶, Figueiredo Henrique Cesar Pereira², De Magalhães Mariana Torquato Q⁷, Neto Aristóteles Góes¹. ⁽¹⁾ Department of Microbiology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, BR ⁽²⁾ AQUACEN - Laboratório Oficial de Diagnóstico de Doenças de Animais Aquáticos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, BR ⁽³⁾ Department of Chemistry, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR ⁽⁴⁾ Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR ⁽⁵⁾ Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BR ⁽⁶⁾ Departamento de Botânica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, BR ⁽⁷⁾ Department of Biochemistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, BR

Polyporaceae is an important family in the *Phylum Basidiomycota* (Fungi). The species belonging to this taxonomic group play fundamental roles in carbon cycling, produce ligninolytic enzymes with industrial applications (e.g.: biofuels), have medicinal applications, but are also pathogens of plants with economical value. Currently, fungal identification is carried out using morphological characters as well as molecular techniques. The first approach is expertise dependent, and the last one is high cost, time-consuming and error-prone. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) is a powerful tool which has been recently used to the identification of microorganisms. This method has proven to be cost-effective, reliable, and workflow efficient. Despite these advantages, its use has been restricted to clinical diagnosis. In this study, we evaluated the applicability of MALDI-TOF MS for the identification of 13 isolates belonging to four genera and eight species of fungi of the *Polyporaceae* family: *Ganoderma australe*, *G. lucidum*, *G. hoehnelianum*, *G. parvulum*, *Trametes villosa*, *T. versicolor*, *Fomes fasciatus* and *Lentinus crinitus*. Approximately 50 µg of fresh mycelium were transferred from the Petri plate cultures directly to the steel MALDI target plate. The Main Spectra Profiles (MSPs) were created using FlexControl MicroFlex LT mass spectrometer (Bruker Daltonics) (employing 8 biological replicates and 3 technical replicates per isolate). Using this customized protocol, we were able to obtain species-specific mass spectra, which were used to perform cluster analysis of MALDI-TOF-MS of selected MSP references. The resulting dendrogram based on spectra were compared to ITS DNA phylogenetic tree built for the same strains. The topology of the dendrogram and the tree was similar when the two methods were compared; however, the dendrogram based on the MSP references was better to discriminate the groups of the dataset. In addition, real time blind test showed 100% success rate in the species level identification with high scores. Our results revealed that MALDI-TOF MS technique is a high efficient and accurate tool for the identification and discrimination of fungal strains of the *Polyporaceae* family.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)

Controle do crescimento micelial de fungos fitopatogênicos por endófitos

Fabiana Tonial¹, Chirlei Glienke², Nava Francine FM³. ⁽¹⁾ Patologia, Farmácia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, BR ⁽²⁾ Patologia Básica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, BR ⁽³⁾ Ciências agrárias, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, BR

Doenças de plantas com etiologia fúngica são causas de queda na produtividade do cultivo agrícola, essas patogêneses vêm se agravando pelo aumento da resistência desses agentes aos agrotóxicos tradicionais. O confronto natural entre os microrganismos tem sido útil no desenvolvimento de estratégias para o controle de diversas doenças, tanto pelo seu uso direto em controle biológico como pelo reconhecimento de metabólitos secundários bioativos produzidos por eles. Com esse embasamento, o presente estudo avaliou a capacidade de fungos endofíticos (*Alternaria*, *Bjerkandera*, *Diaporthe*, *Xylaria*, *Colletotrichum* e um isolado não identificado) obtidos das folhas de *Schinus terebinthifolia* em controlar o crescimento micelial dos fitopatógenos *Drechslera tritici-repentis*, *Fusarium graminearum* e *Phomopsis sojae*. Para isso, foram realizados ensaios de pareamento, nos quais os microrganismos foram confrontados em placas de Petri contendo o ágar batata-dextrose sob as condições de 25±2 °C com fotoperíodo de 12 h. Duas medidas opostas do diâmetro da colônia do fitopatógeno foram realizadas em intervalos de 24 h até que as placas de controle do crescimento do fungo patogênico estivessem totalmente ocupadas pelo micélio. Os dados foram submetidos à análise estatística pelo teste de Tukey com 5 % de probabilidade de erro. Dos resultados que apresentaram significância estatística, dois fungos endofíticos do gênero *Diaporthe* inibiram o crescimento micelial de *F. graminearum* com percentagens de controle de 47,89 % e de 34,89 %. O crescimento micelial de *D. tritici-repentis* foi controlado por três isolados do gênero *Diaporthe* com percentagens de inibição de 35,75 %, 44,81 % e 51,01 %. A *Drechslera* também foi significativamente controlada por uma *Alternaria* (39,25 %) e pelo isolado não identificado (51,22 %). Outro isolado de *Diaporthe* controlou em 17,05 % o crescimento de *P. sojae*. Os resultados demonstram que os fungos endofíticos das folhas de *S. terebinthifolia* possuem potencial para controle dos fungos fitopatogênicos, principalmente contra *D. tritici-repentis* e *F. graminearum*. Dentre os gêneros fúngicos estudados, o *Diaporthe* apresentou maior eficácia de inibição do crescimento micelial dos fitopatógenos.

O projeto não possui financiamento.

Avaliação da taxa de crescimento na fase de inóculo de *Ralstonia solanacearum* e *Cupriavidus necator* para otimização da produção de poli(3-hidroxi-butarato) utilizando diferentes fontes de carbono

Torres Matheus Marques¹, Piecha Camila Rios¹, Alves Mariane Igansi², Macagnan Karine Laste², Oliveira Patrícia Díaz De².

⁽¹⁾ Centro de desenvolvimento tecnológico, Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR ⁽²⁾ Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR

O uso dos plásticos derivados de materiais petroquímicos cresce constantemente, uma vez que esta matriz plástica pode compor inúmeros tipos de produtos. Devido ao tempo de degradação prolongado por parte desse tipo de material, faz-se necessário substituir essa matriz por uma que origine plásticos que possuam as mesmas características, mas que tenha um tempo de degradação menor. Um dos bioplásticos mais pesquisados atualmente para esse fim é o poli(3-hidroxi-butarato) [P(3HB)], um polímero bacteriano da classe dos polihidroxi-alcanoatos que possui características físicas similares ao polipropileno. O objetivo do presente trabalho foi analisar a taxa de crescimento na fase de inóculo na produção de P(3HB) pelos microrganismos *Cupriavidus necator*, *Ralstonia solanacearum* cepa RS e *Ralstonia solanacearum* cepa TB, utilizando sucralose, sacarose e lactose como fontes de carbono. A fermentação foi conduzida em agitador orbital utilizando as bactérias mencionadas anteriormente, para isso, repiques multiplicativos foram transferidos para Erlenmeyers de 500 mL contendo 200 mL de meio YM, acrescido da fonte de carbono na concentração de 40g/L, sendo eles sucralose, lactose e sacarose. Os Erlenmeyers foram então incubados a 32°C e 150 rpm por 24 horas. A fermentação foi analisada quanto à massa celular seca e produção de polímero. Além disso, foi realizada análise do crescimento microbiano por densidade óptica em comprimento de onda de 600 nm, em espectrofotômetro de bancada. Os resultados mostraram que após 24 h, a fonte de carbono que produziu uma DO_{600nm} maior para bactéria *C. necator* foi a sucralose, enquanto que para ambas as cepas de *R. solanacearum* foi a lactose. Os resultados de massa celular seca acompanharam a proporção da DO_{600nm} uma vez que se obteve a maior proporção de massa no tratamento com a lactose para a bactéria *C. necator* (2,3g/L) enquanto que para as cepas de *R. solanacearum* TB e RS, o obtido maior foi com lactose, sendo 1,8 g/L e 1,9 g/L, respectivamente. Na produção do polímero, a bactéria *C. necator* não produziu P(3HB). Enquanto que as outras bactérias analisadas produziram P(3HB) em maior quantidade no tratamento utilizando sacarose, tendo um rendimento de 37% para a cepa RS e 29% para a cepa TB.



JU131

Evaluation of n-hexadecane degradation by two actinobacteria strains for bioremediation application

Bella Giselly Torres¹, Melo Vânia M¹, Maria Luiza Reis¹, Larissa Duarte¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biologia, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, BR

Bioremediation is an ecologically friendly process in which living organisms are involved in the degradation of toxic and recalcitrant contaminants in the environment. The use of microorganisms can be done in free form or with an immobilization matrix. However, the use of an immobilization matrix has advantages as a higher tolerance to toxic compounds and more cellular stability. In this context, the goal of this study was to analyze the degradation of n-hexadecane, an oil byproduct, by two strains of actinobacteria, *Gordonia* sp. HEX5 and *Micrococcus* sp. HEX6, isolated from mangrove sediment with the intent of use in bioremediation applications. So, the strains were used in biodegradation essays with 1% n-hexadecane and monitored for 25 days, via viable cell count and dehydrogenase activity. Beyond that, essays were made to identify biosurfactants and the *alkB* gene, that codes an alkane monooxygenase, a key enzyme to the pollutant degradation. The results of the biodegradations essays showed the HEX5 population significantly increased in the first two days with the associated increase of the dehydrogenase activity, that peaked in the sixth day. HEX6 also displayed increase in the enzyme activity as of the twelfth day, but the cell count increase occurred more slowly along the 25 days. Both strains produced biosurfactants, with HEX5 having a significantly higher emulsifying activity. The *alkB* gene was only identified in HEX5. By the twenty-fifth day, enzyme activity drastically decreased, indicating that the strains had metabolized all of the pollutant and its byproducts. Thus, HEX5 and HEX6 can be brought together in a consortium in order to achieve the maximum metabolic complementation necessary to the complete degradation of n-hexadecane.

Streptomyces semiaridus sp. nov. as a source of natural compounds with agrochemical properties

Souza Danilo Tosta¹, Ferreira Junior Osvaldo Luiz¹, Oliveira Raquel Dias¹, Boni Eduardo Defendi¹, Melo Itamar Soares², Moraes Luiz Alberto Beraldo¹. ⁽¹⁾ Laboratory of Mass Spectrometry Applied Natural Products Chemistry; Department of Chemistry, Faculty of Philosophy, Sciences and Letters of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, BR ⁽²⁾ Laboratory of Environmental Microbiology, EMBRAPA-Brazilian Agricultural Research Corporation, Jaguariúna, BR

In our continuing search for antibiotic-producing microorganisms, a putative novel bacterial species, designed CAAT 7-52, was isolated from Brazilian dry forest biome, Caatinga. A polyphasic approach was established to determine the taxonomic position of this isolate and, at the same time, to identify its secondary metabolites for use as natural pesticides. The main results revealed that the antibiotics, which were determined to be albocycline and its analogous forms, showed antifungal activity *in vitro* and considerable phytotoxic activity, as determined by experiments of bioassay-guided fractionation against the oomycete *Pythium aphanidermatum* and the aquatic plant *Lemna minor*, respectively. Tandem mass spectrometry was used as analytic tool to identify the compounds. Regarding the *Streptomyces* species involved in these traits, the phylogenetic analysis of the 16S rRNA gene sequence indicated that CAAT 7-52 differed from *Streptomyces* species already described. Multilocus sequence analysis (MLSA) using five housekeeping genes (*atpD*, *gyrB*, *rpoB*, *recA* and *trpB*) comparing *Streptomyces* type strains showed that the MLSA distance of strain CAAT 7-52 to the most closely related species was greater than the 0.007 threshold. Chemotaxonomic and biochemical analyses confirmed the classification of the strain as a member of the genus *Streptomyces*. Based upon the results herein found, the strain CAAT 7-52 could be distinguished from the type strains of phylogenetically related species and, thus, may be recognized as a novel species, for which the name *Streptomyces semiaridus* sp. nov. has been proposed. However, further investigations, such as DNA-DNA relatedness are still required to clarify the correct phylogenetic placement of this strain. Thus, due to the fact CAAT 7-52 exhibits fungicide and phytotoxic activities, it becomes of great interest for use in biological control programs.

FAPESP-Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (17/21229-7; 16/22023-0)

JU133

Unión de nanopartículas fluorescentes a anticuerpos y ácidos nucleicos: una herramienta para el seguimiento y detección de biomoléculas

Matías Vargas-Reyes¹, Alejandra Leyva-Gutierrez², Daniela Toro-Ascuy², Ricardo Soto-Rifo², Nicolás Órdenes-Aenishanslins¹, José Manuel Pérez-Donoso¹. ⁽¹⁾ BioNanotechnology and Microbiology Lab, Center for Bioinformatics and Integrative Biology (CBIB), Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL ⁽²⁾ Molecular and Cellular Virology Laboratory, Virology Program, Institute of Biomedical Sciences, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL

Los Quantum Dots (QDs) son nanopartículas con tamaños entre 2 a 10 nm las cuales al ser excitadas a una determinada longitud de onda, absorben y emiten la energía excedente en forma de fluorescencia. Su síntesis involucra métodos químicos que utilizan residuos tóxicos, lo que los hace poco biocompatibles. En este contexto, métodos de biosíntesis de QDs por microorganismos se alzan como una gran alternativa para disminuir su toxicidad, costos de producción e impacto ambiental, favoreciendo su uso en sistemas biológicos. En base a esto, nuestro laboratorio desarrolló un método biomimético de síntesis de QDs, el cual emula las condiciones celulares en un modelo *in vitro* de síntesis. En general estos métodos involucran glutatión (GSH) como molécula que recubre y estabiliza los QDs. El GSH contiene aminas primarias, ácidos carboxílicos y grupos sulfidrilos (SH), que pueden interactuar con macromoléculas. Además, los QDs producidos presentan mayor fluorescencia que fluoróforos orgánicos y baja toxicidad en células. El objetivo de este estudio fue conjugar los QDs-GSH biomiméticos a distintas macromoléculas biológicas que permitan su utilización en bioimágenes. Para ello, los QDs-GSH se conjugaron a: i) anticuerpos (anti-*Piscirickettsia salmonis*) y ii) ácidos nucleicos (ARN genómico de VIH-1). Para la conjugación a anticuerpos se utilizaron los *crosslinker* EDC y Sulfo-NHS que fueron incubados junto a QDs-GSH a pH 7,4. La unión se confirmó mediante electroforesis de poliacrilamida donde los geles fueron revelados mediante exposición a luz UV. Además se realizaron ensayos de Dot Blot que permitieron confirmar la especificidad de la unión del anticuerpo. Para la conjugación al ARN, se modificó el extremo 5' con la adición de un grupo SH. Luego, el ARN fue incubado con QDs a pH 9. El ARN-QDs-GSH se transfectó en células HeLa y su localización subcelular se analizó mediante microscopía confocal. Los resultados obtenidos demostraron que ambas macromoléculas fueron conjugadas eficientemente y de manera estable a QDs-GSH producidos por nuestro método biomimético. Así, en este trabajo demostramos que los QDs-GSH poseen un gran potencial para ser usados en bioimágenes, haciéndolos una novedosa herramienta como biosensores para la detección de moléculas blanco, y también para el seguimiento de macromoléculas en estudios en biomedicina.

PROYECTO FONDECYT 1151255, INACH RT_25-16

JU134

High efficiency of nuclear transformation of the microalgae *Nannochloropsis oceanica* by Tn5 transposome system and analysis of different phenotypes of lipid accumulation

Carol Jara¹, Hector Osorio¹, Mónica Vásquez¹. ⁽¹⁾ Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile

Microalgae are photosynthetic organisms useful to obtain biofuels, since they have a high efficiency of biomass production and are able to accumulate a large amount of intracellular lipids. *Nannochloropsis oceanica* (N.O.) can mainly accumulate triacylglycerides (TAGs) as raw material for the production of biofuels. Recent studies have described a biosynthetic pathway for the production of TAGs in N.O, however it is unknown what genes can regulate positively or negatively the TAGs biosynthesis. With the purpose of discover new genetic elements involved in the biosynthesis of TAGs in N.O. and to produce strains with greater ability to produce TAGs, we used the Tn5 transposon system in the microalgae N.O. Briefly, cell was transformed by electroporation of transposome complex Tn5 which contains a resistance antibiotics cassette commanded by a CMV viral promoter. This strategy was accompanied by a large-scale identification and selection system for mutants, such as flow cytometry analysis with cell selection (FACS), allowed us to obtain clonal cultures of mutants with altered phenotypes in the intracellular lipid accumulation (high and low lipid). The identification and characterization of some of these mutants by RESDA-PCR and DNA sequencing, allowed us to discover new genes involved in the regulation of lipid synthesis, revealing possible responses at the cellular level influencing the intracellular homeostasis of lipids. A gene coding for a putative haloacid dehalogenase-like hydrolase (HAD) possibly involved in the laminarin synthesis route and deriving the flow of carbons to that of TAGs was important in the high lipid accumulation (HL) phenotype. A gene encoding a putative ufm1-specific protease, implicated in endoplasmic reticulum (ER) homeostasis, was involved in the low lipid phenotype. In summary, was possible to transform *Nannochloropsis oceanica* in addition to the identification of possible genes involved in the pathway of lipid synthesis, the strategies proposed here are easy to apply to different types of microalgae and provide a promising scenario for improving their performance for use in biotechnological applications.

FONDECYT 1161232

ALGAEFUELS CONSORCIO TECNOLOGICO Código 09CTI-6861



JU135

Plant growth-promoting activities and stress responses of psychrotolerant *Pseudomonas* strains isolated from wild flora of Andean Chilean mountains

Paulina Vega-Celedón¹, Guillermo Bravo¹, Fernanda Cid², Nitzia Inostroza², Milko Jorquera², Michael Seeger¹. ⁽¹⁾ Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL ⁽²⁾ Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, CL

Low temperatures are one of the most important abiotic factors, affecting the growth, development, productivity and distribution of plants. Every year agriculture is affected by low temperatures. The central and southern zones of Chile are the most affected productive areas by this abiotic stress. Psychrotolerant plant growth-promoting bacteria have been proposed as agent to protect and promote plant growth at low temperatures. The aim of this study was to isolated psychrotolerant bacteria associated to wild flora from zones of Andean Chilean Mountains belonging to Valparaíso and Bío Bío regions and evaluated their plant growth-promoting activities and stress responses. For the isolation of psychrotolerant strains, the rhizosphere of four wild flora were sampled during winter 2015. Bacteria were cultivated on TSA at 4°C. Bacterial cell survival at temperatures below zero was analyzed to determine the psychrotolerant potential. Strains were selected and identified by 16S rRNA gene sequence analysis. *Pseudomonas* strains were isolated from both Valparaíso and Bío Bío regions. The auxin production was evaluated in cultures supplemented with tryptophan with the Salkowski colorimetric method. Indole-3-acetic acid was then quantified by HPLC. The phosphate solubilization was analyzed on Pikovskaya medium. The presence of *nifH* gene (nitrogen fixation) was analyzed by end-point PCR. Biocontrol activities against phytopathogenic ice nucleation active bacteria *Pseudomonas syringae* and *Pectobacterium carotovourum* was evaluated by cross streak method on agar plates. The 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase activity was detected in DF medium with ACC as sole source of nitrogen and carbon. The ice recrystallization inhibition activity was evaluated at -6°C. Five psychrotolerant *Pseudomonas* strains presented high plant growth-promoting activities. These strains were selected for further studies with Chilean plants of productive interest potentially affected by frost damage.

CONICYT PhD fellowship (PVC, GB), ANILLO GAMBIO ACT172128, FONDECYT 1151174, USM and PMI InES FSM1402_B_02 (MS) grants.



JU136

Mercury removal by *Lysinibacillus sphaericus* from aqueous solutions: New insights into biological treatment of mining wastewater

J David Vega¹, Jenny Dussán¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigaciones Microbiológicas (CIMIC), Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Bogotá, CO

Mercury (Hg) is a toxic metal widely dispersed in nature and its frequent use in illegal extraction of gold and silver makes it cause of environmental poisoning. Biosorption of other heavy metals has been reported for several *Lysinibacillus sphaericus* strains so mercury removal was investigated in this study. Bacteria was characterized by Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (FTIR) and Scanning Electron Microscopy coupled to Energy Dispersive Spectroscopy (SEM-EDS). Absorption and adsorption process were evaluated in live and dead bacterial biomass. Five *L. sphaericus* strains that were previously reported as metal tolerant or resistant were assessed with mercury chloride (HgCl_2). Hg quantification was achieved through spectrophotometry at 420 nm by reaction of mercury supernatants with silver nanoparticles synthesized through orange fruit extract as reducing agent. CBAM5, Ot4b31 and III(3)7 *L. sphaericus* strains grew up to concentration of 60 ppm of HgCl_2 . Living cells of *L. sphaericus* CBAM5 showed a maximum Hg removal of 60% prior to its first 15 minutes in contact with 60 ppm HgCl_2 , and mercury quantification showed variation in its concentration over time. FTIR spectra showed changes in wavelength peaks from 3400/cm in native biomass to 3300/cm in Hg-loaded cells. Groups of secondary amides, carboxylic acids and phenolic residues may be changing its availability due to mercury interactions with this type of molecules in cells. SEM-EDS analysis showed that CBAM5, Ot4b31 and III(3)7 strains are able to adsorb mercury particles outside and it can be related to presence of S-layer as shown in previous research with other metals. Further studies are needed to understand this interaction between *L. sphaericus* and mercury to propose a novel method of mercury removal from polluted water.

JU137

Influencia de la composición del medio líquido en la producción de biomasa y contenido de proteínas del micelio de *Lentinula edodes* producido mediante fermentación en estado líquido (FEL)

Carolina Vega-Oliveros¹, Carolina Chegwin-Angarita¹, Harold Ardila-Barrantes¹. ⁽¹⁾ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, CO

Los hongos macromicetos son una fuente de diferentes compuestos químicos con actividad biológica comprobada, con potencial para ser usados como nutracéuticos para la generación de alimentos funcionales. *Lentinula edodes* es una seta que presenta un particular potencial para el desarrollo de alimentos funcionales que pueden contribuir al control de diferentes enfermedades con buena aceptación sensorial. El estudio de su producción biotecnológica debe basarse tanto en la cantidad de biomasa obtenida como en la presencia de aquellos metabolitos y proteínas con potencial actividad biológica. En la presente investigación se determinó el efecto que tiene la composición de diferentes medios de cultivo para la producción de micelio de *L. edodes*, utilizando fermentación en estado líquido (FEL). Para ello se realizó la cuantificación de la biomasa y del contenido de proteína total, cuando este hongo fue crecido por triplicado en 8 diferentes medios de cultivo: a) Peptona - glucosa - extracto de levadura, b) Melaza, c) Glucosa y sales (KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, NH_4Cl , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2), d) harina de avena, e) harina de maíz amarillo burdo, f) harina de maíz amarillo precocido, g) harina de centeno y h) bienestarina. Se usaron matraces de 250 mL con 100 mL de medio, con agitación de 150rpm y manteniendo condiciones similares para todos los casos (pH 5 y T = 26°C). La determinación de biomasa se realizó pesando el micelio liofilizado a los 10 días y la cantidad de proteína se determinó usando los datos de contenido de Nitrógeno total obtenidos de un análisis elemental. Se determinó que el medio d, constituido por harina de avena, generó la mayor producción de biomasa con una buena producción de proteína, mientras que con el medio a, constituido por peptona-glucosa y extracto de levadura, a pesar de presentar la mayor producción de proteína, presentó los menores rendimientos de proteína total en relación con la biomasa. Este trabajo evidencia el efecto que tiene en la biomasa y la cantidad de proteína total, la composición del medio en el cultivo por FEL de la seta comestible *L. edodes*.

Caracterização da lipase imobilizada em suporte hidrofóbico, produzida por cultivo submerso de *Aspergillus* sp.

Tacin Mariana V^{1,2}, José M Palomo², Ebinuma Valéria CS³. ⁽¹⁾ Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, BR⁽²⁾ Departamento de Biocatálisis, Instituto de Catálisis y Petroleoquímica (ICP/CSIC), Madrid, ES ⁽³⁾ Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, BR

As lipases são enzimas amplamente estudadas pois podem ser aplicadas em muitas reações envolvendo produtos biotecnológicos. Esses biocatalizadores podem ser obtidos por diversas fontes, porém sua obtenção por fungos filamentosos tem se mostrado vantajosa devido à facilidade de produção e o baixo custo associado. Aliado a sua produção, estudos de imobilização de enzimas têm a finalidade de aumentar a estabilidade do biocatalisador sendo possível seu reuso por diversos ciclos. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi imobilizar a enzima lipase, produzida por *Aspergillus* sp., em suporte hidrofóbico octil sepharose[®], fazer sua caracterização e avaliar sua capacidade de reuso. A lipase foi produzida por cultivo submerso utilizando óleo de uva (6 mL/L) como indutor, por 4 dias. O meio fermentado foi liofilizado, ressuscitado e submetido à 4 ciclos de extração com *n*-hexano (1:1 v/v) para extração do óleo residual. A imobilização da enzima foi realizada em cascata (4 ciclos/30 minutos), empregando a razão enzima:substrato de 1:6. Os testes de estabilidade, parâmetros ótimos (pH 3, 4, 5, 6, 7 e 8, e temperaturas 30, 40, 50, 60 e 70°C) e ciclos de reuso foram feitos com a enzima imobilizada. O substrato utilizado para dosagem da atividade enzimática foi *p*-nitrofenol propionato. As atividades ótimas foram obtidas em pH 5 e 50°C. Em relação a atividade, após 24 horas a enzima manteve 100% da sua atividade inicial em 50 e 60°C, e houve aumento de atividade a 40°C (140%). Todos os pHs testados apresentaram atividade relativa acima de 80% e no pH ótimo, a atividade foi 30% superior a inicial. Esses resultados mostram que a enzima imobilizada é pouco sensível às variações de pH e, embora tenha atividade ótima em 50°C, se mostra mais estável à 40°C. Em relação ao reuso, a partir do 5º ciclo a enzima manteve 75% da atividade inicial, permanecendo assim por outros 15 ciclos testados. Esse resultado é extremamente importante pois comprova que o processo de imobilização, nas condições testadas, contribuiu para a estabilização da atividade da lipase, podendo ser reutilizada por muitos ciclos sem que haja perda na atividade contribuindo para a redução de custos em processos enzimáticos.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e FAPESP

JU139

Produção de pigmentos alimentares por *Monascus ruber* CCT 3802 via fermentação em estado sólido de grãos de arroz

Souza Tainá Francisca Cordeiro², Luiz Carlos Da Cunha¹, **Franciello Vendruscolo**². ⁽¹⁾ Faculty of Pharmacy, Federal University of Goiás, Goiânia, BR ⁽²⁾ Food Engineering Department, College of Agronomy, Federal University of Goiás, Goiânia, BR

Pigmentos ou corantes alimentares são substâncias utilizadas para contribuir com a cor dos alimentos. Devido à mutagenicidade e potencial carcinogênico indesejáveis dos corantes sintéticos, resultado da ingestão destas moléculas, a quantidade de corantes e pigmentos sintéticos tem diminuído, entretanto, pesquisas têm sido conduzidas com o intuito da produção e descobertas de novos pigmentos naturais, como os pigmentos microbianos. Pigmentos *Monascus* são produzidos por fungos filamentosos do gênero *Monascus* e, dentre os metabólitos secundários, estão os pigmentos de coloração amarela, laranja e vermelha. Visando melhorar a produtividade do pigmento vermelho, a partir da fermentação em estado sólido de grãos de arroz, foi realizado delineamento fatorial completo com metodologia de superfície de resposta. A umidade inicial (22 a 38%) e a concentração de monoglutamato de sódio (0,002-0,080%) foram avaliadas seguindo o delineamento estatístico Box-Behnken, com pontos axiais e réplicas em pontos centrais. A avaliação foi realizada a partir da quantificação dos pigmentos em espectrofotometria a 400, 470 e 510nm de comprimento de onda e a determinação da cor foi realizada em colorímetro com sistema CIELAB. Em todas as varreduras foi possível verificar a presença dos pigmentos amarelo, laranja e vermelho. Foi observada maior produtividade de pigmento vermelho nos pontos centrais do planejamento experimental, com umidade de 30% e concentração de monoglutamato de sódio de 0,05%. A determinação de cor indicou valores de L^* , a^* e b^* positivos para todas as amostras. Os valores de Hue comprovaram a variação de cor do vermelho intenso ao laranja claro. Em relação à luminosidade (L^*), as amostras com menores valores foram as mais vermelhas visualmente e vice-versa. Para o parâmetro a^* todas as amostras apresentaram coloração vermelha, e os ensaios com umidade no limite superior ou teor de monoglutamato de sódio no ponto axial superior tiveram menores valores. Os valores de saturações (C^*) confirmaram a intensidade da cor vermelha. A umidade foi o parâmetro com maior efeito na cor e produção de pigmentos, ensaios com os limites superiores de umidade ou axial superior de monoglutamato de sódio dificultaram a produção de pigmentos e forneceram tonalidade laranja ao arroz.

JU140

Descontaminación de enzimas líticas por monoazida de propidio (PMA) para diagnóstico molecular de microorganismos fúngicos

Francisca Vera⁴, Karina Díaz⁴, Daniela Avilés², Dinka Mandakovic⁴, Ignacio Chávez⁴, Madelaine Mejías⁴, Liliana Montt⁴, Juan Carlos Letelier³, Verónica Cambiazo¹, Mauricio González¹, Rodrigo Pulgar^{1,2,4}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Laboratorio de Genómica Aplicada, INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽⁴⁾ Laboratorio de Genómica y Genética de Interacciones Biológicas, INTA, Universidad de Chile

El diagnóstico molecular de microorganismos está en una etapa de consolidación en áreas de la medicina y diversos rubros productivos. En particular, la detección de microorganismos fúngicos basado en amplificación por qPCR ha permitido esta consolidación. Para ejecutar esto, es necesario dejar disponible el ADN de estos microorganismos, utilizando normalmente enzimas líticas (zimoliasas y liticasas) que permiten cumplir adecuadamente este objetivo. Lamentablemente, un problema recurrente es que muchas de estas enzimas disponibles comercialmente contienen trazas de ADN de levadura/hongos desde su origen, por lo que su uso en diagnóstico tiende a generar falsos positivos, amplificando los controles negativos y generando graves consecuencias en los resultados. Con el objetivo de descontaminar estas enzimas sin afectar su actividad, hemos estandarizado un protocolo basado en el uso de Monoazida de propidio (PMA), una molécula capaz de unirse al ADN libre tras ser activado con una luz específica, ya sea halógena de 650 W o led de 465-475 nm. Como la luz halógena produce altas temperaturas que potencialmente pueden desnaturar a las proteínas, diseñamos un dispositivo de producción de luz led fría (genera temperaturas inferiores a 30°C) en el cual se incuban las muestras de enzimas con PMA. Los resultados indican que, mediante ensayos de actividad enzimática en cultivos con levaduras, la adición de concentraciones inferiores a 50 mM PMA y el tratamiento con la luz, no altera la actividad de las enzimas. Los ensayos por qPCR demuestran que concentraciones de 5 mM de PMA son capaces de reducir hasta en un 98 % el ADN disponible en enzimas que contienen hasta 1 ng/μL de ADN contaminante. Se demostró también que el PMA libre remanente es descartado durante el protocolo de extracción de ADN, por lo que no afecta la extracción río abajo del material genético de microorganismos contaminantes a diagnosticar. La aplicabilidad de PMA para descontaminar ADN traza contaminante de enzimas sin afectar su actividad, muestra un amplio potencial para precisar y ampliar el diagnóstico molecular en Ciencias médicas y en la industria productiva, como también para realizar qPCR de microorganismos viables en diversas muestras.

Financiado por Proyecto FONDECYT 11161083, FONDECYT 1160802, FONDECYT 1151384, FONDECYT 3170523 y Proyecto FONDAP 15090007

JU141

Produção de L-asparaginase por *Aspergillus niveus* em fermentação em estado sólido (FES)

Amatto Isabela VS¹, Guimarães Luís Henrique S². ⁽¹⁾ Bioquímica, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista-UNESP, Araraquara, BR ⁽²⁾ Laboratório de Microbiologia e Biologia Celular, Faculdade de Filosofia, Ciência e Letras de Ribeirão Preto- FFCLRP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, BR

A L-asparaginase (EC 3.5.1.1) é amplamente utilizada para o tratamento de leucemias, principalmente leucemia linfóide aguda, hidrolisando a asparagina, aminoácido importante para o crescimento da célula tumoral, em ácido aspártico e amônia. Entretanto, a L-asparaginase disponível no mercado provém de bactérias, o que causa diversos efeitos colaterais nos pacientes, diminuindo a eficácia do tratamento. A FES é muito utilizada na obtenção de produtos microbianos, mostrando-se uma alternativa sustentável para a produção enzimática, reaproveitando produtos sub ou não utilizados. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi a produção de L-asparaginase pelo fungo *Aspergillus niveus* em FES utilizando resíduos agroindustriais (farelo de trigo, bagaço de cana de açúcar e casca de laranja) como substratos. Misturas de substratos foram também empregadas: M1-farelo de trigo, soja moída e casca de laranja; M2-farelo de arroz, casca de laranja e soja moída; M3-farinha de centeio, casca de laranja e soja moída; M4-casca de mandioca, farelo de trigo e soja moída; M5-farinha de soja, casca de laranja e farelo de trigo. Os substratos foram umidificados com água de torneira ou com solução de asparagina. O uso da mistura M2 umidificada com água de torneira possibilitou a maior produção enzimática (34,89 U/mg de proteína) em um período de 96h de fermentação. A influência do pH (3,0-10,0) e da temperatura (30-80°C) de reação na atividade enzimática foi avaliada. A maior atividade da L-asparaginase foi obtida na faixa de 35°C-50°C e pH 5,5-6,0. Sendo assim, o fungo *A. niveus* demonstrou potencial para a produção de L-asparaginase em FES. Ademais, o uso de resíduos agroindustriais e água de torneira torna-se uma alternativa atraente para diminuir o custo da produção desta enzima.

CAPES, FAPESP.

JU142

Maximização da produção e caracterização físico química de uma fitase de *Yersinia intermedia* expressa em *Escherichia coli* com a finalidade de ser empregada na alimentação animal

Suliana Francielli Vieira Andrade^{1,2}, Galdino Alexandro Sobreira², De Andrade Milton Hércules Guerra¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Enzimologia e Proteômica, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, BR ⁽²⁾ Laboratório de Biotecnologia de Microrganismos, Universidade Federal de São João del-Rei, Divinópolis, BR

Introdução. No sistema biológico, a hidrólise do ácido fítico formando mio-inositol e fosfato inorgânico é uma reação importante para o metabolismo, para a regulação e para as vias de transdução de sinal. Esta reação é catalisada, principalmente, por fitases, uma subclasse de fosfatases, as quais catalisam a hidrólise de porções de fosfato de ácido fítico, resultando na perda da capacidade do ácido fítico em quelar íons metálicos. A suplementação de rações para animais monogástricos com fitase aumenta a biodisponibilidade de fósforo, além de reduzir a poluição ambiental que pode ocorrer quando há elevadas concentrações de fósforo em corpos d'água. As fitases podem ser encontradas em plantas, animais e microrganismos, no entanto, as fontes microbianas são mais promissoras para a produção de fitases em escala comercial. **Metodologia.** Realizou-se a transformação dos clones de *Escherichia coli* BL21 DE33λ *pLysE* e *pLysS* com os plasmídeos carregando o gene da γ PHY por meio do método de choque térmico e selecionados utilizando 100µg/mL de ampicilina. Cultivaram-se as bactérias em um biorreator e, com o auxílio de géis SDS-PAGE, foi possível observar a expressão da proteína de interesse. Otimizaram-se as condições de cultivo para a produção enzimática por meio de uma análise fatorial completa. Realizou-se a purificação proteica em coluna de afinidade contendo níquel. Procedeu-se os testes de atividade enzimática utilizando o substrato sintético para-nitrofenolfosfato em presença ou não de íons cobre. **Resultados.** Com o desenvolvimento destes clones que expressam a fitase de *Yersinia intermedia* (γ PHY), foi possível obter enzimas purificadas, cujos valores de atividade enzimática variaram de 380,12 U/mL a 1019,93 U/mL. Verificou-se, também, que a γ PHY teve sua atividade diminuída pelo íon cúprico. Quando não houve presença de íons Cu^{2+} , a atividade enzimática foi de 493,60 U/mg e, com concentrações crescentes da solução contendo cobre, a atividade enzimática foi diminuída, chegando a 31,67 U/mg quando incubada com sulfato de cobre II. **Conclusão.** A transformação e a obtenção de novos clones proporcionaram aumento das bandas de expressão e, conseqüentemente, de sua atividade enzimática fosfatásica. Dessa forma, tornou-se possível avaliar a influência dos íons de cobre (Cu^{2+}) em atividade enzimática, evidenciando uma inativação pelos íons cúpricos.

Agradecimento à Universidade Federal de Ouro Preto, à Universidade Federal de São João del-Rei, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e ao Programa de Núcleos Emergentes pela execução.

JU143

Poly-3-hydroxybutyrate synthesis by the furan aldehydes-degrading strain *Cupriavidus basilensis* RK1 from diverse carbon sources

Pamela Villegas¹, Raúl Donoso¹, Danilo Pérez-Pantoja¹. ⁽¹⁾ Programa Institucional de Fomento a la Investigación, Desarrollo e Innovación, Laboratorio de Genómica Microbiana y Biotecnología, Universidad Tecnológica Metropolitana, Santiago, CL

Cupriavidus basilensis RK1 (ATCC BAA-699) has been isolated by its ability to degrade several chloroaromatic compounds. In addition, strain RK1 is able to use as only carbon source diverse furan aldehydes such as furfural or 5-hydroxymethylfurfural, which are toxic inhibitors usually found in lignocellulosic hydrolysates. Poly-3-hydroxybutyrate (PHB) is the most studied member of the biopolymer polyhydroxyalkanoate family, being strains of genus *Cupriavidus* model bacteria for PHB synthesis. The aim of this study was to analyze PHB synthesis by strain RK1 from different carbon sources and the possible effect of furfural on PHB production. *In silico* analysis shown that *C. basilensis* RK1 possesses the putative *pha* genes that encode the enzymes for PHB biosynthesis. The genes found in strain RK1 have a cluster organization identical to those described in the model strain *Cupriavidus necator* H16. However strain RK1 owns a higher redundancy of biosynthetic PHA genes. Notoriously several copies of genes encoding the key enzymes PhaA, PhaB and PhaC were found in RK1 genome. For *in vivo* confirmation of the phenotype predicted by bioinformatics analyses the production of PHB was analysed in different carbon sources. Growth of *C. basilensis* RK1 was assayed on eight different carbon sources (glucose, xylose, sucrose, fructose, lactose, gluconate, mannitol and glycerol), revealing that only fructose, gluconate and glycerol were used as carbon source. Nile Red staining revealed that when *C. basilensis* RK1 grew on an excess of carbon source it was able to accumulated PHA. To identify PHA produced by strain RK1, the cells were grown on gluconate and fructose as carbon source and then subjected to propanolysis and GC-MS analysis. In both cases PHB production was confirmed. Finally, *C. basilensis* RK1 was grown in presence of furfural and variation on PHB production was analyzed. This work paves the way for utilization of RK1 strain in PHB production based in lignocellulosic hydrolysates as raw material.

Acknowledgments: This study was supported by FONDECYT 1161750 and CONICYT Research ANILLO ACT172128 from Chilean Government



JU144

Biotechnological potential associated with cyanobacteria and heterotrophic bacteria in culture

Vizzotto Carla S¹, Lopes Fabyano AC¹, Stefan Green J², Walter Juline M³, Thompson Fabiano L³, Krüger Ricardo H¹. ⁽¹⁾ Molecular Biology, Institute of Biology, University of Brasília, BRASÍLIA ⁽²⁾ DNA Services Facility, Research Resources Center, University of Illinois at Chicago, Chicago, US ⁽³⁾ Laboratory of Microbiology, Institute of Biology, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR

Bacteria from the *phylum Cyanobacteria* are a rich source of biotechnologically important secondary metabolites. Cyanobacterial cultures are commonly uni-algal, but not axenic. Although associations between cyanobacteria and heterotrophic bacteria in environmental systems and in culture have been described, this exact nature of this relationship is not well understood. Some prior studies have described the influence of heterotrophic bacteria on the growth and transcriptome of cyanobacteria in culture. To explore the physiological and biotechnological potential of the heterotrophic partner, we performed whole genome sequencing of *Muricauda* sp. strain K001, isolated from marine cyanobacteria culture CCMR0080 (Culture Collection of Microorganisms at the Federal University of Rio de Janeiro). Strain K001 was cultured in Marine Broth 2216 (Difco) and WGS was performed using the Illumina NextSeq500 platform. *Muricauda* spp. are rod-shape gram-negative bacteria widely distributed in seawater. They form small yellow colonies with regular edges. The genomic data of strain K001 indicates the presence of a diverse metabolic machinery and the potential to produce secondary metabolites and pigments. To fully characterize microbial interactions, complete genome sequences of each partner is needed. Thus, the genome sequence of strain K001 will improve our understanding of the relationship between heterotrophic bacteria and cyanobacteria, and will inform future studies examining the economic potential of these microorganisms and their biotechnological applications.

CNPq (Ministry of Science, Technology, Ministry Innovations and Communications—Brazil), CAPES Foundation - Ministry of Education and the Foundation for Research Support of the Federal District (FAPDF).

JU145

Remoção de cobre e chumbo de soluções aquosas por consórcios bacterianos atuando como bioSORVENTES

Waite Carolina C Da C¹, Silva Guilherme OA¹, Bitencourt José Augusto P², Pereira Daniella C¹, Chequer Luciana PT¹, Simone Pennafirme¹, Elisamara Sabadini-Santos¹, Crapez Mirian AC¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biologia Marinha, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, BR ⁽²⁾ Desenvolvimento Sustentável, Instituto Tecnológico da Vale, Instituto Tecnológico Vale Desenvolvimento Sustentável, Belém, BR

Os metais são elementos persistentes que podem alcançar o ambiente costeiro associados ao material particulado em suspensão ou dissolvidos na coluna d'água e ainda por deposição atmosférica. A presença de metais na coluna d'água favorece a mobilidade e biodisponibilidade para a biota e nos sedimentos, garante a persistência da contaminação, favorecendo a bioacumulação. Diante disso, a avaliação dos efeitos potenciais de metais, individualmente e em combinação, nos microrganismos constitui importante abordagem ecotoxicológica. A exposição a altas concentrações de metais biodisponíveis altera a diversidade bacteriana, favorecendo o aparecimento de espécies resistentes e tolerantes no ambiente. Neste trabalho, avaliou-se a resposta de um consórcio bacteriano à exposição de 0, 1, 6, 12,5, 25 e 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de Cu, Pb e Cu+Pb, monitorando o número de células por microscopia de epifluorescência e atividade das enzimas desidrogenases e esterases durante 11 dias. O consórcio bacteriano foi selecionado em presença de Cu de amostra sedimentar da Baía de Sepetiba, local historicamente contaminado por metais. Os resultados demonstraram dominância de *Alcanivorax* (80%), precursora na produção de EPS. O número de células não apresentou variações significativas nos bioensaios, 10^8 células.mL⁻¹, que é uma biomassa expressiva em presença de estressores. Todavia, foi possível observar redução da atividade das desidrogenases a partir do quinto dia de exposição a todas as concentrações testadas de Cu, Pb e Cu+Pb. A atividade das esterases apresentou tendência crescente, indicando maior demanda energética para completar o ciclo vital. A concentração de Pb no meio de cultura filtrado (0,2 μm) esteve abaixo do limite de detecção, indicando bioSORÇÃO, enquanto que o Cu foi detectado próximo às concentrações testadas, indicando efluxo. Estes resultados sugerem o uso de biomarcadores, como a atividade enzimática das esterases e desidrogenases, na avaliação de resistência e tolerância de comunidades previamente expostas à estressores, como o consórcio testado.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

JU146

Ingeniería de proteínas en dioxigenasas de escisión de carotenoides.

Nicole A Werner, Eduardo Agosin¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Escuela de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL

Los apocarotenoides constituyen un amplio grupo de moléculas orgánicas obtenidas del corte oxidativo de carotenoides. En la naturaleza sus funciones son variadas y van desde hormonas vegetales hasta metabolitos para señalización y aromas. Dentro de los apocarotenoides, las iononas ($C_{13}H_{20}O$) comprenden una familia de aromas florales que son extraídos desde aceites vegetales u obtenidos por síntesis química. Ambos procesos tienen desventajas por lo que su síntesis en factorías celulares aparece como una alternativa atractiva. Para la obtención de β -ionona en *Saccharomyces cerevisiae* es necesario incorporar la vía de síntesis de su precursor directo, β -caroteno. Una vez producido este compuesto, el corte en el doble enlace C9-C10 permite la obtención de β -ionona. Este corte es realizado por enzimas de la familia CCD (*carotenoid cleavage dioxygenase*). Anteriormente, encontramos que la actividad de CCDs *in vivo* constituye un paso limitante en este proceso. El presente trabajo tuvo como objetivo principal mejorar la actividad de la CCD1 en levadura. La primera aproximación fue construir híbridos de CCDs al combinar la región amino-terminal de enzimas CCD4 o VP14 con el carboxilo-terminal de CCD1. Debido a la complejidad y alto grado de conservación estructural de las enzimas, los constructos obtenidos no fueron funcionales *in vivo*. La segunda estrategia aprovechó que CCD1 es una proteína que requiere estar en contacto con membrana para poder acceder a los carotenoides. Para mejorar el acceso a sustrato se agregaron péptidos que destinan proteínas a membranas, ya sea retículo endoplásmico o membrana plasmática. Se probó tres péptidos diferentes comparando la pigmentación de colonias con la cepa transformada con la CCD1 nativa. Cuando se agregó el péptido a la proteína se observó una disminución en la pigmentación de colonias, indicador de la degradación de β -caroteno. Luego se creció en cultivo líquido cada cepa y se cuantificó el contenido de β -ionona, obteniendo un aumento de β -ionona entre 4 y 6 veces respecto al control cuando se usó una enzima CCD1 modificada. Esta nueva aproximación abre camino a un aumento significativo en la producción de apocarotenoides por ingeniería metabólica, mejorando un paso limitante en el proceso de síntesis heteróloga.

FONDECYT 3170676 (NW), FONDECYT 1170745 (EA)

JU147

Engineering the central carbon metabolism of *Pseudomonas putida* KT2440 for elevated production of medium-chain-length Polyhydroxyalkanoates (PHAs) on glycerol

Daniela Duchens¹, Ignacio Poblete¹. ⁽¹⁾ Centro de bioinformática y biología integrativa, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello

Polyhydroxyalkanoates (PHAs), a bio-based polymeric material, can be produced by a variety of microorganisms under inorganic nutrient limited growth conditions and accumulate as inclusion bodies in the cytoplasm of the cell as a carbon and energy source. For the replacement of oil-based plastics, PHAs are the solution due to their similar mechanical and physical properties to those of thermoplastics. *Pseudomonas putida* KT2440 can use glycerol, a by-product from the biodiesel industry, as a carbon source showing accumulation of the biopolymer as much as 30% of its cell dry weight as PHA. Based on an elementary flux modes study, we found several genetic targets (knockout), where by-product formation (malate and succinate) is avoided, increasing the carbon flux towards PHA synthesis indirectly. In the present study, we generated knockout strains of the genes *ppc* and *aceA*, encoding for a phosphoenol pyruvate carboxylase and an isocitrate lyase, respectively. Hypothesis: The knockout of the *ppc* and *aceA* genes increase PHA production in *P. putida* KT2440 growing on glycerol. To this end, we generated single and double knockout mutant strain in *P. putida* KT2440 of the gene *ppc* and *aceA* through homologous recombination. We obtained two constructs by PCR Sewing, which were introduced separately into the pEMG plasmid by restriction sites. Each pEMG-*ppc* and pEMG-*aceA* fusion will be co-integrated into the genome of *P. putida* KT2440 by a single cross over. Biopolymer content obtained in the batch culture were characterized using HPLC and gas chromatography–mass spectrometry. We have successfully obtained each single mutant and the double knockout. For the single $\Delta pp c$ mutant, the total biomass is affected under PHA production condition, showing a 40% less than the parental wild type strain, but the PHA contents was not affected (35%). We also found that glycerol-grown cells of the $\Delta ace A$ mutant strain accumulated a higher level of PHAs, more than 50% in comparison to KT2440 in batch cultures. We are currently evaluating the PHA production capacity of double mutant. The rational design and engineering of the metabolic pathway of the versatile environmental bacterium *P. putida* KT2440 allows the sustainable production of a biodegradable biopolymer using waste products such as glycerol.

Duchens D., Poblete-Castro I.

Biosystem Engineering laboratory, Center of Bioinformatics and integrative Biology, Universidad Andrés Bello.

JU148

Estabilidad de las cepas anaerobias *Butyrivibrio fibrisolvens* (B9), *Streptococcus bovis* (C2), *Ruminococcus flavefaciens* (Rf) y *Fibrobacter succinogenes* (Fs) formuladas en un vehículo oleoso

Martha Liliana Chaparro¹, Erika Grijalba Bernal², Fernando Rodríguez Villamizar², Gómez Álvarez Martha Isabel². ⁽¹⁾ Cundinamarca, Departamento Bioproductos, Corpoica, Mosquera, CO ⁽²⁾ Departamento de Bioproductos, Corpoica, Mosquera, CO

Corpoica seleccionó cuatro bacterias anaerobias ruminales capaces de reducir en un 65% la incidencia de diarreas en terneros y aumentar su peso corporal. Para estas bacterias se diseñó una formulación oleosa, buscando garantizar la supervivencia de las bacterias anaerobias a través del tiempo. Inicialmente se evaluó la estabilidad de las bacterias *Butyrivibrio fibrisolvens* (B9), *Streptococcus bovis* (C2), *Ruminococcus flavefaciens* (Rf) y *Fibrobacter succinogenes* (Fs) formuladas individualmente y en conjunto. Estas se envasaron en jeringas de polipropileno de alta densidad (12 mL). El estudio siguió un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento para un total de 15 tratamientos. Las muestras fueron almacenadas a $6\pm 2^{\circ}\text{C}$ y $18\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 6 meses, evaluando la viabilidad de las bacterias y el contenido de contaminantes mediante el método de tubo rodante y recuento en placa respectivamente. Las muestras almacenadas tanto a $6\pm 2^{\circ}\text{C}$ y $18\pm 2^{\circ}\text{C}$ presentaron un contenido de contaminantes inferior a 10^4 UFC/mL. Con respecto a la viabilidad, los tratamientos que presentaron la mayor pérdida a $6\pm 2^{\circ}\text{C}$ fueron las formulaciones que contenían únicamente la cepa C2 (38,12%), y las que contenían mezclas de las cepas C2 con B9, C2, B9 y Fs (21,03%) o C2, B9 y Rf (12,17%). A $18\pm 2^{\circ}\text{C}$, los tratamientos que presentaron mayor pérdida de viabilidad fue el tratamiento que contenían solamente la cepa C2 (38,12%), la mezcla de C2 y Rf (16,34%) y C2, B9 y Fs (15,80%) y C2, B9 y Rf (12,50%). En general, se encontró que los tratamientos que presentaron la mayor pérdida de viabilidad tanto a $6\pm 2^{\circ}\text{C}$ como a $18\pm 2^{\circ}\text{C}$ fueron los que incluyeron las cepas *Streptococcus bovis* y *Butyrivibrio fibrisolvens*, lo que sugiere que estas cepas tanto individualmente como en conjunto fueron menos estables en la formulación, mientras que las formulaciones que contenían las cepas Fs y Rf presentaron la mayor estabilidad en el tiempo. Esto se debe posiblemente, a que las cepas C2 y B9 tienen un metabolismo más rápido, que permite una mayor producción de ácido butírico y acético, y que puede estar afectando la viabilidad de los microorganismos y por tanto causar su muerte.

JU149

Aislamiento e identificación de hongos asociados a madera en descomposición, productores de pigmentos con potencial biotecnológico

Camila Cuevas¹, Christian Deramond¹, Vicente Hernandez², Nicole Sagredo², Yudith Guillen², Daniel Chavez¹, Angela Machuca¹. ⁽¹⁾ Ciencias y Tecnología Vegetal, Escuela de Ciencias y Tecnologías, Universidad de Concepción, Los Angeles, CL ⁽²⁾ Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción, Concepción, CL

Los hongos son reconocidos productores de metabolitos secundarios los que pueden tener una diversidad de aplicaciones en las más variadas áreas (industrial, alimentos, farmacéutica, etc.). Entre tales metabolitos se encuentran los pigmentos, que por ser de origen natural representan una alternativa cada vez más importante a los colorantes sintéticos, cuyo uso industrial se asocia a efectos dañinos sobre las personas y el medio ambiente. En la búsqueda de nuevas fuentes de colorantes naturales, en este estudio se aislaron e identificaron hongos filamentosos asociados a madera en descomposición y productores de pigmentos con potencial de aplicación industrial. Muestras de madera de *Nothofagus* spp. en descomposición y con diferentes tonalidades, fueron recolectadas en bosques entre las regiones del Maule y Los Lagos, y utilizadas para el aislamiento de los hongos. Pequeños trozos de madera fueron sembrados sobre medio sólido (extracto de malta – agar- EMA con estreptomina), y luego de sucesivos cultivos fueron obtenidas colonias puras. Aquellas colonias que presentaron pigmentación fueron posteriormente identificadas a través de la secuenciación de la región ITS del ADN ribosomal, utilizando los partidores ITS1 e ITS4. Los resultados revelaron que los aislados pertenecieron al filo *Ascomycota* y a los géneros *Penicillium*, *Talaromyces* y *Trichoderma*, con algunos pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Epicoccum*. Los aislados fueron cultivados inicialmente en medio EMA donde se evaluó visualmente la producción de pigmentos, y a partir de esto fueron seleccionados los que produjeron pigmentación extracelular. Las especies *Fusarium oxysporum* (pigmento violeta), *Penicillium murcianum* (amarillo), *Talaromyces australe* (rojo) y *Trichoderma spirale* (anaranjado) fueron seleccionadas en función de la coloración del medio y del grado de pigmentación en el menor tiempo de incubación. Posteriormente, las especies fueron cultivadas en los medios EMA, papa-dextrosa (PDA) y Czapek, evaluándose visualmente la producción de pigmentos, morfología de las colonias y crecimiento. Se constató que el cambio en la composición de los medios nutritivos afectó la producción de pigmentos (intensidad/tonalidad/color) por los diferentes aislados. Estudios en desarrollo están dirigidos al cultivo de los hongos en medio líquido con la finalidad de optimizar y cuantificar la producción de pigmentos y caracterizarlos.

Proyecto FONDEF IDeA ID15I10105



JU150

Pigmentos producidos por *Penicillium murcianum* y *Talaromyces australis*: potenciales colorantes naturales para la industria textil

Christian Deramond², Isaac Saavedra¹, Vicente Hernandez¹, Nicole Sagredo¹, Camila Cuevas², Yudith Guillen², **Angela Machuca**². ⁽¹⁾ Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción, Concepción, CL ⁽²⁾ Departamento de Ciencias y Tecnología Vegetal, Campus Los Ángeles, Universidad De Concepción, Los Angeles, CL

Los colorantes sintéticos son sustancias ampliamente utilizadas por las industrias de alimentos, farmacéutica, textil y de cosméticos. Por su naturaleza química éstos resultan de alto impacto tanto para el ambiente como para la salud humana, ya que muchos resultan ser carcinogénicos y/o mutagénicos. Los ascomicetos *Penicillium murcianum* y *Talaromyces australis*, aislados de madera degradada, producen pigmentos extracelulares amarillo y rojo, respectivamente, por lo que podrían representar una potencial fuente de obtención de pigmentos naturales para la industria textil. Por ello, el objetivo de este estudio fue optimizar la producción de pigmentos por *P. murcianum* y *T. australis* en fermentación sumergida, y determinar su potencial para la tinción de telas de lana y lino. Utilizando un diseño factorial completo y a través de la metodología de superficie de respuesta (MSR), se optimizaron las condiciones de cultivo de ambos hongos en medio extracto de malta (EM) para la producción de pigmentos, siendo los factores a analizar pH del medio y adición de cloruro de sodio (NaCl). Los cultivos fueron mantenidos en incubación durante 10 días a 30°C y 130 rpm. Al finalizar la incubación se determinó la producción de pigmento y los rendimientos se compararon con un medio EM (2%) base, pH 7. La máxima producción de pigmento amarillo (0,56 g.L⁻¹) por *P. murcianum* se obtuvo en medio EM a pH 9 y en presencia de 7,5 g.L⁻¹ de NaCl. En tanto la máxima producción de pigmento rojo (0,47 g.L⁻¹) por *T. australis* no requirió de la adición de NaCl al medio EM, pero si de una condición ácida (pH 5). De esta forma, ambas especies mostraron diferentes requerimientos de cultivo para la máxima producción de pigmentos. En ambos casos, la producción de pigmentos luego de la optimización resultó ser el doble de lo obtenido en EM base. Los pigmentos fueron extraídos desde los caldos de cultivo con solventes orgánicos (acetato de etilo y butanol) y utilizados en un ensayo de tinción de telas de lana y lino bajo condiciones de laboratorio. Los resultados preliminares de tinción sugieren el potencial de los pigmentos como colorantes naturales para la industria textil.

Proyecto FONDEF IDeA ID15I10105

JU151

Investigation of antimicrobial activity of ethyl acetate fraction of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Punica granatum* L. species

Pinheiro Aruanã Joaquim Ma¹, Dourado Ádylla Wilenna², Lima-Neto Lidio Gonçalves³. ⁽¹⁾ Laboratório de Imunologia e Microbiologia das Infecções Respiratórias - LIMIR, Doutorado em Biotecnologia, Universidade CEUMA, São Luis, BR ⁽²⁾ Laboratório de Imunologia e Microbiologia das Infecções Respiratórias - LIMIR, Estudante, Universidade CEUMA, São Luis, BR ⁽³⁾ Laboratório de Imunologia e Microbiologia das Infecções Respiratórias - LIMIR, Professor Orientador, Universidade CEUMA, São Luis, BR

The *Punica granatum* L., also known as Pomegranate is one of the species most commonly used for the treatment of Acute Respiratory Infections (ARI), which justifies the study of this action. For this, fresh leaves were collected, dried and macerated with alcohol solution 70% (1:3). The alcoholic extract of *Punica granatum* L. (PgHA) was concentrated and lyophilized. Later, the material was suspended in a solution of methanol/water (9:1) and subjected to phase separation followed by a polarity different solvents order: hexane, chloroform and ethyl acetate (EtOAc). To study the antimicrobial activity were used strains of bacteria: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031). Inhibition assays were done by spreading on Mueller-Hinton agar with fraction concentrations: 32, 16, 8, 4 and 2 mg/mL followed by determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) using Resazurin as a marker of cell viability and extract concentrations of 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, and 4 µg/mL and determining the Minimal Bactericidal Concentration (MBC) agar starting from results of the MIC. The EtOAc was able to inhibit the growth of *S. aureus* at concentrations of 32, 16 and 8 mg/ml to inhibition zones of 18±0; 14±2; and 12±2 mm, respectively. Already against *A. baumannii*, the extract was effective in inhibiting with concentrations of 32 and 16mg/mL with halos of 18.7±5.5; and 10.3±9,3mm. Inhibition was also observed against *P. aeruginosa* in all extract concentrations with inhibition zones of 17±1.4; 14.5±2.1; 14; 11; and 9mm. The extract was not able to inhibit the growth of *K. pneumoniae*. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of EtOAc for *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *A. baumannii* were 256, 512 and 1024 µg/mL, respectively. The Minimum Bactericidal Concentration (MBC) was 512 µg/mL for *P. aeruginosa* and *S. aureus*; and 1024 µg/ml for *A. baumannii*. The results obtained were of great importance, as the number of multiresistant bacteria is increasing and the research of innovative drugs is crucial for the control of the diseases. In conclusion, the study extract showed antimicrobial activity *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *A. baumannii*.

Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado do Maranhão - FAPEMA

Universidade do CEUMA - UniCEUMA

Universidade Federal do Maranhão - UFMA

JU152

Participación de las proteínas de unión a manosa, glucosa, galactosa y el remodelamiento de actina en la captación e internalización de *Escherichia coli* O157:H7 por *Acanthamoeba castellanii*

Sandra Flores¹, Heriberto Fernandez¹, Roberto Vidal². ⁽¹⁾ Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral De Chile, Valdivia, CL ⁽²⁾ Programa de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL

Introducción: *Acanthamoeba castellanii* es un protozoo ampliamente distribuido en la naturaleza, donde estabiliza la biomasa bacteriana al alimentarse principalmente de ellas. Sin embargo, no todas las especies bacterianas son digeridas por el protozoo ya que algunas, principalmente patógenas, evaden la digestión amebiana y permanecen viables como endosimbiontes. *Escherichia coli* O157:H7 o (STEC), es de carácter zoonótico y se transmite al hombre a través de alimentos y fuentes ambientales contaminadas, causando diarrea leve o aguda, colitis hemorrágica y en algunos casos el síndrome urémico hemolítico. La interacción entre STEC y protozoos de vida libre representa un beneficio para la bacteria, principalmente porque ésta utiliza a los protozoos como lugar de resguardo, vehículo de transmisión o como un entorno de modificación patogénica. La captación bacteriana es el primer paso de la interacción, donde intervienen receptores amebianos de superficie y componentes bacterianos externos. Con el fin de proporcionar información sobre la etapa temprana del proceso fagocítico, monocapas de *A. castellanii* fueron tratadas por separado con manosa, glucosa y galactosa, además, con inhibidores de actina, RhoA y PI3K. Luego, se infectaron con *E. coli* O157:H7 (1:100), se eliminaron las bacterias no adheridas, posterior lisis amebiana y se determinó el número de bacterias adheridas e internalizadas mediante recuento en placa. **Resultados:** la saturación con manosa, glucosa y galactosa redujo la captación en un 90, 50 y 30% respectivamente, de forma dosis dependiente. Por su parte la inhibición de polimerización de actina, PI3K y RhoA, redujo la internalización en un 77, 93 y 27 % respectivamente. **Conclusiones:** La captación e internalización requieren principalmente la interacción entre la proteína de unión a manosa, el dinamismo de actina y las vías de señalización mediadas por PI3K. La proteína de unión a glucosa podría participar secundariamente en este proceso. Las proteínas de unión a galactosa parecen estar implicadas en procesos distintos al reconocimiento y unión bacteriana. El bloqueo de la vía RhoA, no afectó significativamente, esto podría indicar que las vías de señalización río abajo que intervienen en la remodelación del citoesqueleto de actina, si bien participan en la internalización bacteriana no son la vía principal utilizada en este proceso.

Beca Doctorado Nacional CONICYT Folio 21140077

JU153

Biodegradación de fenantreno por cultivos sintéticos: identificación de roles metabólicos mediante análisis transcriptómico

Marianela Macchi¹, Sabrina Festa¹, Esteban Nieto¹, Coppotelli Bibiana M¹, **Morelli Irma S^{1,2}**. ⁽¹⁾ CINDEFI (CONICET-UNLP), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, AR ⁽²⁾ CIC-PBA, Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, AR

Los ecosistemas sintéticos se utilizan para obtener información sobre procesos metabólicos, interacciones, redes, relación diversidad-funcionalidad y para crear interacciones y comunidades con características y funcionalidades deseadas. El objetivo del presente trabajo fue diseñar consorcios sintéticos degradadores de fenantreno, a partir de microorganismos completamente caracterizados, para determinar el rol funcional que ocuparía cada población bacteriana en el flujo del carbono. Se diseñaron consorcios sintéticos combinando cepas aisladas de un consorcio natural obtenido a partir de un suelo contaminado con PAH. Por secuenciación del gen 16S rRNA dichas cepas se identificaron como *Sphingobium* sp. (AM), *Pseudomonas* sp. (Bc-h), *Pseudomonas* sp. (T), *Klebsiella aerogenes* (B), *Inquilinus limosus* (I) y *Burkholderia* sp. (Bk). La caracterización fisiológica mostró que solo las cepas AM y Bk fueron capaces de crecer en fenantreno como única fuente de carbono y energía. El análisis de sus genomas determinó que todas contienen genes relacionados con la vía de degradación del fenantreno, sin embargo las cepas AM y Bk son esenciales para el ataque inicial al anillo aromático. Los consorcios sintéticos CS-C (todas las cepas) y CS-AM (sin la cepa Bk) se inocularon en medio con fenantreno como única FCE alcanzando una eliminación de fenantreno mayor al 99% al día 7 de incubación, significativamente superior a la obtenida en cultivos individuales de las cepas AM (88%) y Bk (97%), demostrando la existencia de relaciones sinérgicas entre las cepas que conforman los CS. Además, el metabolito clave de la ruta de degradación de fenantreno, ácido 1-hidroxi 2-naftoico (AHN), se acumuló en CS-C. El estudio de la expresión de genes funcionales a través de RT-qPCR, mostró en CS-AM una reducción significativa de la expresión de los genes *XylE* y *adhA1c*, que actúan en la vía baja de la degradación, con respecto a la cepa AM, demostrando una menor participación de AM en la vía baja de degradación al formar un consorcio. Se diseñaron consorcios sintéticos con alta eficiencia de degradación, evidenciando una relación sintrófica entre AM, responsable del ataque inicial al fenantreno, y el resto de las cepas. En CS-C la relación de competencia que establecería Bk provoca la acumulación de AHN.

Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2013-0103)

Universidad Nacional de La Plata

JU154

Microbiome of oxygen deficient zones and its temporal variability off Central Chile (32°S, Serie de tiempo oceanográfica Valparaíso, STOV)

Melline Noronha¹, Marcela Cornejo², Alejandro Murillo³, Veronica Molina¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha de Ciencias de La Educación, Valparaíso, CL ⁽²⁾ Escuela de Ciencias del Mar e Instituto Milenio de Oceanografía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL ⁽³⁾ Structural and Computational Biology Unit EMBL, Bork Group FFEM Project, Heidelberg, DE

Oxygen deficient areas are expanded in the world ocean as a result of anthropogenic nutrient enrichment and resulting eutrophication of coastal areas, but are also a natural oceanographic feature in the Eastern South Pacific. Along the Chilean coast, a meridional trend of oxygen deficient zone intensity distribution occurs, characterized by anoxic towards more oxygenated conditions ($<0.5 - 1 \text{ mL O}_2/\text{L}$) associated to the Peru-Chile undercurrent poleward flow ($\sim 10^\circ - 40^\circ\text{S}$), having an impact in the biogeochemical cycling such as the intensification of greenhouse gases production. In this study, we determine the present and active bacterial and archaeal community using 16S rRNA and rDNA (i-tag) with a representative period (September 2016) and identify core and unique communities at different depths associated with oxygen variability at STOV oceanographic station and contrasting seasons between 2015-2016 (n=86). The microbial community classification and variability was analyzed using Qiime1.9.1 pipeline and SILVA database. 16S rRNA vs DNA results indicate that a higher diversity were retrieved in RNA during Sept-2016. In general, 26 core microorganisms were detected, whereas 22, 18, 11 and 1 groups were exclusive from the following different layers, i.e., surface oxic, oxycline surface and deep, oxygen minimum zone, respectively (>1 , $1-0.5$ and $<0.5 \text{ mL O}_2/\text{L}$). The most abundant core orders were SAR11, Nitrosopumilales and Thiomicrospirales, whereas Arctic 97B-4 marine group (OMZ), belonging to Verrucomicrobia class were exclusive in OMZ zone. In total these results indicates a potential functional segregation of microbial communities

FONDECYT 1171324, Grupo de Investigación Avanzada UPLAguas

JU155

Estudio de la comunidad bacteriana asociada a las bioincrustaciones presentes en la membrana de osmosis inversa de la desaladora “La Chimba”, Región de Antofagasta

Francisca Oliva¹, Fernando Silva¹, Vilma Pérez¹. ⁽¹⁾ Centro de Bioinnovación, Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL

El *biofouling* es un problema que actualmente afecta a las industrias que poseen sus instalaciones sumergidas en ambientes acuáticos, especialmente en ecosistemas marinos debido a su alta diversidad de especies, lo cual se refleja también en la diversidad propia de las bioincrustaciones formadas en estas superficies. Dentro de los primeros microorganismos que se adhieren a la superficie, se encuentran las bacterias y microalgas, y posteriormente otros organismos de mayor tamaño se van adheriendo, formando una interacción de epibiosis entre las especies. En el caso de las industrias desaladoras de agua de mar, el *biofouling* se forma en varios sectores de las instalaciones, principalmente entre las capas de las membranas de osmosis inversa, provocando que la vida útil de las membranas sea significativamente menor al estimado, y por lo tanto genera mayores costos de operación para la planta. Dentro de las aproximaciones que se han desarrollado para combatir esta problemática se encuentran tratamientos químicos agresivos, sin embargo debido a su alta toxicidad en los últimos años se ha registrado un incremento en la búsqueda de tratamientos con sustancias antiincrustantes biodegradables y no tóxicas de origen natural, tales como compuestos bioactivos bacterianos. El objetivo de esta investigación fue caracterizar la diversidad de bacterias presentes en membranas de osmosis inversa, mediante técnicas microbiológicas dependientes de cultivo (aislamiento de morfotipos) de esta manera poder desarrollar una estrategia apropiada para el tratamiento eficiente de las membranas. Además se determinó el potencial biotecnológico en la producción de sustancias bioactivas *antifouling* y antimicrobiana de los aislados bacterianos obtenidos de la membrana. Se identificaron 7 aislados con actividad antimicrobiana contra *biofilm* de la misma membrana, y contra el patógeno humano *Vibrio parahaemolyticus*. Además se observó que 2 de ellos presentaron mayor actividad, en especial contra *Vibrio*. Los resultados obtenidos en este trabajo permitirán obtener microorganismos con la capacidad de producir sustancias bioactivas, las cuales podrían ser utilizadas para el control de las biopelículas microbianas formadas sobre sustratos sumergidos en ambientes acuáticos. Finalmente se espera lograr de la desalación de agua de mar, un proceso más eficiente, sustentable y que no genere ningún daño a los ecosistemas marinos.

JU156

Bactérias nitrificantes e a relação C/N durante processo sucessional na cama de sistema de criação de vacas tipo Compost Barn

Oliveira Mariana Batista¹, Jailton Carneiro Da Costa², Guimarães Alessandro De Sá², Alessandro Del’Duca³, Mendonça Letícia Caldas², Cesar Dionéia Evangelist¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, BR ⁽²⁾ Embrapa Gado de Leite - Pesquisa e Desenvolvimento, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Juiz de Fora, BR ⁽³⁾ Departamento de Educação e Ciências, Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, Juiz de Fora, BR

O Compost Barn é um sistema de criação de vacas leiteiras onde a cama é coberta com serragem, maravalha, ou outros resíduos de vegetais. A combinação entre esse revestimento, as fezes, e urina dos animais propicia um ambiente ideal para a compostagem. A eficiência da ciclagem de nutrientes está relacionada diretamente à estrutura da comunidade microbiana. O objetivo deste trabalho foi avaliar temporalmente a estrutura da comunidade de bactérias nitrificantes presente na cama e sua associação com a disponibilidade de nutrientes neste meio. Cinco coletas foram realizadas no período de um ano tendo início no 2º dia após a implantação do sistema, e repetidas após 1, 3, 6 e 12 meses, em uma fazenda no sul do estado de Minas Gerais – Brasil. A técnica de Hibridização *In Situ* Fluorescente (FISH) foi utilizada para a quantificação das bactérias utilizando sondas específicas para identificação de bactérias oxidantes de amônia (BOA) e bactérias oxidantes de nitrito (BON). O número total de procariontes (bactérias e arqueias) foi obtido pela coloração com DAPI, e as concentrações de C e N foram obtidas seguindo metodologias específicas. Para os grupos de nitrificantes avaliados, observou-se maior densidade média de bactérias aos 6 meses de funcionamento do sistema e a menor densidade foi encontrada com 12 meses. Ambos os grupos apresentaram a mesma tendência de crescimento ao longo do tempo. Para o número total de procariontes observamos densidade 20 vezes menor quando comparados os meses 6 e 12 (150 e 7.63x10⁸ céls/g, respectivamente). O maior valor de razão C/N foi encontrado na primeira coleta (44), e o menor valor aos 12 meses (5), com a diminuição da concentração de C ao longo do tempo. A análise temporal mostrou também que os procariontes apresentaram uma curva signóide, a concentração de carbono diminuiu (curva decrescente), e a concentração de nitrogênio aumentou (curva crescente). Sendo assim, é provável que não haja associação entre esses fatores. Futuros trabalhos deverão levar em consideração as formas de C e N encontrados no sistema.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Gado de Leite.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).



JU157

Microbiological aspects of *Enterococcus hirae* found in waters of Joana river located in Rio de Janeiro metropolitan area

Oliveira Valmir WA¹, Nogueira Bárbara A¹, Karan Bruna R¹, Olivella Juliana G¹, Fernandes Laís M¹, Vasconcelos Renata S¹, Oliveira, Dryelle R¹, Pereira Paula Marcele A¹, Silva Cecília M¹, Cassius Souza¹, Raphel Hirata Jr¹, Ana Luiza Mattos-Guaraldi¹. ⁽¹⁾Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR

Enterococcus hirae, a zoonotic pathogen, has been increasingly related to severe human infections, such as: bacteremia, endocarditis and urinary tract infections. *E. hirae* bacteremia was also associated with acute pancreatitis and septic shock and its geographical origin. Diversity of enterococcal species, including *E. hirae*, and characterization of high-level antimicrobial resistance has also been observed in wastewater and surface water in some countries. Surface waters quality has declined in developing countries due to rapid industrialization and population growth, including Brazil. The microbiological quality of life-sustaining surface water resource for large population of Rio de Janeiro metropolitan area, is also adversely affected by several point and non-point sources of pollution. In the present study, two *E. hirae* strains were recovered from water samples collected near a hospital unit Joana river located at Rio de Janeiro metropolitan area. MALDI-TOF MS was able to differentiate *E. hirae* among other species of the genus *Enterococcus* [$\log(\text{score}) > 2.0$]. The isolates were tested for their resistance to 10 antibiotics by disk diffusion method, based on CLSI and BRCAS guidelines. Both strains were vancomycin susceptible and tetracycline-resistant. One strain also showed resistance to imipenem, chloramphenicol, rifampin and linezolid and consequently identified as multidrug-resistant (MDR). The presence of *Enterococcus* sp. in water is a public health problem since it can spread virulent and antibiotic resistant bacteria to humans. In conclusion, data revealed water surfaces in Rio de Janeiro metropolitan area as hosts to *E. hirae* strains also harbouring resistance determinants that can be transferred to other organisms. Complete identification and routine speciation is essential to limit the emergence of *E. hirae* among MDR species related to nosocomial infections.

FAPERJ, CAPES, SR2-UERJ, CNPq, PRONEX, UFRJ

Simbiontes microbianos de esponjas antárticas pertenecientes a los tres dominios de la vida

Génesis Parada-Pozo¹, Nicole Trefault¹. ⁽¹⁾ Centro GEMA - Genómica Ecología y Medio Ambiente, Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, CL

Los simbiontes microbianos de esponjas marinas cumplen funciones esenciales tanto para la nutrición y defensa de la esponja como para la ecología del ambiente marino. En el bentos antártico, las esponjas pueden llegar a ocupar el 80% de la superficie, por lo que el ensamble esponja-microorganismos es fundamental para la mantención de este ecosistema. Las comunidades microbianas simbiontes de esponjas se pueden clasificar en base a la abundancia de las bacterias huésped en “High Microbial Abundance” (HMA) y “Low Microbial Abundance” (LMA). Esta clasificación se correlaciona con la composición bacteriana. Sin embargo, no hay una clasificación similar en base a los otros dos dominios de la vida (*Eukarya* y *Archaea*). Los objetivos de este trabajo fueron: i) analizar los patrones de diversidad y abundancia de las comunidades de microorganismos de los tres dominios de la vida asociadas a una amplia gama de especies de esponjas antárticas y ii) relacionar estos patrones con la dicotomía HMA-LMA. Para esto se tomaron muestras de esponjas y del agua circundante en Bahía Fildes, Isla Rey Jorge, Antártica. El análisis de las comunidades microbianas fue abordado a través de los tres dominios de la vida (*Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*) mediante amplificación y secuenciación masiva de los genes ribosomales 16S rRNA (*Bacteria* y *Archaea*) y 18S rRNA (*Eukarya*). Nuestros resultados muestran que en todas las especies de esponja analizadas predominó el filo *Proteobacteria* (clase *Gammaproteobacteria*), mientras que *Bacteroidetes* y *Verrucomicrobia* estuvieron dentro de los más abundantes, pero variando su proporción según la especie. En menor proporción se encontró el dominio *Archaea*, predominando el filo *Thaumarchaeota*. En el dominio *Eukarya* la abundancia de las comunidades varió aún más entre especies de esponjas. En conjunto, nuestros resultados indican que las esponjas estudiadas corresponderían a esponjas LMA y, desafortunadamente, no permiten concluir si la dicotomía HMA-LMA se observa en el caso de los otros dominios de la vida. Nuevos estudios, que abarquen un número aún mayor de especies de esponjas antárticas, y que asegure la inclusión de esponjas del tipo HMA, puede llegar a esclarecer si este patrón es común para todos los simbiontes microbianos de esponjas.

Proyecto Puente-Universidad Mayor “Linking Microbial Community Structure With Their Functional Traits In Antarctic Sponge Symbionts: Insights Into The Mechanisms Of Host-microbe Interactions”.

JU159

Getting to know the gut microbiota of Buenos Aires city inhabitants

Belforte Fiorella S¹, Rosso Ayelén D¹, Sofia Qesada¹, Fernandez Natalie², Francisco Tonín-Monzón³, **Alberto Penas-Steinhardt**⁴. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genómica Computacional - Dto. Cs. Básicas, Universidad Nacional de Luján, Luján, AR ⁽²⁾ Icahn School of Medicine, Mount Sinai, New York, US ⁽³⁾ Centro de Investigación, Docencia y Extensión en Tecnologías de la Información y las Comunicaciones (CIDETIC), Universidad Nacional de Luján, Luján, AR ⁽⁴⁾ Fundación Barceló - Instituto Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Luján, Laboratorio de Genómica Computacional - Dto. Cs. Básicas, Luján, AR

In recent years, the field of immunology has been revolutionized by the growing understanding of the fundamental role of microbiota in the immune system function. In return, the immune system has evolved to maintain a symbiotic relationship with these microbes. The aim of our study was to know in depth the uncharacterized metagenome of Buenos Aires (BA) city population and its metropolitan area, being the second most populated agglomeration in the southern hemisphere. For this purpose, we evaluated 30 individuals (age: 35.23±8,26 years and BMI: 23,91±3,4 kg/m²), from the general population of BA. DNA extraction was performed from 200mg of feces using QIAamp DNA Stool Mini Kit (QG) & Quick-DNA Soil - Zymo Research (ZR) kits. The hypervariable regions V3-V4 of the bacterial 16S gene was sequenced by Macrogen (South Korea) using MiSeq-Illumina system, obtaining 47526±4718 sequences/sample. Comparing the principal phyla detected using both DNA extraction Kits, we found that the choice of DNA extraction method has an impact on the observed community structure. Using the QG kit, the dominant phyla were Bacteroidetes (47.7±8.9%), Firmicutes (37.2±8.45%), Proteobacteria (8.5±6.7%), Verrucomicrobia (2.5±2.8%) and Actinobacteria (1.3±2.2%), while the principal phyla found using ZR kit were Firmicutes (45.5±8.8%) and Bacteroidetes (40.0±7.8%), followed by Proteobacteria (6.1±5.4%), Verrucomicrobia (2.5±3.0%) and Actinobacteria (3.1±2.2%). The QG protocol, without the bead-beating step, resulted in a significantly low abundance in Gram-positive and overestimated Bacteroidetes phyla. We also compared the microbiota of BA with other westernized populations (Santiago de Chile, Rosario-Argentina, U.S.-Human-microbiome-project, Bologna-Italy) and the Hadza population of hunter-gatherer habitats. The microbiota of the BA subjects significantly differed from that of Hadza and did not differ from the subjects of the other westernized countries, being closer to the populations of Santiago de Chile. These findings contribute to promote research and comparison of the microbiome in different human populations, in order to develop more efficient therapeutic strategies for the restoration of a healthy dialogue between host and environment.

Identificação dos micro-organismos presentes nas lagartas *Spodoptera frugiperda* utilizadas na produção do *Baculovirus*

Pereira Sarah Pantaleão¹, Okura Mônica Hitomi¹. ⁽¹⁾ Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, BR

Introdução: A lagarta *Spodoptera frugiperda*, conhecida como Lagarta do Cartucho é a grande vilã das lavouras de milho e soja. Os *Baculovirus* são vírus que causam infecção letal para a referida lagarta. A utilização do *Baculovirus* como controle biológico vem sendo estudada, pois possibilita a letalidade de insetos sem prejudicar outros seres vivos e o meio ambiente. Para a produção laboratorial do *Baculovirus*, as lagartas saudáveis são alimentadas por folhas contaminadas com os vírus. Posteriormente as mesmas se rompem, liberando grande quantidade de vírus, os quais devem ser purificados para garantir a sua eficiência. Muitas vezes, durante o processo de produção do *Baculovirus*, percebe-se que a lagarta está infectada por outros micro-organismos como bactérias e fungos, o que não permite a produção de um inóculo viral puro e eficiente conforme desejado. **Objetivo:** Identificar os micro-organismos presentes nas lagartas *S.frugiperda* utilizadas para a produção do *Baculovirus*. **Metodologia:** Foram avaliadas 40 amostras de *S.frugiperda*. As mesmas foram pesadas, maceradas e diluídas nas proporções 10-1, 10-2 e 10-3. Para cada diluição cultivou-se fungos e bactérias. Para os fungos filamentosos crescidos, foram realizadas as técnicas de micro e macro cultivo. As leveduras foram congeladas para posterior análise. Para as bactérias foram feitos testes de Gram, e posteriormente seguiu-se para série biológica realizando-se testes de Catalase e Coagulase para bactérias cocos Gram positivos e de Citrato, Uréia, SIM, TSI e Indol para bacilos Gram negativos. **Resultados e discussão:** Em 2% das lagartas não houve crescimento de micro-organismos. Em 68% das lagartas cresceram fungos filamentosos, tendo sido identificados *Penicillium* e *Aspergillus flavus*. Houve crescimento de leveduras em 77,5%. Entre as bactérias, 22,5% foram identificadas como *Staphylococcus aureus*, 42,5% *Staphylococcus sp* e 2,5% como *Klebsiella oxytoca*. **Conclusão:** O *Penicillium* e o *Aspergillus* são fungos ambientais comumente encontrados em ambientes úmidos e as bactérias *Staphylococcus* são contaminantes humanos. Portanto, nenhum deles é responsável pela morte das lagartas em estudo. A bactéria *K. oxytoca* está amplamente distribuída na natureza podendo ser encontrada no trato gastrointestinal de animais. Identificando-se os micro-organismos responsáveis pela morte das lagartas será possível prever métodos para sua eliminação e consequente melhoria na produção do *Baculovirus*.

JU161

Genome-resolved metagenomics analysis reveals insights of ecological role of Thaumarchaeota in Amazon river and plume

Pinto Otávio Henrique¹, Da Silva Thais Freitas¹, Vizzotto Carla Simone¹, Santana Renata Henrique¹, Lopes Fabyano Cardoso¹, Thompson Fabiano Lopes², Kruger Ricardo Henrique¹. ⁽¹⁾ Cell Biology, Biological Sciences, University of Brasilia, Brasília, BR ⁽²⁾ Institute of Biology, Laboratory of Microbiology, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR

Thaumarchaeota is one of the most abundant archaea on Earth. Previously studies have shown that these archaea are also abundant in Amazon River. They are known as the only ammonia-oxidising archaea (AOA). Recent studies have shown that they participate on other fundamental processes in several ecosystems (e.g wastewater, freshwater, marina, soil) and much more needs to be investigated. Despite its importance, little is known about its physiology, mainly because of the low number of isolates, thus most of *Thaumarchaeota* information is from a few genomic studies. The aim of this study was to investigate the ecological roles of *Thaumarchaeota* in Amazon River and Amazon River plume. For that, metagenomics sequences from Amazon River and plume were obtained using Illumina HiSeq platform. These sequences were binned based on GC content, coverage, taxonomy and was used single copy genes to evaluate genome completeness on the pipeline ggKbase. Posteriorly, those genomes were annotated and analyzed using Integrated Microbial Genomes system (IMG). Two genomes were recovered from metagenomic data of Amazon River (ThauR31 and ThauR71) and two from Amazon River plume (ThauP25 and ThauP41), consists of 2.13, 1.04, 0.94 and 1.26 Mpb, respectively. Phylogenetic analysis placed all Amazon genome bins in the *Thaumarchaeota* group 1.1a. Ecologically, ThauP41 and ThauR71 present ammonia-monooxygenase genes while, ThauP25 and ThauR31 do not present those genes, suggesting that not all lineages of *Thaumarchaeota* group 1.1a have ability to nitrification. All genomes present genes for glycolysis, TCA cycle and oxidative phosphorylation. Moreover, they have genes for carbon fixation, HP/HB, reductive TCA cycle and Calvin cycle, suggesting that these archaea have chemoautotroph and heterotroph metabolism. Furthermore, they presented specific genes for anaerobic synthesis of cobalamin (Gbx, CbiG and CbiD). In genomic analysis, those genomes are potential auxotrophic for several molecules (e.g. amino acids) and would require addiction of specific molecules for their growth *in vitro*, what might justify the low number cultured isolates. Our data suggests that Amazon River is one of the main sources of *Thaurmarchaeota* on open ocean and where these organisms should be extremely important for the primary production, production of cobalamin, and nitrification process.

Bacterial community dynamics in cryoconite holes on Alpine mountain glaciers

Francesca Pittino¹, Roberto Ambrosini², Azzoni Roberto S², Guglielmina Diolaiuti², Andrea Franzetti¹. ⁽¹⁾ Department of Earth and Environmental Sciences, Earth and Environmental Sciences, Università degli Studi di Milano-Bicocca ⁽²⁾ Department of Environmental Science and Policy, Università degli Studi di Milano, Milan, IT

Cryoconite holes are small depressions of glaciers surface full of melting water and a sediment on the bottom. They have been found all over the world, and so far our studies focus on cryoconite holes glaciers of the Ortles-Cevedale group (Italian Alps). These structures host a metabolically active bacterial community while in Arctic environments these structures are quite stable, on mountain glaciers cryoconite holes are ephemeral structures that can be destroyed and form again during the same ablation season, usually they do not survive for more than one year. Cryoconite reduce the albedo of the glacier, but its contribute on the energy balance of the glacier system is still unknown. There are only few information about the ecological role of bacterial communities in cryoconite holes and their response to many factors (e. g. light, temperature, lithology of the surrounding environment). In a global warming scenario it is also important to understand the dynamics involving glacier ecosystems as melting water input is going to increase, and so the effect on the downvalley ecosystems could change. Our aim is to investigate the dynamics involving bacterial communities of cryoconite holes. We collected samples more times during the same ablation season on Forni glacier to investigate their temporal variability, and on different glaciers of Stelvio National Park we collected both cryoconite and supraglacial sediment samples during the same period to investigate the differences between different glaciers. The bacterial community was characterized with MiSeq Illumina platform sequencing of the V5-V6 hypervariable region of the 16S rRNA gene. The most abundant order found in these microhabitat were Sphingobacteriales, Burkholderiales, Pseudomonadales, Rhodospirillales, Cytophagales, Actinomycetales, Clostridiales. Cyanobacteria were also found in high percentage, but they seem to be more abundant only in the first part of the ablation season. Results showed that communities change along the ablation season, among different years and according to temperature. Analyses of cryoconite from different glaciers reveal that the community structure change from one glacier to another suggesting that lithology, the solar exposition and other glacier specific factors could play an important role in shaping the microbial communities.

JU163

Comunidades microbianas en suelo antártico y su rol en la emisión de óxido nitroso

Lia Ramirez¹, Luis Orellana ², Laura Farias³, Konstantinidis Kostas², Julieta Orlando⁴. ⁽¹⁾ Santiago SAN, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ School of Civil & Environmental Engineering, Georgia Institute of Technology, Atlanta, US ⁽³⁾ Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, CL ⁽⁴⁾ Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL

Estudios recientes muestran que los suelos antárticos impactados por animales marinos son una importante fuente de emisión de óxido nitroso, sin embargo, el rol de la comunidad microbiana en este proceso aún no se conoce en detalle. En este trabajo se evaluó la emisión de óxido nitroso en experimentos de microcosmos y se caracterizó a las comunidades microbianas involucradas en el reciclaje de nitrógeno mediante metagenómica de *shotgun*. Se determinó que las emisiones de óxido nitroso medidas en ambiente anaeróbico presentan mayor emisión que las emisiones en ambiente aeróbico. Además, se encontró que suelos con mayores emisiones de óxido nitroso presentan diferencias en las comunidades microbianas al compararlo con suelos con bajas emisiones de este gas, tanto a nivel taxonómico como funcional. Las muestras con altas emisiones presentan comunidades microbianas enriquecidas en filo como Bacteroidetes y Firmicutes, y en la clase Gammaproteobacteria, mientras que los suelos controles presentan una comunidad más diversa con mayor proporción de Actinobacteria, Acidobacteria, Gemmatimonadetes, entre otros. Con respecto a la diversidad funcional los suelos con mayores emisiones presentan mayor abundancia en genes de desnitrificación y la asimilación de amonio. También se determinó que la materia orgánica y el contenido de fósforo eran los mejores predictores de la emisión de N₂O. Este resultado sugiere que las deposiciones animales impactan en la comunidad microbiana del suelo y aumentan las emisiones de óxido nitroso en suelos probablemente mediante procesos anaeróbicos como la desnitrificación.

INACH_DT_10_15

Beca Conicyt Doctorados Nacionales (21140997).

JU164

Composición del microbioma del tracto respiratorio superior de niños asmáticos en una población de Santiago de Chile y comparación con otra en los Estados Unidos

Ignacio Antonio Ramos Tapia¹, Katuska Reynaldos-Grandón², Felipe Gutierrez Cerda³, David Vargas Herwitte³, Marcos Pérez-Losada⁴, Eduardo Castro-Nallar¹. ⁽¹⁾ Centro de Bioinformática y Biología Integrativa, Facultad de Ciencias la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL ⁽²⁾ Facultad de Enfermería, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL ⁽³⁾ Sala IRA, CESFAM Dr. Amador Neghme, Santiago, CL ⁽⁴⁾ Milken Institute School of Public Health, Computational Biology Institute, George Washington University, Ashburn, VA, US

El asma es una enfermedad respiratoria cuya característica principal es la inflamación reversible de las vías respiratorias. Se estima que existen cerca de 155 millones de personas con asma en el mundo, provocando 480.000 muertes anuales. Estudios relacionados al conjunto de microorganismos o microbiota, han determinado que cambios en la composición de esta están relacionados con la aparición y desarrollo de enfermedades, incluyendo el asma. Este estudio tiene como objetivo caracterizar la microbiota de niños asmáticos chilenos y establecer similitudes y/o diferencias con otra población asmática. Hemos recolectado un total de 98 muestras (nasales y orales) correspondientes a 29 niños asmáticos y 20 niños sanos de Chile, además de incluir 120 muestras (nasofaríngeas) de pacientes asmáticos de EEUU. Mediante secuenciación Illumina MiSeq del *amplicon*16S rRNA V4, un total de 7.571.190 secuencias han sido obtenidas (promedio 29.734, mediana 25.671), posterior al análisis de calidad y asignación de taxonomías hemos obtenido 6.660.635 secuencias para el análisis. Un total de 1.471 taxa fueron asignados de los cuales un grupo de ellos (10 taxa) han sido las más abundantes en las muestras desde pacientes asmáticos chilenos destacando en las muestras nasales el género *Moraxella* y en muestras orales destacan *Moraxella*, *Haemophilus* y *Streptobacillus*. En las muestras estadounidenses destacan los géneros *Moraxella*, *Staphylococcus* y *Corynebacterium*. Hemos detectado diferencias significativas en la diversidad entre muestras chilenas y estadounidenses, lo cual indica una mayor riqueza de taxa en la población estadounidense. En las muestras se observa una estructura según el tipo de muestra (nasofaríngeo y nasal) y condición de salud (asmáticos y sano), excluyendo una estructura por país de origen lo que sugiere una relación directa entre la composición de la microbiota con el asma y no con la procedencia de la muestra. Por último, hemos detectado diferencias entre las poblaciones relacionadas al núcleo del microbioma, en EEUU domina el género *Staphylococcus*, por el contrario, en Chile domina *Moraxella*, ambos grupos en el núcleo del microbioma convergen en los géneros *Dolosigranulum* y *Corynebacterium*. Estos avances en el estudio de la población chilena son de vital importancia para estudios epidemiológicos y una mayor comprensión de las comunidades microbianas locales y contribuirán a la caracterización de la microbiota del tracto respiratorio superior en el hemisferio sur.

Ignacio Ramos (Proyecto Iniciación a la Investigación 2018, Dirección Académica de Doctorados, Universidad Andres Bello) / Eduardo Castro-Nallar (PAI 82140008 - CONICYT)

JU165

Metagenomic analysis of the bacterial community of the rhizosphere of maize genotypes inoculated with *Azospirillum brasilense* in Brazilian cerrado soil

Reis Denise Pacheco¹, Fiagá Dany Alberto Mesa³, Eduardo Balsanelli², Souza Emanuel Maltempi², Pedrosa Fabio Oliveira³, Cruz Leonardo Magalhães³, Guimarães Lauro José Moreira⁴, Oliveira Christiane Abreu⁵, Marriel Ivanildo Evódio⁵. ⁽¹⁾ Laboratory Of Microbiology And Soil Biochemistry-EMBRAPA, Federal University of São João Del Rei, Sete Lagoas, BR ⁽²⁾ Biochemistry and Molecular Biology, Federal Universtiy of Paraná, Curitiba, BR ⁽³⁾ Biochemistry and Molecular Biology, Federal University of Paraná, Curitiba, BR ⁽⁴⁾ Nucleus of Genetic Resources and Cultivar Development, EMBRAPA Maize & Sorghum, Sete Lagoas, BR ⁽⁵⁾ Nucleus of Water, Soil and Environmental Sustainability, EMBRAPA Maize & Sorghum, Sete Lagoas, BR

Background: Agricultural intensification to improve crop yield has increased the demand for nitrogen fertilizers. Currently, in Brazil, the use of inoculation technology with nitrogen fixing bacteria can reduce agricultural production costs and mitigate negative impacts of chemical fertilizers on agroecosystems. In this context, the objective was to evaluate bacterial community structure of the rhizosphere soil of maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense* through metagenomic analysis. **Methods:** At planting, the fertilization were based on 300kg ha⁻¹ of the formulation 8-28-16 and without nitrogen fertilization in top dressing. Samples of four hybrids maize (HB1, HB2, HB3, and HB4) were evaluated in presence and absence of inoculant composed of three different strains of *Azospirillum brasilense*, in a randomized complete block design with four replicates. Total DNA from samples was extracted and the V4 region of ribosomal 16S rRNA gene was amplified with the universal primers 515F and 806R. Amplicons were then sequenced on an Illumina “MiSeq” sequencer and the readings were analyzed with QIIME program (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) for taxonomy construction. Subsequently, analysis of variance was made of relative abundance of the phylum (greater than or equal to 3%) followed by Scott Knott test ($p < 0.05$). **Results:** It was observed through the operational taxonomic units (OTUs) that eight phyla has abundance greater than 3%, being Proteobacteria (32.5%) and Actinobacteria (22.5%) the most representative phylum, besides Acidobacteria (9.6%), Bacteroidetes (7.9%), Gemmatimonadetes (7.2%), Chloroflexi (5.3%), Verrucomicrobia (5.2%) and Planctomycetes (3.4%). Significant differences between treatments were observed only for phylum Actinobacteria, with abundance between 18 and 27%, highest values were found in presence of inoculant in hybrids HB1, HB3 and HB4 with 24, 27, 6 and 23% respectively. **Conclusion:** The results suggest that *Azospirillum brasilense* produces specific changes in rhizospheric bacterial community of inoculated maize plants in cerrado.

CAPES, CNPq, FAMPENIG, EMBRAPA MAIZE & SORGHUM AND NITROGEN FIXATION NUCLEUS-UFPR

JU166

Assessing changes in microbial communities at a compositional and functional level: effects of hydrocarbon pollution and tides in Antarctic coastal soils

Octavio Reyes-Matte¹, Sebastián Fuentes¹, Beatriz Díez^{1,2}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Ecología Microbiana de ambientes extremos, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ (CR)2, Center for Climate and Resilience Research

Hydrocarbon pollution is a global-scale issue. In Antarctica, hydrocarbons are present in soil and seawater mainly due to fossil fuels used in human settlements, where the environmental conditions such as low temperature help the pollution persistence. The objective of this work was to analyze the effect of both hydrocarbon pollution and seawater over the diversity and functions of microbial communities in Antarctic coastal soils. Two polluted and two non-polluted soil sites in an intertidal zone – one of each flooded by seawater during the high tide – were sampled in Chile Bay, Greenwich Island (South Shetlands). Communities' diversity and composition were analyzed by 16S (Bacteria/Archaea) and 18S (Eukarya) rRNA gene sequencing. We used a General Linear Model (GLM) approach to analyze how the diversity of different phyla would change when considering pollution and sea-influence as sources of variance, using Shannon's diversity index. Results suggest that most phyla are less diverse in the polluted sites, whereas the seawater's effect on diversity could be higher in non-polluted sites. Similarly, the negative effect of pollution on eukaryotic diversity is higher in the supralittoral zone, the effect of each factor depending on the other. Some bacterial functions associated to biogeochemical cycles (e.g. carbon, nitrogen, sulfur) were inferred from 16S rRNA gene datasets using FAPROTAX. The relative abundance of most carbon-related functions (eg: hydrocarbon degradation, fermentation, ureolysis and chemoheterotrophy) increased in the polluted sites, with seawater having no effect whatsoever. Conversely, relative abundance of nitrogen-related functions was negatively affected by both pollution and seawater. Finally, sulfur-related functions were more represented in samples from the intertidal zone. This gives us insight on not only how these disturbances affect microbial community diversity, but also how they can affect biogeochemical processes, as the rising sea levels will increase the number of anoxic zones and favor microorganisms with sulfur-based metabolism, while being detrimental for the ones that use nitrogen as part of their metabolism. Similarly, the increase in anthropogenic activity and pollution in this regions will make microbial communities enriched in hydrocarbon degrading organisms, favoring related functions, reshaping the community not only at the compositional but also at the functional scale.

FONDECYT Postdoctorado 3160424, CONICYT

Proyecto DPI20140044, CONICYT

Proyecto FONDAP-CR2 15110009, CONICYT

Resistência da levedura *Yarrowia lipolytica* a contaminantes orgânicos e inorgânicos

Gomes Philippe Ribeiro¹, Barcellos Polyana Soares², Da Silva Glaziele Campbell³, Maura Da Cunha³, Canela Maria Cristina², Intorne Aline Chaves⁴. ⁽¹⁾ LFBM, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, BR ⁽²⁾ LCQUI, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, BR ⁽³⁾ LBCT, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, BR ⁽⁴⁾ Direção de Ensino, Instituto Federal do Rio de Janeiro, Niterói, BR

No contexto da contaminação do meio aquático pelo descarte inadequado de efluentes industriais, domésticos e agropecuários, a biorremediação é uma alternativa de baixo custo para o tratamento desses ambientes, sendo necessária *a priori* a identificação de organismos resistentes aos contaminantes. A *Yarrowia lipolytica* é uma levedura dimórfica e não patogênica que tem sido utilizada na remediação de diversas substâncias, sendo o objetivo deste trabalho avaliar a cepa UENF-4.2.5.0.X.F, isolada da planta aquática *Typha domingensis*, quanto a resistência a agrotóxicos triazínicos e organofosforados e a metais. Assim, foi realizado o ensaio de concentração inibitória mínima (CIM), testando a resposta da levedura em meio líquido DYGS frente às concentrações dos contaminantes orgânicos: 2-1000 µg.L⁻¹ para atrazina (ATZ), desetilatraxina (DEA) e desisopropilatraxina (DIA); 2-200 µg.L⁻¹ para ametrina (AMT); 0,5-50 µg.L⁻¹ para malation (MLT) e clorpirifós (CLO), avaliando-se o crescimento por turbidimetria após 12h de incubação a 30 °C. Os metais foram avaliados em placa de Petri após 5 dias de cultivo. Foi testado: 10-80 mg.L⁻¹ de CdCl₂; 140-6.800 mg.L⁻¹ de ZnCl₂; e 240-5.500 mg.L⁻¹ de CoCl₂ avaliando-se o crescimento das colônias. Os ensaios foram acompanhados de microscopia ótica. Com relação aos agrotóxicos, não foi possível encontrar a CIM, pois a levedura não teve o crescimento prejudicado mesmo nas maiores concentrações testadas, que já estão bem acima dos limites estabelecidos. Com relação aos metais, foram encontrados a CIM no valor de 80 mg.L⁻¹ para CdCl₂ e 5.500 mg.L⁻¹ para CoCl₂. Ainda não foi encontrado a CIM para o ZnCl₂, porque a levedura cresceu na maior concentração testada. Conforme a resolução CONAMA 357/05, os valores de metal testados também encontram-se superiores ao permitido, o que demonstra a alta resistência da cepa aos metais testados. Na microscopia, em geral, foi possível verificar mudanças morfológicas com aumento das células e em concentrações mais elevadas, a formação de hifas. Sendo assim, pode-se concluir que a levedura *Y. lipolytica* UENF-4.2.5.0.X.F apresenta resistência tanto aos íons metálicos quanto aos agrotóxicos avaliados, representando grande potencial para estudos de biorremediação.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

JU168

Bacterias fijadoras de nitrógeno asociadas con la rizósfera y endorriza de plantas de trigo crecidas en un Andisol del sur de Chile

Joaquín Ignacio Rilling¹, Jacqueline Acuna², Milko Jorquera². ⁽¹⁾ Programa de Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, CL ⁽²⁾ Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, CL

Bacterias fijadoras de nitrógeno (N) son importantes para la nutrición de plantas y fertilidad de los suelos agrícolas. Este grupo de bacterias ha sido comúnmente reportado en suelos rizosféricos de diversas especies vegetales, así como compartimientos de plantas, tales como endosfera de raíces (endorriza) y superficies de las hojas (filósfera). La producción de cereales (trigo, avena y cebada) del sur de Chile se ha establecido en suelos Andisoles, los cuales reciben constantemente fertilización N (urea) para mantener sus producciones. Esta práctica de fertilización se ha caracterizado por su baja eficiencia por pérdidas por lixiviación, emisión de gases invernaderos y la contaminación de cuerpos de agua. Por lo cual, nuestro conocimiento sobre la abundancia, diversidad y ecología de bacterias fijadoras de N es crucial para el desarrollo sustentable de la agricultura del sur de Chile. En el presente estudio, técnicas dependientes- e independientes de cultivo fueron aplicadas para caracterizar las poblaciones de bacterias fijadoras de N en la rizósfera y endorriza de plantas de trigo crecidas en un Andisol del sur de Chile. Los resultados de PCR cuantitativo (qPCR) mostraron una significativa ($P \leq 0.05$) mayor abundancia de copias de genes 16S ARNr por g de muestra en rizósfera ($10^{12} \sim 10^{13}$) comparado a endorriza ($10^7 \sim 10^8$). Coincidentemente, una mayor abundancia ($P \leq 0.05$) de copias de genes *nifH* por g de muestra fue observada en rizósfera ($\sim 10^7$) comparado a endorriza ($\sim 10^6$). 38 aislados obtenidos en medio Rojo Congo y genotípicamente diferentes, determinado por ERIC-PCR seguido de secuenciación del gen 16S ARNr, reveló la presencia de *Bacillus*, *Georgenia*, *Mycobacterium*, *Bosea*, *Microbacterium*, *Psychrobacillus*, *Roseomonas*, *Chitinophaga*, *Leifsonia*, *Microbacterium*, *Chitinophaga* y *Arthrobacter*. La presencia del gen *nifH* fue confirmada por PCR y secuenciación en 2 aislados de rizósfera y 8 aislados de endorriza. Finalmente, electroforesis en geles con gradiente denaturantes (PCR-DGGE), usando los genes 16S ARNr y *nifH* como objetivos, reveló comunidades bacterianas y fijadoras de N específicas para cada tipo de compartimiento de las plantas estudiado.

Agradecimientos: FONDECYT Regular 1160302 y Beca Doctorado Nacional CONICYT 21160935.

JU169

Heterotrophic flagellates single cell genome sequencing from environmental samples in marine and high altitude aquatic systems

Raquel Rodríguez-Martínez^{1,2}, Wideman Jeremy G², Adam Monier², Guy Leonard², Emily Cook², Camille Poirier³, Worden Alexandra Z³, Richards Thomas A². ⁽¹⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta de Recursos Renovables, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL ⁽²⁾ Biosciences, University of Exeter, Exeter, GB ⁽³⁾ (MBARI), Monterey Bay Aquarium Research Institute, Moss Landing, US

The heterotrophic flagellates are an extremely heterogeneous group that includes evolutionarily diverse organisms with considerable ecological relevance, presenting key roles as bacterial grazers and nutrient remineralizers in aquatic ecosystems. Investigation of eukaryotic marine microbes has largely focused on photosynthetic lineages leaving heterotrophic lineages under-sampled. In consequence the majority of this heterotrophic microbial diversity is uncultivated, unstudied, and lacks a reference genome sequence. Recent studies have tried to fill this gap by using single-cell genomics, relying largely on chance encounters with groups of interest. Moreover, a lack of data from the South Pacific Ocean is apparent and only few studies have analysed these microbes in hypersaline water bodies. We have developed a technique for targeting marine heterotrophic flagellates for single cell genome sequencing. Using photo-pigment exclusion and tubulin-specific fluorescence staining, we enriched for heterotrophic flagellates, isolating eukaryotic cells of 0.8-30 μm from marine waters. These cells were subjected to single-cell sorting followed by whole genome amplification by multiple displacement amplification (MDA). Single-cell MDA products were screened using Sanger sequencing of the V9 region of the 18S rRNA gene amplicons. From seven 96-well plates we recovered 206 single amplified genomes, 191 of which were putatively heterotrophic flagellates. We sequenced 99 cells from a wide range of heterotrophic protists including putative telonemids, katablepharids, cercozoans, MARine STRamenopiles (MASTs), haptophytes, a centrohelid, a putative picozoan, and choanoflagellates. Our sequencing depth was usually <1.5 Gbps per SAG sample with a recovery of 0.81-47.6% of Core Eukaryotic Genes Mapping Approach (CEGMA) genes (mean/median 11.4%/6.5%), a similar range as previously reported single cell genomic studies. This novel technique represents a good method for sequencing uncultured heterotrophic flagellate single cells from environmental samples. The original samples were from the North Pacific Ocean, leaving other environments unstudied. We will exploit our newly developed technique in the South Pacific Ocean (coast of Chile) and high altitude saline wetlands, two aquatic systems with different origins but a common factor of NaCl dominance. We will use these genomes to search for signatures of ecological adaptations in heterotrophic flagellates found in different environmental conditions, such as locations with different temperatures, UV radiation and salinities.

FONDECYT 11170748 (CONICYT)

Diversidade genética e fisiológica de *Burkholderia* spp. isoladas de diferentes hospedeiros

RK Gutierrez¹, AJ Ferreira¹, LM Garrido¹, S Tsui¹, WL Araújo¹. ⁽¹⁾ São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, BR

Estudos dependentes de cultivo têm demonstrando que o gênero *Burkholderia* é capaz de colonizar nichos como solo, água ou em associação com plantas e animais, podendo em alguns casos causar doenças em plantas e em pacientes imunocomprometidos. No entanto, isolados pertencentes a este gênero podem apresentar potencial aplicação biotecnológica no controle biológico de doenças vegetais, promoção de crescimento vegetal, biorremediação e produtores de importantes moléculas de interesse médico, agricultura e indústria. No presente estudo, foram avaliados vinte isolados de *Burkholderia* spp. obtidos de diferentes ambientes. A diversidade genética foi avaliada por meio da técnica Multilocus Sequence Analysis, utilizando a sequência dos genes 16S rRNA, subunidade beta da ATP sintase, Glutamato sintase de cadeia curta, e DNA girase, subunidade B. Esta análise demonstrou que 16 isolados pertencem às espécies *B. stabilis*, *B. seminalis*, *B. lata*, *B. contaminans*, *B. gladioli*, e *B. thailandensis* (clado *Burkholderia sensu stricto*), e 4 isolados pertencem às espécies *B. denitrificans* e *B. sacchari* (clado *Paraburkholderia*). A diversidade fisiológica foi avaliada por testes de antagonismo contra fungos e bactérias patogênicos de plantas e humanos. Foi observado que 100% dos isolados foram capazes de inibir o fungo *Ceratocystis fimbriata*, 70% inibiu *C. paradoxa*, *Fusarium verticillioides* e *Aspergillus fumigatus*, enquanto 80% inibiu *Colletotrichum* sp. Na atividade antibacteriana, foi observado que 55, 70, 95 e 5% dos isolados de *Burkholderia* spp. inibiram *Escherichia coli*, *Bacillus* sp., *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente. Também foi observada uma relação entre a virulência de *Burkholderia* spp. e larvas de *Galleria mellonella* e a inibição de fungos e bactérias patogênicas. As linhagens agrupadas no clado *Burkholderia sensu stricto*, foram mais virulentas a *G. mellonella* e produziram mais compostos antimicrobianos que as linhagens agrupadas no clado *Paraburkholderia*. Adicionalmente na avaliação da suscetibilidade dos isolados a diferentes antibióticos, foi observado que mais do 50% das linhagens é sensível aos 15 antibióticos avaliados. Os resultados sugerem que esses isolados produzem diversos compostos antimicrobianos, que poderiam ser uma fonte de novas moléculas utilizadas no controle de patógenos em condições de campo, além da possível ausência de mecanismos de resistência dos isolados frente a antibióticos usados no tratamento de processo infecciosos.

Fundação CAPES, Universidade de São Paulo (USP), Instituto de Ciência Biomédicas (ICB)



JU171

Análise fenotípica de mutantes de *Trichoderma harzianum* TR 274 na busca por genes com papel em seu crescimento e micoparasitismo

Gabrielle Rosa¹, Ferreira Eliane Noronha¹. ⁽¹⁾ Biologia Celular, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Brasília, BR

O micoparasita *Trichoderma* spp. pode ser encontrado na rizosfera, possui a capacidade de estabelecer relações de antagonismo com fungos causadores de doenças em plantas, são usados como agentes de controle biológico contra patógenos de plantas. Uma das enzimas envolvidas no processo de micoparasitismo secretada por *Trichoderma* spp. como a β -1,3-Glucanase, que é importante para clivagem de parede celular de outros fungos e na interação com plantas. A relação planta-fungo é um dos cruciais para o estudo do *Trichoderma* spp., onde o mesmo induz sistemas de resistência da planta em feijoeiro, tomate e reduzindo as infecções por fitopatógenos, bactérias e vírus, aumentando a concentrações de metabólitos e enzimas secretadas pelo *Trichoderma* spp. contra esses microrganismos. O fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, também conhecido como mofo branco, um dos fitopatógeno de mais virulentos, podendo afetar mais de 400 espécies de plantas. Possui a capacidade de arruinar plantações em diversos lugares do globo, como as plantações de feijão, soja, girassol, trazendo estragos na área econômica. Durante a infecção, o fungo secreta uma fitotoxina chamada ácido oxálico, que auxilia nas fases iniciais da infecção. O objetivo deste trabalho foi localizar a inserção aleatória do T-DNA no genoma do *Trichoderma harzianum* TR 274 através da TAIL-PCR, fazer uma triagem da biblioteca gerada, verificar perda de fenótipos, analisar a taxa de crescimento, taxa de antagonismo com o fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum*. Abordagem de validação funcional de genes é denominada genética reversa. Como resultados, obtivemos que os fungos selecionados (T25, T26 e T40) tiveram a taxa de crescimento diminuída em relação ao selvagem (66%). Na relação de antagonismo, como o crescimento do fungo foi alterado, na interação houve a diminuição da taxa antagônica, onde não houve um sobre a sobreposição do micélio no patógeno (50%), como observado pelo fungo selvagem (100%). Com a taxa de crescimento diminuída, infere-se que este pode ser um fator para a capacidade de micoparasita. já que os mutantes não apresentaram o comportamento de crescer sobre o fito patógeno. Novas metodologias estão sendo estudadas para que se possa concluir os objetivos de forma coerente este trabalho.

Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF).



JU172

Biogeography of CRISPR-associated protein 1 (cas1) in thermal environments

Oscar Salgado¹, Tomeu Viver², Beatriz Díez¹. ⁽¹⁾ Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Department of Ecology and Marine Resources, Mediterranean Institute for Advanced Studies (IMEDEA, CSIC-UIB), Esporles, ES

CRISPR-Cas systems (clustered regularly interspaced short palindromic repeats and CRISPR-associated proteins) comprise different types of molecular mechanisms in prokaryotes that confer them adaptive immunity against foreign genetic material, such as viral infections. These systems have been studied with biotechnological interest due to their wide use in gene editing. Comparatively, there are few studies on its evolution and ecological importance in natural environments, and to date, there is no biogeographical analysis. The selection pressure exerted by viruses and by horizontal transfer events on natural systems has determined a great diversity of Cas proteins. This, in turn, has made its phylogenetic analysis difficult, limiting itself to the use of a single marker considered monophyletic: cas1. On the other hand, in thermal environments, it is believed that most thermophilic microorganisms have CRISPR-Cas systems. It is thought that the microorganisms of thermal environments respond better to a smaller diversity of viral sequences that invade the cell, becoming a good model for the study of Cas proteins. In this work, a phylogenetic comparison of cas1 proteins from 30 metagenomes of globally distributed thermal systems was performed. Our results demonstrate that thermal systems have a large number of different cas1 proteins, although a global trend of grouping according to their geographical origin was not observed. However, a tendency was found to form clusters from thermal systems within the same geographic region, such as those belonging to Chile. An evident separation of cas1 proteins was observed according to their domain of life origin; distinguishing those belonging to Archaea and Bacteria. Finally, a grouping was observed at the level of taxon rather than geographical origin in relation to some specific bacterial groups, such as Cyanobacteria and Chloroflexi. Our results corroborate the relevance of CRISPR-Cas systems in the host-pathogen relationship in thermal systems. However, phylogeny shows that thermal systems are not an insurmountable dispersion barrier. It is observed that there is a greater restriction of genetic exchange between domains before biogeography despite certain local groupings. Cohabiting members of both domains have different cas1 proteins, suggesting that the viral community specific to Archaea or Bacteria domains is a critical evolutionary driver.

Proyecto FONDECYT 1150171, Beca de Doctorado Nacional CONICYT 21172022

JU173

Changes in soil bacterial community structure associated with an invasive alien grass *Melinis minutiflora* in the Brazilian Cerrado

Maria Regina Sartori¹, Miranda Viviane Teixeira¹, Kruger Ricardo Henrique², Bustamante Mercedes Maria Cunha¹.
(¹) Ecology, Biological Sciences, University of Brasília, Brasília, BR (²) Cellular Biology, Biological Sciences, University of Brasília, Brasília, BR

Changes in ecosystems through land conversion for cultivation or because of global environmental changes facilitate the entry of invasive plant species. The establishment, naturalization and spread of invasive species are responsible for major changes in species composition, community structure and major functions of natural ecosystems. Invasive species would lead to changes in soil bacterial communities that could then be used as an indicator of changes in soil functioning. In Brazilian Cerrado, the African grass *Melinis minutiflora* became a major problem in conservation units. The *Melinis minutiflora* grass produces higher biomass than native grasses, commonly forms monodominant stands and probably displace native species. The aim of this work was to characterize the diversity of microorganisms in the rhizosphere of *Echinolaena inflexa* (C3 native grass from Cerrado) and *Melinis minutiflora* (C4 species) in order to analyze changes in bacterial community induced by the competition between the two grasses species in the cerrado native area, during wet and dry seasons. Soil samples from the rhizosphere were collected during wet and dry season in a native cerrado area, located at Reserva Ecológica do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR/IBGE), in Brasília, DF, Brazil. Bacterial communities were analyzed using DNA extraction followed by PCR amplification of 16S rDNA genes and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) analysis. The distribution of bands from DGGE profiles were significantly different between *E. inflexa* and *M. minutiflora* rhizosphere, where samples native grass, *E. inflexa*, showed a higher number of bands. Effects of seasonality of the precipitation, wet and dry season, were an important factor to explaining significative differences in bacterial communities structures from the samples collected in cerrado native area.

University of Brasília

Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

JU174

16S rRNA gene sequencing reveals altered composition of bacterial microbiota in caprine milk during clinical mastitis

Richard Costa Polveiro², Magna Coroa Lima², Pedro Marcus Pereira Vidigal¹, Ricardo Seiti Yamatogi², Maria Aparecida Scatamburlo². ⁽¹⁾ Núcleo de Análise de Biomoléculas (NuBioMol), Center of Biological Sciences, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, BR ⁽²⁾ Department of Veterinary, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, BR

Background: The diagnosis of mammary infections using the culture medium as the gold standard method for identifying mastitis-causing microorganisms. However, recent studies using metagenomics approach 16S, which does not depend on culture media, yielded bacterial identifications on the normal and mastitis milk that cannot be obtained using traditional approaches of aerobic cultivation. In addition, the correct diagnosis of probable mastitis bacterial pathogen can reduce unnecessary use of field antibiotics, and consequently reduce antimicrobial resistance. The objective of this study was to perform the classification of the bacterial agents involved in mastitis clinical of caprine by means of the metagenomic 16S technique. **Methods:** 14 milk samples were collected from animals diagnosed with clinical mastitis (CM) and samples from 12 clinically healthy caprine were used as controls (CG). The DNA was extracted with the QIAmp DNA kit kit (QIAGEN). Sequencing was carried out with an IlluminaMiseq sequencing platform, targeting the V4 region (515f-806r) of the 16S rRNA ribosomal subunit gene. The bioinformatics analyzes were performed in the QIIME pipeline and the USEARCH program. Sequences were grouped in Operational Taxonomic Units (OTUs), with 97% similarity. The taxonomic classification method used was the Ribosomal Database Project (RDP) classifier. **Results:** The results showed high abundance of reads in CG of genus *Staphylococcus* (22%), followed by the genus *Bacteroides* (20%), *Alkalibacterium* (8%), Family *Enterobacteriaceae* (6%), *Enterobacteriaceae* (6%) and *Bacillaceae*, genera *Shewanella* (3%) and *Bifidobacterium* (3%). However, among CM samples the genus *Staphylococcus* obtained 30% on abundance, followed by the genus *Mycoplasma* (16%), family *Enterobacteriaceae* (13%), genus *Bacteroides* (12%). Other genera such as *Shewanella*, *Corynebacterium* and *Hydrogenophilus* presented 2% reads, *Pseudomonas* and *Salinicoccus* 1%. About 25% of the total OTUs in CG demonstrated a low abundance of reads e high diversity, and for the CM group this number was 14%, which demonstrates a reduction in the diversity of the microbiota. **Conclusion:** The bacterial microbiota analysis revealed the high abundance of genera known as *Staphylococcus* in both groups. In addition, there were reductions in diversity of bacterial microbiota of animals that developed CM in relation to the CG, demonstrating a microbial imbalance or dysbiosis, and a complex network of bacterial diversity.

Financial support: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

JU175

Underlying gall microbe-plant-insect interaction in *Haplopappus foliosus* (Asteraceae)

Esteban Severino¹, Vinko Zadjelovic¹, Cristian Villagra², Adrian Paredes³, Cristina Dorador¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL ⁽²⁾ Laboratorio de Entomología, Santiago, Universidad Metropolitana De Ciencias de La Educación, Santiago, CL ⁽³⁾ Laboratorio de Química Biológica, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL

Galls are abnormal growths in plants after invaded by some specific and unique organisms. Gall-makers involve viruses, fungi, bacteria, insects and mites, as it has been reported previously. *Haplopappus foliosus* (Asteraceae), is an endemic shrub located in central Chile (from Coquimbo to Maule regions) that exhibit cecidial formation on apical leaves. Many studies have been focused on its resinous surface chemistry and biological activity properties, but the ecological interactions remain unknown. In our study galled, non-galled apical tissues and larvae were processed and DNA extraction was performed to sequence the 16S rRNA gene using NGS (Illumina MiSeq). Sequences datasets were analyzed in Mothur v1.39.5 (Silva v123), outputs curated in RStudio 1.0.143, Cytoscape 3.5.1 and microbial networks were reconstructed and visualized in Gephy 0.9.1 (Fruchterman Reingold /Force Atlas algorithms). Also, a cultivable approach was made to evidence chemical contribution from microbial source (fungal isolates) and its corresponding ITS sequence analysis. Our results showed that whole network was composed by 437 OTUs, 440 nodes (2.055 average neighbors) of which were represented taxonomically as follows: Enterobacteriaceae (13.64%), Cytophagaceae (6.36%), Gammaproteobacteria unclassified (5.91%), Pseudomonadaceae (5.23%), Betaproteobacteria unclassified (5%) and <5% assigned OTUs. Interestingly, Archaea was only detected in larvae (Thermoplasmata 33%, Soil Crenarchaeotic Group 29% and Marine Group1 37%). Relative abundances showed that gammaproteobacteria was abundant in galled and non-galled tissue and in contrast 16% and 0.4% unknown sequences, respectively. Main differences between galled and non galled tissue reflects that there is an important amount of unknown sequences that could be contributing to gall formation. Planctomycetes, Phycisphaerae, TK10 and Thermoleophilia were poor abundant and exclusively related to galls. Fungal characterization from galls showed that bioactive compounds are being produced (phenolics and aromatics compounds) exhibiting antioxidant activity *in vitro*. This study has explored the microbial diversity associated to galled and non-galled apical branches in *Haplopappus foliosus* (Asteraceae) in a four level biological interaction model and also bioactive potential of microbial exudates have been studied as a biotechnological approach.

FONDECYT 1140179, 1181773; CeBiB FB0001

Presencia de especies del género *Staphylococcus* en manantiales salinos de Cusco, Perú

Jose Luis Sierra¹, Maria Antonieta Quispe-Ricalde¹, Ana Luisa Bueno², Hortencia Bendezu². ⁽¹⁾ Biología, Ciencias, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Cusco, PE ⁽²⁾ Laboratorio de Microbiología, Hospital Adolfo Guevara Velasco - ESSALUD, Cusco, PE

El género *Staphylococcus* alberga en su mayoría especies patógenas para el ser humano y animales, sin embargo, también son bacterias ambientales. Se dividen en dos grandes grupos: *Staphylococcus* coagulasa positivos y *Staphylococcus* coagulasa negativos, este último grupo son considerados saprófitos y que bajo determinadas circunstancias son patógenos. Diferentes especies del género *Staphylococcus* han sido aisladas de diversas fuentes salinas sea suelos o agua, así mismo se las ha aislado de alimentos curados y encurtidos, razón por lo que se estudia como bacterias potenciales en la industria alimentaria. El presente estudio se centra en la identificación de especies del género *Staphylococcus* aislados de manantiales salinos que se encuentran por encima de los 3500 m en la sierra de Perú, y cuya concentración de salinidad varía desde el 17 al 33%. Las identificaciones se han realizado utilizando el gen ribosomal RNAr 16S, sistema Vitex 2 y pruebas bioquímicas. Los resultados indican la presencia de cinco especies: *Staphylococcus pasteurii*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus cohnii* y *Staphylococcus xylosus*. Entonces nos encontramos frente a un grupo bacteriano que se considera peligrosamente patógeno para el hombre, pero que al mismo tiempo, alberga a especies que tienen potencial para la industria alimentaria, tal es el caso de *Staphylococcus xylosus* que es utilizado en la industria de fermentaciones de carnes y que ha sido aislada de residuos de aceites. Los resultados estarían indicando procesos de adaptación de las especies del género *Staphylococcus* a ambientes hipersalinos y su posible potencial en la biotecnología.

Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (FONDECYT). Proyecto N° 227-2015-FONDECYT. Res. N° 005-2016-UNSAAC.



JU177

Análisis de diversidad y potencial bioactivo de bacterias asociadas a líquenes de ambientes extremos: Páramo

María Alejandra Sierra¹, María Mercedes Zambrano ². ⁽¹⁾ Santander, Ciencias, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, CO ⁽²⁾ Corpogen, Corpogen, Bogotá, CO

Con el aumento de la resistencia a antibióticos, la búsqueda de nuevos microorganismos representa una estrategia eficaz para el descubrimiento de nuevas moléculas antibióticas. La identificación de nuevos nichos ecológicos, como las simbiosis con organismos sésiles como los líquenes, ha proporcionando acceso a nuevas bacterias con nuevos compuestos bioactivos, específicamente de parte del phylum *Actinobacteria*. Las actinobacterias son de un alto interés en el campo de la biotecnología por ser grandes productoras de metabolitos secundarios, entre estos, cerca del 40% de los antibióticos actuales. En este proyecto, quisimos estudiar la diversidad y estructura de comunidades bacterianas asociadas a líquenes de ambientes extremos, específicamente de Páramo, por ser conocido como un ambiente único, poco estudiado y con condiciones consideradas extremas. En los resultados parciales a la fecha, se ha podido dilucidar la gran diversidad de bacterias presentes en los líquenes. Se aislaron cerca de 80 microorganismos a partir de 33 líquenes, entre los que se identificaron molecularmente, líquenes de diferente forma de crecimiento (foliosos, fruticosos, escuosos) y provenientes de diferentes sustratos (Tierra, roca, madera) como *Hypotrachyna*, *Yoshimuriella*, *Sticta*, *Cora*, *Stereocaulon*, entre otros. De estos aislamientos, se identificaron 58 actinos, 23 de los cuales, presentaron actividad antagonista contra hongos y/o bacterias gram-positivas y gram-negativas. Ahora nos encontramos estudiando las secuencias de los actinos para su clara identificación. Por otro lado, nos encontramos analizando las librerías genómicas construidas a partir de cada muestra de liquen y su control (muestra de sustrato de donde se tomó el liquen). Las cuales, nos ayudarán a dilucidar la diversidad real y la estructura de estas comunidades bacterianas dentro de los líquenes. Así mismo, podremos ver si realmente existen bacterias que están asociadas con los líquenes, e incluso, se podrían proponer los roles que estas cumplen dentro de la simbiosis. También podremos estudiar si existe una correlación entre las bacterias presentes y los géneros de líquenes, o si, por el contrario, son los factores abióticos los que pudieran estar moldeando la estructura de estas comunidades.

Este proyecto hace parte del macroproyecto “Identificación, valoración y conservación de diversidad microbiana de ambientes extremos y endémicos seleccionados de Colombia” enmarcado dentro del proyecto Nacional COLOMBIA BIO.

JU178

Microbiological activity under silvipastoral systems in the central region of Minas Gerais, Brazil

Moreira Elwira Daphinn S¹, Marriel Ivanildo Evódio², Gontijo Neto Miguel Marques², Melo Izabelle Gonçalves³, Lana Ângela M. Quintão¹. ⁽¹⁾ Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, BR ⁽²⁾ Fitotecnia, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, BR ⁽³⁾ Fitotecnia, Universidade Federal São João Del Rei, São João Del Rei - MG, BR

Soil biological quality (Qs) is an important component for the sustainability of the productive system and its evaluation can contribute to the adoption of appropriate practices. The silvipastoral systems (SSP) allow the integration of sustainable agricultural productivity and are relevant to the recovery of degraded areas. Therefore, we aimed to monitor changes in soil's biological attributes under silvipastoral systems composed of eucalyptus clone GG 100 consortium with *Urocloa brizantha* cv. (SSP1) with 333 ha-1 and (SSP2) trees with 166 ha-1 trees, and two ha-1 trees (SSP2) deployed in 2011, (SSP3) with 333 ha-1 trees and (SSP4) with 166 ha-1 trees; two pastures in full sun were deployed in 2009 (PS1) and 2011 (PS2), in addition to the native vegetation reference environment. The design was completely randomized in split plot arrangement and three replications. The population of fungus, bacteria, enzyme activity involved in cycling of nitrogen (urease and arginase) and phosphorus (acid and alkaline phosphatase) and basal respiration of the soil were evaluated in two depths (0-5 and 60-100 cm) and distances of the Eucalyptus moor (0.5, 1.25, 3.0 and 7.0 m). After ANOVA, the means were compared by the Tukey test, with $\alpha = 5\%$ probability. As a result, it was found that the enzymatic activities were higher in the superficial layer of the soil, independent of the other factors. There was a significant difference for urease activity, basal respiration of the soil and bacterial population depending on the environments, regardless of depth. For urease SSP1 and SSP2 both presented higher values in relation to PS2 pasture. The others did not differ among themselves ($p < 0.05$). SSPs presented high values of soil-like RBS under native vegetation and above pasture. Only the population of bacteria was influenced by the evaluated environments, being superior under PS2. SSPs and pastures were similar to the microbiological parameters of native vegetation, except for PS1 and PS2 in relation to basal soil respiration. The results suggest that SSPs contribute to improvements in the soil's biological quality.

Fapemig, CAPES, Embrapa Milho e Sorgo



JU179

Seasonal characterization of the bacterial community in sediments of natural ponds of Cerrado

Rafaella Silveira¹, Sartori Silva Maria Regina Silveira², Krüger Ricardo Henrique¹, Mercedes Bustamante². ⁽¹⁾ Biologia Celular, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília (UNB), Brasília, BR ⁽²⁾ Ecologia, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília (UNB), Brasília, BR

Lentic aquatic environments represent important components of the landscape in the Brazilian Cerrado. However, aquatic ecosystems still remain poorly studied. Information about the composition and richness of bacteria in the sediment of natural aquatic systems is fundamental to characterize and to understand the aquatic ecosystem functioning. The objective of this study was to describe seasonally the bacterial community present in the sediment of two natural shallows, acidic and oligotrophic ponds of the Cerrado, (Lagoa Bonita in Estação Ecológica de Águas Emendadas - Federal District, and Lagoa Cabocla in Campo de Instrução de Formosa, Goiás, Brazil). Twelve samples of sediment (fraction 0-5 cm) were collected in each pond between May 2014 and March 2015 in four periods: i) rainy-dry transition; ii) dry season; iii) dry-rainy transition and; iv) rainy season. To describe bacterial communities' composition and abundance, we extracted total DNA of the sediment followed by the polymerase chain reaction (PCR) and pyrosequencing of the 16S rRNA gene. The sequences obtained were analyzed through the QIIME pipeline (Quantitative Insights into Microbial Ecology) and the taxa identification was performed using SILVA database. Seven phyla (Proteobacteria, Acidobacteria, Firmicutes, Planctomycetes, Chloroflexi, Nitrospirae, and Verrucomicrobia) were considered dominant, with the relative frequency above 1% in both ponds and all different periods. Other 39 phyla, including a group of bacteria not classified in the lower taxonomic hierarchy of the domain, were found in this study with less relative frequency between the samples. The use of the Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) on the abundance data of the bacterial phyla showed the samples grouping of Lagoa Bonita in the dry-rainy transition and of Lagoa Cabocla in the rainy season. Considering the variation in bacteria group abundance in each pond, it is possible to infer that the heterogeneity is greater within each pond than between ponds. The results of this study generated basic, essential and unprecedented information for the development of future studies on the microbial community and its ecological role in natural aquatic environments of the Cerrado.

Fundação de Apoio a Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

Avaliação da microbiota fecal e ruminal de novilhas

Takagaki Beatriz Midori¹, Freitas Anderson Santos¹, David Diego Bitencourt², Dobbler Priscila Caroline¹, Roesch Luiz Fernando¹. ⁽¹⁾ Centro Interdisciplinar de Pesquisas em Biotecnologia - CIP-Biotec, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, BR ⁽²⁾ Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária - DDPA, Secretaria de Agricultura, Pecuária e Irrigação - SEAPI, São Gabriel, BR

Introdução: Ruminantes são animais de grande importância econômica, motivo pelo qual há muito interesse, por exemplo, no aumento da produtividade da pecuária de corte. Como a microbiota presente no rúmen desses mamíferos é influenciada pela composição alimentar, estudos sugerem ser possível selecionar organismos que contribuam para um melhor aproveitamento alimentar. Coletas tradicionais desse material utilizam sondas esofágicas e são agressivas para o animal. Utilizar métodos menos invasivos, como coleta de fezes, poderia ser uma melhor alternativa para trabalhos desse tipo. Devido a isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar a comunidade bacteriana presente nas fezes e no fluido ruminal de novilhas do município de São Gabriel/RS. **Métodos:** Foram coletadas amostras fecais e de fluidos ruminais após o ciclo de pastejo matinal de 17 indivíduos da raça Braford tratados em pastagem natural e em pastagem com adição de fertilizantes e espécies vegetais exóticas. As amostras foram armazenadas em tubos cônicos estéreis até a extração do DNA microbiano. Para extração foi utilizado o kit comercial PowerSoil (MO BIO, Carlsbad, CA). A região V4 do gene rRNA 16S foi amplificada e, posteriormente sequenciada utilizando a plataforma Ion Torrent PGM. As sequências foram processadas usando as recomendações do Brazilian Microbiome Project e agrupadas com 97% de similaridade. **Resultados:** Foram obtidas 403.094 sequências, agrupadas em 3113 unidades taxonômicas operacionais (UTOs). Análises de diversidade mostraram diferenças significativas entre rúmen e fezes ($p=0,001$), sendo que o fluido ruminal apresentou maior diversidade e abundância de micro-organismos. *Bacteroidetes* foi o filo mais abundante em todas amostras, totalizando uma frequência de 60,1%, seguida de *Firmicutes*, com 27,1%. O gênero *Prevotella* foi o mais abundante em amostras de fluido ruminal (30%), mas praticamente ausente nas amostras fecais. Esse gênero desempenha um papel fundamental no processo fermentativo. Gêneros com grande atividade celulolítica/fibrolítica como *Ruminococcus* e *Fibrobacter*, representaram respectivamente 0,5% e 4% da abundância em amostras de rúmen, contra índices irrisórios nas amostras fecais. **Conclusão:** Dessa forma, para melhor entendimento dessa simbiose entre micro-organismos e ruminantes, torna-se indispensável em estudos posteriores a utilização de amostras ruminais, já que a microbiota fecal não é representativa da microbiota ruminal.

Fonte de financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

JU181

Colonización endolítica en microambientes de yeso en el Salar de Pajonales, Norte de Chile

Cinthya Tebes¹, Constanza Rodríguez², Guillermo Chong², Alex Echeverría³, Alicia Henríquez³, Lorena Escudero³, Andrew Menzies², Daniel Carrizo⁴, Víctor Parro⁴, Eduardo Castro⁵, Nancy Hinman⁶, Nathalie Cabrol⁷, Cecilia Demergasso³. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Geológicas, Doctorado en Ciencias mención Geología, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL ⁽²⁾ Departamento de Ciencias Geológicas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL ⁽³⁾ Centro de Biotecnología Alberto Ruíz, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL ⁽⁴⁾ Departamento de Evolución Molecular, Instituto Nacional de Técnica Aeroespacial (INTA), Madrid, ES ⁽⁵⁾ Centro de Bioinformática y Biología Integrativa, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL ⁽⁶⁾ Department of Geosciences, University of Montana, Montana, US ⁽⁷⁾ Carl Sagan Center, SETI, NASA, Mountain View, US

Debido a factores climáticos y geológicos, el norte de Chile es un dominio-salino donde el yeso, cuya arquitectura ha sido considerada como habitable, es uno de los minerales más abundantes. Se han descrito comunidades endolíticas compuestas principalmente por cianobacterias en costras de yeso, en suelos yesíferos, en yeso asociado a sedimentos y a estructuras con cristales seleníticos. El objetivo de esta investigación es comparar las colonizaciones endolíticas en estructuras de yeso en distinto grado de preservación en el Salar de Pajonales (SP) (25°10'S/68°49'W.3.517 msnm). Pajonales es un salar andino, con un marco geológico de riolitas terciarias y en estrecha asociación a volcanismo activo incluyendo fuentes termales, identificadas en el mapeo geológico. Carbonatos (calcita), boratos (ulexite), cloruros (halite), cuarzo y feldespatos subordinados son otros minerales, localmente abundantes y asociados al yeso. Las estructuras de yeso fueron analizadas mediante Vis-NIR y Raman *in situ*, posteriormente se determinaron los parámetros fisicoquímicos y se usó SEM, DRX, micro-XRF y corte transparente para el análisis mineralógico y de la estructura cristalográfica. La diversidad microbiana fue evaluada mediante técnicas microscópicas, ilumina-Mi-Seq, R-studio y un arreglo de inmuno-ensayos múltiple. SP es abundante en yeso y se observan costras de yeso (CY) con bajo contenido de halita y yeso asociado a domos seleníticos (CS) con centro hueco, ambos con bajo contenido de agua. Se evidenció la presencia tanto de células fototróficas activas y de células en proceso de degradación en ambas muestras en base a los registros de fluorescencia. También, se observaron frústulas de *Campylodiscus ralfsii* y de *Navicula perminuta*, principalmente en la base de los CS. Los CS mostraron una baja diversidad microbiana dominada por Thermi y Cyanobacteria, mayoritariamente Chroococciopsis, que también ha sido reportada en comunidades de ambientes hiper-áridos. Las comunidades microbianas que habitan en las CY, en tanto, son más diversas y están dominadas por Proteobacteria y Bacteroidetes. Los resultados del LDchip de los CS son consistentes con la secuenciación. Finalmente, la detección de comunidades endolíticas activas en SP es una nueva demostración de que el yeso genera microambientes donde es posible la sobrevivencia microbiana en ambientes extremos.

Proyecto Minera Escondida Ltda 32002137.



JU182

Diversidad de bacterias proteolíticas aisladas de lagunas de La Victoria, Julcan - La Libertad

Olga Torres-Gonzales, Zavaleta Amparo Iris¹, Flores Fernández Carol N¹, Kina-Ysa Marijuly S¹, Karim Jiménez Aliaga¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Biología Molecular, Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, PE

Introducción: Las lagunas de La Victoria, ubicadas en el distrito de Julcán (La Libertad) a 3400 m de altitud, al norte del Perú presentan condiciones extremas de temperatura y alto contenido de biomasa algal. Las fuentes acuáticas con condiciones físico - químicas peculiares pueden albergar gran diversidad de especies bacterianas productoras de metabolitos y enzimas con gran potencial biotecnológico. Por ello, el objetivo del presente estudio fue determinar la diversidad de bacterias proteolíticas aisladas de estas lagunas. **Métodos:** Se recolectaron muestras de fangos de las lagunas de La Victoria, estas se pre enriquecieron en caldo Triptona de Soya a 25°C por 48 horas, después los microorganismos se aislaron en agar del mismo medio e incubaron en las condiciones antes mencionadas; las colonias se seleccionaron según color, forma, consistencia y tamaño. Además, se realizó tinción Gram y pruebas bioquímicas. La actividad proteolítica fue evaluada usando agar con leche desnatada, caseína, gelatina y proteínas de soya. Para la caracterización genética se utilizó el análisis de restricción del ADN ribosómico 16S amplificado por reacción en cadena de la polimerasa y cortado con *Hae* III. **Resultados:** Se aislaron 70 bacterias, de las cuales 24 presentaron actividad proteolítica con halos de hidrólisis mayor a 10 mm de diámetro en las cuatro proteínas utilizadas. De estas bacterias, 20 fueron Gram positivas (seis bacilos, tres cocobacilos y once cocos); y cuatro Gram negativas (dos bacilos y dos cocobacilos). Además, todas fueron catalasa positiva. Finalmente, según el ADN ribosómico 16S amplificado se observaron 20 perfiles genéticos. **Conclusión:** Las lagunas de La Victoria son fuentes de gran diversidad bacteriana con potencial proteolítico.

CONTRATO 007-FONDECYT-2014

JU183

Bioaugmentation with *Arthrobacter* sp. strain AAC22 for atrazine attenuation in agricultural soils of Córdoba, Argentina

Noelia Urseler¹, Romina Bachetti², Verónica Morgante³, Evangelina Miloc¹, Elisabeth Agostini⁴, Carolina Morgante¹.
(¹) Córdoba, Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María (²) Laboratorio de Microbiología, Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María, Villa María, AR (³) Laboratorio de Bioingeniería, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad Adolfo Ibáñez, Santiago de Chile, CL (⁴) Departamento de Biología Molecular, Facultad de Cs. Exactas Físicoquímicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, CL

Bioremediation is an important technology for removal of persistent pollutants from the environment. Atrazine (AT) is an *s*-triazine herbicide widely used in Córdoba (Argentina) for the control of broad-leaved weeds in corn, sorghum, alfalfa among other crops. Our research group isolated an efficient AT degrading strain identified as *Arthrobacter* sp. AAC22 (GenBank accession number KT591504) from surface contaminated water. The aims of this work were: i) to study the AT bioremediation potential of AAC22 in soils; ii) to compare the AT degradation under bioaugmentation vs. natural attenuation conditions. The experiments were performed in microcosms using a surface soil (typical Natracualf) that had >15 years of AT application. To evaluate the removal of AT from soils, four treatments (three replicates) were established: A) soil + AT + AAC22; B) sterile soil + AT + AAC22; C) soil + AT; D) sterile soil + AT. Each microcosm containing 200 g of soil was supplemented with AT (100 mg.kg⁻¹) and inoculated with AAC22 (1x10⁵ CFU.g⁻¹) as required. The water content was adjusted to 50% of the field capacity with sterile distilled water. The parameters assessed were: 1) residual AT concentration by Micellar electrokinetic chromatography; 2) AAC22 enumeration by surface plate count; 3) atrazine-degrading microorganisms (ADM) determination of the most-probable-number (NPM) in the presence of the respiration indicator (TTC). A marked decrease of AT concentration was observed in A (89%) and B (85%) treatments after 2 days of trial whereas total AT removal was detected after 8 days. However, in non-inoculated control (C) and in abiotic control (D) the AT concentration remained constant. Therefore, the bioremediation with AAC22 was successful for the AT removal in soil microcosms. A decrease in ADM was registered, probably due to native microbiota might be affected by AT or by competition with AAC22 strain, resulting in a decrease of total respiratory activity. These results reveal the complex interactions between the environment, native microorganisms and the inoculated strain.



JU184

Descripción de los cambios en la composición de la comunidad de protozoos y su relación con factores climáticos y parámetros de operación en la planta de tratamiento de aguas residuales de San Fernando en Antioquia

Juliana A Usma¹, Carolina Palomino¹, Estefanía Ruiz¹, Maria C Garcia Chavez ¹. ⁽¹⁾ Grupo de Investigación en Gestión y Modelación Ambiental, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, CO

Los protozoos y bacterias de los lodos activados juegan un papel fundamental en el proceso de depuración del agua residual. Estos microorganismos son sensibles a fluctuaciones en las características físico-químicas del afluente, y a los parámetros de operación del sistema. La PTAR-SF, ubicada en una zona con régimen bimodal de lluvias trata aguas residuales que combinan fuentes domésticas, industriales y pluviales. Sin embargo, se desconoce cuál es la variabilidad temporal en las características del afluente de la planta. En la PTAR se han colectado, durante los últimos 6 años, datos de diferentes parámetros operacionales y microbiológicos que aún no han sido analizados y, por lo tanto, se desconoce la relación que puede haber entre los cambios en la composición de la comunidad microbiana y el funcionamiento del sistema. El objetivo de este trabajo fue describir la relación entre los cambios en la composición de morfotipos de la comunidad de protozoos y la variación de factores climáticos, junto con algunos parámetros de operación del tratamiento con lodos activados, haciendo uso de los registros disponibles de la PTAR-SF para el año 2013. Para la extracción de la información se construyó una base de datos, a partir de la cual se describieron las medidas de tendencia central y dispersión de los parámetros microbiológicos y operacionales de la PTAR-SF. Se empleó un análisis de ordenamiento no paramétrico para explorar el efecto de diferentes parámetros sobre la composición de protozoos. De los parámetros que en teoría influyen a la comunidad de protozoos, solo se evidenció un patrón de variación relacionada con la época climática. La precipitación pareció ejercer un efecto indirecto sobre la composición de la comunidad de protozoos, al modificar la concentración y calidad de la materia orgánica del agua residual. La eficiencia del tratamiento biológico de la PTAR-SF disminuyó en la época de lluvia, y este descenso pareció estar relacionado con el cambio observado en la composición de protozoos. Lo anterior llevó a plantear la hipótesis que la precipitación tiene un efecto importante sobre el funcionamiento del sistema a través de su influencia en la composición de la comunidad de protozoos.



JU185

Microbial community transitions under diverse hydrocarbon bioremediation scenarios in a semi-industrial scale experiment

Ricardo Valencia¹, Andrés Cumsille¹, Roberto Orellana¹, Claudia Rojas¹, Cristian Stuardo¹, Gabriela Arancibia¹, Carolina Arredondo¹, Franco Cárdenas¹, Myriam Gonzalez¹, Michael Seeger¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química y Centro de Biotecnología DAL, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL

Assessment of hydrocarbon contamination sites has revealed profound consequences of pollution in the composition of affected microbial communities. Nevertheless, some microorganisms take advantage of this condition, using hydrocarbons as a carbon source, which also promotes a transition state in the overall distribution of the community and abundance stability of selected taxa. This study tested the hypothesis that hydrocarbonclastic bacteria would become highly prevalent along bioremediation of hydrocarbon contaminated soils. Soils samples under five bioremediation treatments (land-farming (1), biostimulation(2), bioaugmentation(2)) were taken and microbial community structure was determined by 16S rRNA amplicon sequencing across twelve different times. Core microbiota was identified for each treatment and bimodality and tipping point test was performed to show abundance behavior in specific taxa. Also, local similarity analysis (LSA) networks were constructed to establish relationships between bacterial families and experimental parameters regarding (delayed) correlations. Treatments based in bioaugmentation with strains from three genera (*Acinetobacter*, *Pseudomonas*, and *Nocardia*) comprehend a higher diversity in their core microbiota and inter-temporal correlations between core taxas related to hydrocarbon degradation. Notably, members of family Nocardiaceae had a temporal transition between peaks in a bimodal distribution. In contrast, unimodal distributions were observed for families *Pseudomonadaceae* and *Moraxellaceae*, that may be explained by their overall instability. In the case of biostimulation, members of the order *Xanthomonadales*, a well-known group of hydrocarbon degraders, were highly promoted along bioremediation. Across all five treatments, the order *Actinomycetales* was found to be highly present and abundant along the process, suggesting this group may be playing a relevant role during hydrocarbon degradation.

Relación de la microbiota y su rol metabólico funcional en un suelo volcánico del sur de Chile

Rodrigo Andrés Vargas Cárdenas^{1,3}, Marta Alfaro Valenzuela², Eduardo Ignacio Contreras Ruminot³, Alex Ricardo González Pérez³. ⁽¹⁾ Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Osorno, CL ⁽³⁾ Ciencias Biológicas y Biodiversidad, Universidad de Los Lagos, Osorno, CL

En los suelos volcánicos del sur de Chile, se desarrollan las principales actividades agropecuarias del país. Estos suelos poseen propiedades características como: alto contenido de materia orgánica, baja productividad y retención de fósforo y nitrógeno. A pesar de la gran cantidad de estudios relacionados con la productividad de estos suelos, poco se ha investigado en relación a la composición de la microbiota y su vínculo con los procesos biogeoquímicos en que ella podría estar involucrada. Para relacionar la composición de la microbiota con sus potencialidades funcionales, nosotros realizamos un análisis de secuenciación masiva del gen 16S rRNA y del gen 18S rRNA de una muestra de suelo volcánico tipo Andosol del sur de Chile. El análisis bioinformático para establecer la composición taxonómica se realizó con la plataforma QIIME y el perfil funcional se realizó utilizando el algoritmo PICRUSt. Los filia bacterianos más abundantes encontrados fueron Acidobacteria (30,2%), Proteobacteria (24,7) y Actinobacteria (14,6%) y AD3 (10,3%); la familia más abundante fue Koribacteraceae (12,6). Los filia eucarióticos más abundantes fueron: Ascomycota (71,4%), Chytridiomycota (14,3%), Basidiomycota (7,1%), Glomeromycota (7,1%); el género más abundante fue Chytrium (47%). A nivel funcional los procesos celulares más importantes fueron: procesamiento de la información genética (20,1%) y medioambiental (13,4%), metabolismo de carbohidratos (12,1%) y de aminoácidos (11,9%). En relación al metabolismo energético, los procesos que mostraron mayor representatividad fueron: fosforilación oxidativa (27,9%), fijación de carbono (26%), metabolismo del metano (16,2%) y del nitrógeno (13,2%). Nuestros resultados obtenidos tanto para asignación taxonómica, como para la predicción metabólica funcional, nos muestran que en este suelo el metabolismo del carbono y del nitrógeno tienen un rol preponderante, además muchos de los géneros bacterianos y de hongos más abundantes encontrados, participan activamente en estos ciclos. Estas observaciones son congruentes con las características físico-químicas propias de estos suelos, y validan este tipo de estudios como una herramienta útil al momento de relacionar la composición taxonómica de la microbiota y su potencialidad metabólica.

Proyecto FNI 02/17, Universidad de Los Lagos.

Comunidades bacterianas en áreas afectadas por la minería de oro, en el Departamento del Tolima-Colombia

Maryeimy Varon-Lopez¹, Lily Julieth Vargas Osorio¹, Pedro Avelino Andrade². ⁽¹⁾ Tolima, Facultad de Ciencias, Universidad del Tolima, Ibague, CO ⁽²⁾ Sao Paulo, Microbiología Agrícola, ESALQ, Piracicaba, BR

La minería afecta directamente la composición física, química y biológica del suelo. Con los residuos que se generan del proceso de extracción, son depositadas altas concentraciones de metales pesados sobre el ambiente edáfico y las fuentes hídricas. En este estudio fue evaluado el efecto de los relaves sobre la actividad, abundancia, diversidad y composición de la microbiota del suelo, comparando dos áreas próximas, una con vegetación nativa (SI-N) y otra de depósitos de desechos mineros de oro (SI-M), en el municipio de Santa Isabel-Tolima, Colombia. La evaluación fisicoquímica de las áreas confirmó las altas concentraciones de metales pesados en SI-M, con los mayores valores totales, para Zn (1940,2 mg/kg) y V (91,75 mg/kg), y de metales disponibles Cd (10,64 mg/kg) y Pb (66,98 mg/kg) en SI-M. La densidad de bacterias y la actividad microbiana medida por la Respiración Basal, Respiración Inducida y Carbono de la Biomasa Microbiana disminuyeron significativamente en SI-M. La diversidad y composición de la comunidad bacteriana evaluada por secuenciación masiva con MiSeq de Illumina, mostró una diversidad alfa, menor en el área contaminada, y el análisis de coordenadas principales (PCO) evidenció una clara separación entre las comunidades de las dos áreas, con una menor diferencia entre los puntos de SI-M. Para el área conservada el filo más abundante fue Proteobacteria, seguido de Acidobacteria, y en los depósitos mineros, Firmicutes fue el grupo más representativo. Los resultados mostraron que las clases *Clostridi* y *Bacilli* son las que presentan mayor capacidad de permanecer en estas condiciones de contaminación minera, mientras que Plantomycetes disminuye drásticamente. Actinobacteria, no presentó cambios en abundancia independiente de la condición de estrés, manteniendo el género actinobacteria como el más abundante, se destacan el aumento de los grupos de *Lactobacillales* y *Bifidobacteriales* en los ambientes contaminados. Estos resultados evidencian por el efecto que generan los residuos de la minería, sobre la comunidad microbiana de los suelos, además, de la capacidad de sobrevivencia de algunos grupos y su potencial para ser utilizados como bioindicadores y/o como grupos potenciales para ser evaluados en programas de recuperación de suelos degradados.



JU188

Análisis comparado de microbiomas de suelo en ambientes desérticos

Javiera Vásquez¹, Felipe Maza¹, Mauricio González^{1,2}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Centro de Regulación del Genoma (CRG), Universidad de Chile, Santiago, CL

El estudio de comunidades de microorganismos de suelos de distintos biomas, indica que el Dominio *Bacteria* puede alcanzar el 73 - 98 % de abundancia relativa, proporción que disminuye en comunidades de suelos de biomas desérticos. Los ambientes desérticos, aparentemente, también exhiben valores bajos de alfa-diversidad en sus comunidades bacterianas en comparación a otros biomas de suelo. El propósito del presente trabajo es realizar un análisis comparado de microbiomas de suelo en ambientes desérticos, con el objetivo de: 1) identificar patrones y predictores de composición bacteriana en estos ambientes, y a partir de esta información 2) determinar las características comunes y particulares de los microbiomas del desierto de Atacama. Se realizó una búsqueda sistemática de artículos que reportaran la abundancia porcentual de filos de bacterias en muestras de suelos desérticos en diferentes partes del mundo. Se extrajeron los datos de abundancia de filos de las bases de datos reportadas en estos trabajos y se compararon a través de un agrupamiento jerárquico (K-means method) y de gráficos de abundancias relativas porcentuales respecto a tres variables externas: temperatura (frío/cálido), método de obtención del OTU (cultivo-dependiente/independiente) y origen geográfico de la muestra. Los resultados del análisis cualitativo mostraron: dominancia de tres filos en todos los desiertos mundiales (Acidobacteria, Actinobacteria y Proteobacteria), un sesgo que genera similitud de composición bacteriana al utilizar métodos cultivo-dependientes, una agrupación de los desiertos según sus abundancias en dos grandes clados y una similitud entre el desierto de Atacama y desiertos fríos de la Antártica. Estos resultados sirven de base para orientar análisis cuantitativos sobre comunidades bacterianas de suelos desérticos en Chile y refinar la búsqueda de los predictores de diversidad.

Proyecto FONDECYT 1151384, Proyecto FONDAP 15090007

Efecto del cambio en el uso del suelo sobre las comunidades microbianas en el Chaco Seco (Argentina)

Carolina Vázquez¹, Romina Aylén Verdenelli ², Carolina Merlo¹, María Cecilia Prieto ³, Enrique Iván Lucini¹, Esteban Kowaljow², José Manuel Meriles². ⁽¹⁾ Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, AR ⁽²⁾ Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, IMBIV, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, AR ⁽³⁾ Departamento de Fundamentación Biológica, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, AR

Las comunidades microbianas están involucradas en el ciclo de nutrientes en el suelo participando en la descomposición, formación de materia orgánica y transformación de nutrientes implicados en el mantenimiento de la fertilidad. Las perturbaciones antrópicas pueden afectar la abundancia y estructura de las comunidades microbianas, modificando los procesos en las cuales ellas participan. El objetivo fue comparar la estructura de las comunidades microbianas entre un sitio no disturbado y distintos sistemas productivos del Chaco árido de Córdoba (Argentina), con la finalidad de evaluar el impacto del uso del suelo sobre las comunidades microbianas. Se trabajó en el Oeste de la provincia de Córdoba, en un sitio no disturbado y en tres sitios productivos: desmonte total y selectivo con ganadería (DT-ganadería y DS-ganadería) y desmonte total con agricultura (DT-agricultura). En cada sitio se tomaron 3 muestras compuestas de suelo (0-20cm) y se determinó: la abundancia de bacterias y hongos mediante qPCR y los perfiles de ácidos grasos fosfolipídicos (PLFA). No se detectaron diferencias significativas en la abundancia de bacterias y hongos, sin embargo, en todos los sitios la biomasa fúngica fue aproximadamente dos veces menor que la bacteriana. Al analizar cada taxón mediante PLFA, se encontró una mayor abundancia de bacterias gram positivas y gram negativas en el sitio DT-agricultura. La biomasa de hongos totales y actinomicetes no varió en forma significativa. En conclusión, las prácticas de manejo no impactaron modificando la abundancia total de bacterias y hongos, pero sí produjeron variaciones en los taxones microbianos. El incremento en la biomasa de bacterias grampositivas y gramnegativas en el sitio DT-agricultura, probablemente sea un reflejo del manejo: la incorporación de residuos frescos (laboreo) y el efecto de la fertilización. Que la comunidad de hongos no se encuentre alterada en el sitio DT-agricultura es sorprendente, ya que es conocido que los hongos presentan mayor tiempo de recuperación que las bacterias y suelen ser más sensibles a las perturbaciones físicas como el laboreo al agredir el micelio mediante destrucción mecánica. En resumen, mediante la técnica de PLFA pudimos llegar a detectar variaciones a nivel de grupos microbianos debidas al uso del suelo y el impacto productivo.



JU190

La tormenta perfecta: impacto de un evento aluvional en las comunidades microbianas de sedimentos de un río altamente contaminado por metales pesados, Región de Atacama, Chile

Drina Vejar P¹, Joseline Tapia², **Pablo Aguilar**¹, Diego Cornejo¹, Gonzalo Icaza¹, Pablo Arán¹, Cristina Dorador¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL ⁽²⁾ Instituto de Ciencia de la Tierra, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Campus Isla Teja, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL

El Río Salado se ubica en la región de Atacama, en el Desierto de Atacama, presentando 7575 km² y una longitud de 175 Km. El río nace en el Salar de Pedernales y atraviesa distintas localidades como Potrerillos, El Salvador, Diego de Almagro y Chañaral (desembocadura). Este río extremadamente salino, se encuentra fuertemente alterado por actividades mineras históricas, recibiendo durante 37 años relaves de la Mina en Potrerillos que contenían altas concentraciones de Mo y Cu. Estudios previos han demostrado la presencia de comunidades microbianas en sectores de este río las cuales son altamente resistentes a los metales. El 25 de marzo de 2015, producto de una serie de inusuales lluvias en 3 días, que alcanzaron un total de 76-92 mm de agua caída, el río se desbordó, provocando un aluvión que cubrió varias localidades. Los eventos de lluvia se han intensificado en los últimos años en el Desierto de Atacama, lo que estaría generando dispersión de contaminantes confinados en tranques de relave a sistemas como el Río Salado. El objetivo fue estudiar la dispersión de las comunidades microbianas por efecto del aluvión, se tomaron 9 muestras de sedimento a las 2 semanas de ocurrido el evento del Río Salado para analizar la abundancia relativa de distintos grupos de Bacteria y Archaea, por secuenciación del gen 16S rRNA utilizando secuenciación masiva (Illumina MiSeq). En este estudio se obtuvo un total de 459.654 secuencias y 1.632 OTUs en total. En el caso del Dominio Bacteria se obtuvo un total de 19 Phyla, siendo el más abundante Proteobacteria (31,7%) y Firmicutes (17,7%). Además, se detectaron 42 clases siendo más representativas Gammaproteobacteria (26,9%) y Bacilli (17,3%) y 117 familias, donde las más abundantes Lactobacillaceae (11%) y Halomonadaceae (10,8%). Para Archaea, el phylum más abundante fue Euryarchaeota (38,2%) y Nanoarchaeota (2,1%), siendo representados por la familia Halobacteriaceae (38,2%). En este estudio se ha evidenciado que las zonas que estuvieron expuestas a contaminación por molibdeno, cobre y arsénico presentaron gran abundancia de Archaea del phylum Euryarchaeota posterior al aluvion, sumado a que la mayor concentración de metales se encontraba en localidades cercanas a Mineras como Potrerillos y el Salvador.

FONDECYT 1140179, 1181773; CeBiB FB0001

JU191

Assessment of microbial actors involved in the natural attenuation process of jet fuel-contaminated soils

Kelly Hidalgo¹, Centurion Victor B¹, Lacerda Junior Gileno V.², Teramoto Elias H³, Luciana Pelese³, Carsten Vogt⁴, Richnow Hans H⁴, Valoni Erika A⁵, Soriano Adriana U⁵, Baessa Marcus PM⁵, Oliveira Valéria M¹. ⁽¹⁾ Centro de Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas Biológicas e Agrícolas, Instituto de Biologia, UNICAMP ⁽²⁾ Embrapa, Jaguariúna, Brazilian Agricultural Research Corporation, Jaguariúna, BR ⁽³⁾ Basin Studies Laboratory - LEBAC, Institute of Geosciences and Exact Sciences - IGCE, UNESP - Paulista State University, Rio Claro, BR ⁽⁴⁾ Department of Isotope Biogeochemistry, Helmholtz Centre for Environmental Research, UFZ, Leipzig, DE ⁽⁵⁾ Research and Development Center at Petrobras, Petrobras, Rio de Janeiro, BR

Natural attenuation represents all processes that govern contaminant mass removal including microbial-mediated degradation in the environment. Although this process is intrinsic to the soil and aquifer microbial community, its rate and efficiency depend on multiple factors, including the abundance and diversity of microorganisms capable of degrading these pollutants. This study aimed to characterize the microbial communities and functional genes involved in the degradation of jet fuel entrapped in the pore space. The composition and distribution of microbial members and specific genes for anaerobic degradation were analyzed based on 16S rRNA amplicon and metagenomic shotgun sequencing using Illumina HiSeq platform. Three *in situ* microcosms (Bactraps) containing activated charcoal with isotopically labelled aromatic compounds (benzene, toluene or naphthalene) were installed in different locations of the contaminated site. Bactraps were removed six months later concomitantly with soil samples (liners) collected in the same locations, within the saturated zone and at three different depths. Sequence analysis revealed two predominant bacterial genera in the soil samples, *Propionibacterium* at the bottom, a bacterium reported to be anaerobic naphthalene degrader, and high abundance of *Acinetobacter* members at the top and in relatively lower abundance at the middle depth, indicating possible aerobic mineralization of aromatic compounds in the upper portions of the liner. In the Bactraps, a similar distribution of the most abundant genera was observed for benzene and toluene-labelled Bactraps, revealing *Geobacteras* the most important genus in anaerobic degradation of aromatic compounds, a group previously reported to harbor the most relevant enzymes in the anaerobic pathway (*BssA*, *BamB*) for aromatic degradation, results confirmed by analyses of functional genes. In the naphthalene-labelled Bactrap, microbial community was dominated by *Syntrophus* spp., bacteria related to anaerobic degradation in methanogenic consortia, and *Propionibacterium* spp. These results suggested a differentiated selection of microorganisms in the Bactraps, as a result of the enrichment with different compounds, favoring specific bacteria capable of degrading these compounds.

PETROBRAS (Process Numbers ANP: 18012-5); SÃO PAULO RESEARCH FOUNDATION – FAPESP (Process Number: 2017/16611-0).

Thermoplasmatales and sulfur oxidizing bacteria dominate the microbial community of a natural CO₂-rich wet mofette located in Tenorio Volcano National Park (Costa Rica)

Alejandro Arce-Rodríguez^{1,2}, Fernando Puente-Sánchez³, Roberto Avendaño⁴, María Martínez⁵, Marten De Moor⁵, Pieper Dietmar H², **Max Chavarría**⁶. ⁽¹⁾ Institute of Microbiology, Technical University of Braunschweig, Braunschweig, DE ⁽²⁾ Microbial Interactions and Processes Research Group, Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, DE ⁽³⁾ Systems Biology Program, Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC), Madrid, ES ⁽⁴⁾ Unidad de Genómica, Centro Nacional de Innovaciones Biotecnológicas, San José, CR ⁽⁵⁾ Observatorio Vulcanológico y Sismológico de Costa Rica (OVSICORI), Universidad Nacional, Heredia, CR ⁽⁶⁾ Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA), Escuela de Química, Universidad de Costa Rica, San José, CR

The study of the microbiota in CO₂-rich environments allows us to understand phenotypic and genetic adaptations of life under elevated levels of this gas but also allows us to acquire knowledge to explore future tools for the capture and storage of anthropogenic CO₂. In this work, we report the chemistry and microbial community that inhabits a natural CO₂-rich spring (i.e. wet mofette) popularly known in Costa Rica as Borbollones, located in Tenorio Volcano National Park. The physicochemical parameters of this thermal springs indicated that it has a temperature of 60°C, a pH of 2.42 and that the gas released has a composition of ~97 % CO₂, ~0.07 % H₂S, ~2.3 % N₂, and ~0.12 % CH₄. In the waters, other chemicals species such as sulphate (~253 mg/L), chloride (~175 mg/L) and iron (~2.9 mg/L) were found in high levels with respect to normal freshwater streams. Analysis of the 16S rRNA gene by Illumina sequencing revealed that the microbial community is dominated by an Archaea of the order Thermoplasmatales (~17.5% of total sequencing reads) related to the thermoacidophilic *Thermogymnomonas acidicola*, and by one bacterium of the genus *Sulfurimonas* (~13.5%). Other sulfur-oxidizing bacteria of the genera *Thiomonas* (~6.69%), *Acidithiobacillus* (~9.14%), *Sulfuriferula* (~3.08%), *Sulfuricurvum* (~2.47%) and *Sulfurovum* (~1.06%) were also identified, which is consistent with the presence of sulfur hydrogen. In addition, iron-oxidizing (genera *Sideroxydans*, *Gallionella*, *Ferrovum*), and ammonia/nitrite oxidizing bacteria (genera *Candidatus*, *Nitrospira*) were detected. This work corresponds to the first report where the physicochemical and microbiological composition of a wet mofette from Costa Rica and Central America is described. Results contribute to the knowledge of microbial communities inhabiting ecosystems with extraordinary levels of CO₂.

JU193

Caracterización fenotípica de *Botrytis cinerea* resistentes a boscalid y fenexhamida obtenidos desde flora nativa de la región de Coquimbo, Chile

Bárbara Marambio¹, Lila Olivares¹, Olga Gutierrez¹, Verónica Plaza¹, Luis Castillo¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad De La Serena, La Serena, CL

Botrytis cinerea, es un fitopatógeno que causa moho gris en una amplia variedad de plantas en regiones templadas en todo el mundo, incluyendo plantas nativas en Chile. Diversos estudios han demostrado que este hongo posee rasgos genéticos y fisiológicos variables, agrupándola en *B. pseudocinerea* (grupo I) y *B. cinerea* (grupo II), de acuerdo a la caracterización del polimorfismo del gen *Bc-hch*. *B. cinerea* es de gran interés en el área agrícola ya que presenta diferentes mecanismos de resistencia a la mayoría de los fungicidas químicos utilizados. El objetivo de este estudio fue caracterizar y comparar genética y fenotípicamente 31 cepas de *Botrytis cinerea* de la región de Coquimbo, Chile. La identificación de *Botrytis cinerea* se realizó mediante la secuenciación de la región espaciadora interna transcrita (ITS) de ADNr utilizando los cebadores ITS1/ITS4. Para determinar el genotipo de cada cepa se utilizaron los transposones Boty y Flipper, los resultados indicaron que el genotipo con mayor prevalencia fue Transposa (83,8%), con ambos elementos transponibles activos. Todas las cepas de este estudio se identificaron como *B. cinerea* (grupo II). Para confirmación adicional, se secuenciaron los genes que codifican para las proteínas G3pdh, Hsp60, Rpb2 y Nep1. Los resultados obtenidos confirmaron que las cepas aisladas eran 100% de la especie *B. cinerea*. Las pruebas de sensibilidad frente a seis antifúngicos comerciales (Fludioxonil, Iprodione, Fenhexamid, Tebuconazol y Boscadil) muestran que el 22,5% de las cepas fueron resistentes a boscalid o fenhexamida. Los análisis de esporulación, formación de esclerocios y virulencia, fueron mayores en las cepas resistentes a los antifúngicos con respecto a las cepas susceptibles, sin embargo esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Este es el primer estudio que identifica *B. cinerea* resistente a boscalid y fenhexamida asociados a vegetación nativa y nativa endémica en la Región de Coquimbo.

FIC-R BIP:30485880-0

Análise molecular da comunidade bacteriana presente em microcosmos de água do mar proveniente da Bacia Pará-Maranhão contaminados com petróleo

Paixão Carla TM¹, Pessoa Giovanni R¹, Alcântara Adriedson JC¹, Moura Vitória AG¹, Lacerda Jackeline RM², Lucy Seldin², Filho Geraldo NR³, Graças Diego A⁴, Artur Silva⁴, Marques Joana M⁴.

⁽¹⁾ Instituto de Ciências Biológicas, Faculdade de Biotecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, BR

⁽²⁾ Laboratório de Genética Microbiana, Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR ⁽³⁾ Laboratório de Pesquisa e Análise de Combustíveis, Universidade Federal do Pará, Belém, BR

⁽⁴⁾ Centro de Genômica e Biologia de Sistemas, Universidade Federal do Pará, Belém, BR

Em 2011, a exploração de petróleo na região Norte do Brasil teve visibilidade quando a Petrobrás perfurou 250 km da costa do Pará e detectou a presença de petróleo de alto valor comercial. Todas as etapas envolvidas na exploração *offshore* de petróleo representam um risco iminente de contaminação ambiental dos ecossistemas costeiros, entretanto o potencial de biorremediação da costa Amazônica permanece desconhecido. Dessa forma, este estudo objetiva analisar a estrutura da comunidade bacteriana presente na água do mar da Bacia do Pará-Maranhão contaminada com óleo cru, a partir de microcosmos por métodos independentes de cultivo (eletroforese em gel com gradiente de desnaturação aliado a reação em cadeia da polimerase - PCR-DGGE, baseado no gene *rrs* que codifica a subunidade 16S do RNA ribossômico). Microcosmos contendo água do mar (Bacia Pará-Maranhão) foram montados em triplicata contaminados com óleo cru, suplementado com nutrientes (N, P e K) e mantidos por 60 dias. Microcosmos sem contaminação por óleo e/ou suplementação de nutrientes foram montados como controles para uma análise temporal da comunidade, amostras foram coletadas nos tempos de 0, 15, 30 e 60 dias após o início do experimento (T0, T1, T2 e T3, respectivamente). A análise da estrutura da comunidade (coeficiente de similaridade de Pearson) revelou agrupamento dos perfis de acordo com o tempo (70% de similaridade). Além disso, pode-se observar ainda o agrupamento com mais de 85% de similaridade das amostras com a presença de óleo dos tempos T2 e T3. A análise de componentes principais (PCA), mostrou a aproximação dos grupos que continham óleo e bioestimulante nos tempos T2 e T3, corroborando os resultados já obtidos. As análises estatísticas (teste p) demonstraram valores de dissimilaridade x e y entre os grupos, entretanto não houve diferença significativa, assim como as análises de diversidade (índices de Chao e Shannon) realizadas a partir de matrizes de presença e ausência. Dessa forma, concluiu-se que as variáveis de maior importância na estruturação da comunidade foram o tempo e o contaminante. Os resultados sugerem uma possível sucessão ecológica e seleção de grupos que foram capazes de tolerar e/ou utilizar o óleo como única fonte de carbono.

Reconstrucción y comparación genómica de microorganismos simbiotes de esponjas Antárticas

Mario Moreno-Pino^{1,2}, Nicole Trefault^{2,3}. ⁽¹⁾ Programa de Doctorado en Genómica Integrativa, Vicerrectoría de Investigación, Universidad Mayor, Santiago, CL ⁽²⁾ Centro GEMA- Genómica, Ecología y Medio Ambiente, Universidad Mayor, Santiago, CL ⁽³⁾ Centro de Genómica y Bioinformática, Universidad Mayor, Santiago, CL

El microbioma de esponja se compone de una amplia gama de microorganismos que desempeñan un papel relevante en diferentes aspectos de la biología de la esponja y en el ciclaje de elementos claves para el correcto funcionamiento de los ecosistemas. El estudio del rol funcional de las comunidades asociadas a esponjas se ha centrado principalmente en ambientes templados y tropicales, por lo que nuestro conocimiento del rol metabólico de estos microorganismos en esponjas antárticas es limitado. Este trabajo se centró en caracterizar el potencial metabólico de los microorganismos asociados a esponjas antárticas, mediante la reconstrucción de genomas, a partir de datos metagenómicos y la estrategia bioinformática de “Binning”. Un total de 61 genomas fueron inicialmente reconstruidos, de los cuales 3 fueron seleccionados debido a su alta completitud y bajo porcentaje de contaminación. El análisis taxonómico, basado en el gen ribosomal 16S rRNA, permitió clasificar los genomas como *Rhodobacteraceae* (Bin 1 y Bin 9) y *Nitrosopumilaceae* (Bin 22). El tamaño genómico fue de 2,8 Mb. para el Bin 1 y 9, y 1,6 Mb. para el Bin 22, y la completitud genómica fue de 95% para los Bins 1 y 9, y 88% para el Bin 22. El análisis del potencial metabólico muestra que los Bin 1 y 9 poseen genes relacionados a la degradación de dimetilsulfoniopropionato, DMSP, compuesto relevante en cambio climático. Por otra parte, el Bin 22 posee genes para la oxidación de amonio (*amoA* y *amoC*) y para la fijación de carbono mediada por el ciclo 3HB/4HP (*nmar1110*, gen codificante de la succinato semialdehído reductasa). Adicionalmente, los tres genomas poseen un elevado número de copias de genes asociados a estilo de vida simbiótico, por ejemplo, los genes que codifican para proteínas con repeticiones de tetratricopéptidos y elementos CRISPR-cas. El bin 1 y 9 poseen 268 y 356 repeticiones tetratricopéptidos (TTR) y 2 elementos CRISPR, respectivamente. El bin 22, posee 521 TTR y 1 elemento CRISPR. En conclusión, los genomas analizados evidencian mecanismos de ciclaje de nutrientes y adaptaciones de estilo de vida simbiótico, proporcionando mayor información del potencial funcional que tienen los microorganismos asociados a esponjas Antárticas.

Agradecimientos a los proyectos INACH RT_34_17 e INACH DG_12-17



JU196

Andean uncovered biosphere: revealing the vertical milliscale bacterial and eukaryotic community structure within a freshwater microbial mat from Salar de Huasco

Eduardo Andrés Acosta¹, Diego A Cornejo ², Verónica Molina³, Gonzalo Icaza², Martha Hengst⁴, Chris Harrod⁵, Lasse Olsen⁶, Cristina Dorador⁷. ⁽¹⁾ Instituto Antofagasta, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta ⁽²⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL ⁽³⁾ Programa de Biodiversidad & Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha de Ciencias de La Educación, Valparaíso, CL ⁽⁴⁾ Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL ⁽⁵⁾ Instituto de Ciencias Naturales Alexander von Humboldt, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL ⁽⁶⁾ Norwegian Polar Institute, Norwegian Polar Institute, Tromsø, NO ⁽⁷⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL

High altitude wetlands in the Altiplano are unique remote aquatic ecosystems considered as part of the cold biosphere. Microbial mats, vertically stratified tridimensional structures, shaped by geochemical gradients and considered as complex microbial ecosystems are present in Altiplano basins. Here we investigated the upper 7 millimetres of a microbial mat formed in the freshwater site of Salar de Huasco, a high-altitude wetland from the Chilean Altiplano in order to confirm the existence of these complex forms of biofilms in this extreme environment. The presence of the microbial mat was determined by the dissolved oxygen microprofile measured throughout each colored layer as a typical microbial mat steep oxygen stratification. Sterile scalpel blade and spatula were used to dissect the microbial mat. Samples were kept in sterile 50 ml Falcon tubes. High throughput sequencing samples for DNA extraction were sampled from each layer of the microbial mat by the use of sterile spatulas according to depths until the reach of the black horizon in the deepest layer of the structure (7 millimetres). Oxygen levels ranked from 166 μM at 0 millimetres to 448 μM dissolved oxygen at 2-3 millimeter depth during midday in the studied structure. Furthermore, we used 454 pyrosequencing of the 16S and 18S rRNA genes, sequences were clustered into Operational Taxonomic Units (OTU) and classified using a 97% similarity to the SILVA 128 database. A total of 30.524 bacterial sequences, covering 24 phyla including 15 candidate divisions were detected and analyzed using an OTU co-occurrence network. Classes α - and β - Proteobacteria and Cyanobacteria phylum appeared to dominate the bacterial communities. The eukaryotic community detected as 10.217 sequences and was mainly associated to phototrophs as chlorophytes and diatoms and in minor proportions to ciliates and fungi. Micro eukaryotes were distributed in 34 total taxa, representing four eukaryotic Super-Groups (Archaeplastida, SAR, Opisthokonta and Amoebozoa). We highlight the presence of these communities as potential part of the energy transfer to higher trophic levels thriving in this wetland.

CeBiB FB0001; FONDECYT 1140173, 1181773, 1140356, 1171324

JU197

Functional genomic approaches for the study of the *Cupriavidus-Mimosa* symbiotic interaction

Cecilia Rodríguez-Esperón¹, Laura Sandes¹, Florencia Garabato¹, José Sotelo-Silveira³, Andrés Iriarte², Elena Fabiano¹, **Raúl Platero**¹. ⁽¹⁾ Bioquímica y Genómica Microbianas, IIBCE, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, UY ⁽²⁾ Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, UY ⁽³⁾ Genómica, IIBCE, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, UY

Symbiosis establishment between rhizobia and host legumes is highly regulated. Genetic coordination starts when both organisms recognize each other by signal exchanges and results in the formation of root nodules that provide an environment suitable for N₂-fixation by rhizobia. One of the first signals exchanged by rhizobia and host plants are root exudates flavonoids that once recognized by the bacteria, triggers the expression of *nod* genes. The aim of the present work was to characterize the changes occurring in the bacterial cells during the early interaction steps between *Cupriavidus* and *Mimosa*. To address this question we have analysed the proteomic and transcriptomic changes induced by the presence of the flavonoids Luteolin and Apigenine in rhizobial *Cupriavidus* sp. Employing a Differential In Gel Expression (DIGE) proteomic approach we were able to identify 14 differentially expressed proteins, while RNAseq comparative analyses allow us to identify more than 50 differentially expressed genes between induced and non-induced culture conditions. Cluster of orthologous group (COG) analyses indicated the induction of proteins related to energy production and conversion (functional category C) and Amino Acid metabolism and transport (functional category E). On the other hand, analyses of induced genes indicated that in addition to the observed *nod* genes induction, several cellular processes are influenced by the presence of plant released flavonoids, including siderophore production and membrane remodeling. The information obtained by these two complementary approaches suggest that the *Cupriavidus-Mimosa* symbiotic interaction have some similarities with well studied alpha-rhizobia-legumes models, but also have particularities that deserve its study in order to understand the basis of the establishment of effective symbiotic interactions between beta-rhizobia and legumes.

PEDECIBA

ANII Proyecto FCE_1_2014_1_104338

ANII Proyecto FCE_1_2017_1_136082

El regulador del desarrollo *Pcz1* controla la producción de metabolitos secundarios en el hongo filamentoso *Penicillium roqueforti*

Renato Chávez¹, Juan F Rojas-Aedo¹, Carlos Gil-Durán¹, Alejandra Goity², Inmaculada Vaca³, Luis Larrondo². ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Millennium Institute for Integrative Systems and Synthetic Biology (MIISB), Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL

El hongo filamentoso *Penicillium roqueforti* se usa en la producción de varios tipos de quesos azules. Además, este hongo produce metabolitos secundarios interesantes tales como la micotoxina roquefortina C, el anticancerígeno andrastina A, y el inmunosupresor ácido micofenólico. Hasta la fecha, hay poca información sobre la regulación de la producción de estos metabolitos secundarios. Recientemente, nuestro grupo describió un nuevo gen en *P. roqueforti*, llamado *pcz1* (*Penicillium* C6 zinc domain protein 1). Este gen codifica una proteína del tipo Zn(II)₂Cys₆ que controla el crecimiento y los procesos de desarrollo en este hongo. Sin embargo, su efecto sobre el metabolismo secundario es actualmente desconocido. En este trabajo, hemos producido cepas de *P. roqueforti* sobre-expresando *pcz1*, y cepas con expresión de *pcz1* atenuada mediante ARN de interferencia, y hemos medido la producción de roquefortina C, andrastina A y ácido micofenólico en estas cepas. Los tres metabolitos mencionados se redujeron drásticamente en las cepas donde la expresión de *pcz1* fue atenuada. Sin embargo, y de forma sorprendente, cuando *pcz1* se sobreexpresó en *P. roqueforti*, solo se produjo en exceso el ácido micofenólico mientras que los niveles de roquefortina C y andrastina A nuevamente disminuyeron. Los distintos niveles de producción de estos metabolitos correlacionaron con el patrón de expresión de los genes biosintéticos implicados en su producción. De esta forma, cuando se observó aumento o disminución de un metabolito por acción de *pcz1*, esto correlacionó respectivamente con un aumento o disminución de la transcripción de los genes biosintéticos. Tomados en conjunto, nuestros resultados sugieren que *Pcz1* juega un papel clave en la regulación del metabolismo secundario en el hongo *P. roqueforti*, a través del control transcripcional de los genes que participan en la biosíntesis de sus metabolitos secundarios.

Agradecimientos a Proyecto FONDECYT 1120833 y Proyecto DICYT Código 021743CR, VRIDEI, Universidad de Santiago de Chile. JFR-A and CG-D recibieron becas doctorales CONICYT-PFCHA/Doctorado Nacional/2013-21130251 y CONICYT-PFCHA/Doctorado Nacional/2014-63140056

JU199

Derivados tris(estilbeno): abriendo el camino para la erradicación de biofilms

Melisa A Quinteros^{1,4}, Joaquín C García Martínez², **Paulina L Páez**^{3,5}, María G Paraje^{1,4}. ⁽¹⁾ Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, AR ⁽²⁾ Departamento de Química Inorgánica, Orgánica y Bioquímica, Facultad de Farmacia, Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete, ES ⁽³⁾ Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultades de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, AR ⁽⁴⁾ CONICET, Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV) ⁽⁵⁾ CONICET, Unidad de Tecnología Farmacéutica (UNITEFA)

El crecimiento en *biofilms* ha sido ampliamente estudiado en bacterias, siendo menos estudiado en levaduras. Se ha podido demostrar que las células del *biofilms* pueden resultar entre 10 y 1000 veces más resistentes que las células planctónicas correspondientes a un gran número de antimicrobianos de amplio espectro y de biocidas oxidantes. Es necesaria la búsqueda de nuevos compuestos para el tratamiento de estas comunidades microbianas. Los compuestos de tris (estilbeno) son sistemas aromáticos simples que pueden considerarse como dendrímeros de primera generación de poli(fenileno)vinileno (PPV) con un andamio rígido conjugado. El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad *antibiofilm* de cuatro nuevos compuestos derivados tris (estilbeno) contra células sésiles de *Candida tropicalis*, evaluando estrategias sinérgicas con anfotericina B (AmB). Se utilizó la cepa de referencia *C. tropicalis* NCPF 3111. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración fungicida mínima (CFM) a AmB (antifúngico de referencia) y de estos nuevos compuestos (N° 5, 8, 10 y 14), según métodos estandarizados por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI documento M27-A3) utilizando el método de microdilución en caldo. Se formó el *biofilm* y se cuantificó por microtécnica con cristal violeta (CV) y espectrofotometría UV-visible en placas de 96 pocillos por 48 h a 37°C para la formación del *biofilms* maduro. Se evaluó la concentración de erradicación del biofilm (CEB) de los distintos compuestos. Se graficó unidades de biomasa del *biofilms* (UBB) vs concentración del compuesto y se determinaron los porcentajes de reducción (%R) para cada condición. Con los compuestos 8 y 10 se alcanzó más 90% R a los valores supraCIM, y adición con AmB. Se obtuvo efecto sinérgico a valores CIM con el compuesto 10. Sin embargo, con el compuesto 5 en combinación con AmB, se observó una importante sinergia a valores CIM y supraCIM. Para el compuesto 14, no se observó actividad solo o combinado. Dado que los microorganismos formadores de *biofilms* son resistentes a los antimicrobianos, la obtención de nuevos compuestos activos o estrategias sinérgicas frente a estos patógenos tiene un importante valor sanitario y económico que ameritaría la continuidad de futuras investigaciones.

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina (CONICET), Agencia Nacional de Promoción Científica y tecnológica (ANPCyT), Secretaría de Ciencia y Tecnología (SeCyT-UNC).

JU200

New gene involved in chromate redox stress response in the poliextremophilic bacterium *Leptospirillum* sp. CF-1

Matias Rivero¹, Alonso Ferrer¹, Gloria Levicán¹. ⁽¹⁾ Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago, Santiago, CL

Background: *Leptospirillum* sp. CF-1 is an iron-oxidizing bacterium that belongs to bioleaching microbial communities. Due to the high concentration of dissolved metals such as iron and copper, environments where this bacterium thrive are considered like highly oxidizing. Proteomic and transcriptomic experiments performed on *Leptospirillum* sp. CF-1 exposed to oxidative stress conditions led to an up-regulation of an important set of genes and proteins with unknown functions. Furthermore, in *Leptospirillum* sp. CF-1 hypothetical genes represent about 50% of the genome, and so they are likely playing an important role as part of adaptive mechanisms to face extreme conditions in acidic environments. We studied the role of six hypothetical genes (ABH19_06740, 06855, 07700, 09590, 10550 and 11760) in oxidative and metal stress response. **Methods:** Hypothetical genes were cloned and overexpressed in *Escherichia coli* DH5- α , with the aim to evaluate the role of them in oxidative and metal stress protection. Cells were exposed to stress culture conditions by addition of chromate, hydrogen peroxide or 1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridyl dichloride. To evaluate if the studied genes expression was modified in response to stresses in the *Leptospirillum* sp. CF-1, an approach using RT-qPCR experiments was made. Predicted characteristic of hypothetical proteins was addressed using bioinformatic tools. **Results:** From the six hypothetical genes analyzed, the ABH19_09590 gene showed to have a significant effect by increasing the tolerance of the wild type strain of *E. coli* to chromate. Of all the genes studied. The ABH19_09590 gene has a length of 2472 bp and encodes a hypothetical cytoplasmic protein of 820 amino acids with an estimated molecular mass of 92 kDa. The deduced amino acid sequence did not reveal any known motif and its genomic context seems to be rounded by others hypothetical genes with unknown function. This gene was upregulated during exposure of *Leptospirillum* sp. CF-1 to chromate and other oxidative stress elicitors. **Conclusion:** The hypothetical gene ABH19_09590 and its corresponding product could represent an important element in the response of *Leptospirillum* sp. CF-1 to stress by chromium and ROS-generating compounds. This work provides new insights into the adaptation of acidophiles to their extreme environment.

This work was supported by FONDECYT 1170799 and DICYT-USACH. M.R. was supported by USACH grant 021743IJ PostDoc.



JU201

Heterologous expression of *Mycobacterium tuberculosis* CtpF on *Mycobacterium smegmatis* cells

Cristian Rosales¹, Elianna Castillo¹, Soto Carlos Yesid¹. ⁽¹⁾ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, CO

Introduction *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) is the causative agent of tuberculosis (TB), an airborne disease that according to the World Health Organization caused 1.3 million deaths in 2016. Despite the typical chemotherapeutic treatments against TB and the existence of the BCG vaccine, TB is still a major public health concern. As part of the immune system response against TB, the alkaline/alkaline-earth metal concentration increases inside macrophages. Among the 12 P-type ATPases codified by the genome of Mtb, CtpF, a SERCA-like protein that has been associated with Ca²⁺ efflux, responds to more toxic and stress conditions compared with other Mtb P-type ATPases. *pma1* is the homologous of *ctpF* in *M. smegmatis*. **Methods** *ctpF* gene was cloned in the mycobacterial shuttle vector pMV261 and transformed in *M. smegmatis* mc2155 wild type and *M. smegmatis* Pma1 null-mutant (*Dpma1*) cells. Subsequently, calcium accumulation in mycobacterial cells and membrane vesicles was measured by atomic absorption spectroscopy. **Results** Calcium relative accumulation was 2 and 3-fold higher in *M. smegmatis* mc2155 and *Dpma1* transformed with CtpF, respectively, compared with control cells. **Conclusion** *Mtb* CtpF is associated with calcium efflux in mycobacterial cells and prevents calcium accumulation inside mycobacterial cells.

This work was supported by “Dirección de Investigación y Extensión Bogotá, Vicerrectoría de Investigación, Universidad Nacional de Colombia, Project code 40816.”

JU202

Modulation of mitochondrial physiology by *Lactobacillus rhamnosus* GG on rats exposed to binge-like ethanol exposure during adolescence

Lina María Ruiz¹, Celia Salazar¹, Marlen Barreto¹, Francisca Carvajal¹, Jose M Lerma-Cabrera². ⁽¹⁾ Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Departamento de Psicología, Facultad de Psicología, Universidad de Oviedo, Oviedo, ES

Microbiota plays a vital role in host energy metabolism and the evolution of metabolic disorders. Among others, microbiota can interact with host cells through regulating mitochondrial biogenesis and function. The administration of probiotics is a method to modulate host microbiota. The probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG (*LrhGG*) has been associated with the mitigation of metabolic disorders and to the modulation of the active microbiota. A critical health problem in our society is the consumption of alcohol in adolescence, characterized by drinking of large amounts of alcohol in a short period. This binge-like ethanol exposure cause neuroinflammation, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction. Besides, alcohol may induce intestinal dysbiosis, intestinal permeability, bacterial translocation, endotoxemia and the development of alcoholic liver disease (ALD). Lately, probiotics have been shown to be effective in reducing the growth of ALD. We have been studying the *LrhGG* effect on the mitochondrial physiology of rats exposed to binge-like ethanol exposure during adolescence. For these, intraperitoneal injection of either ethanol (BEP) or isotonic saline (SP) were administered to rats. Then, rats were given *LrhGG* orally. The microbiota of the rats was analyzed in feces by qPCR. Finally, the mitochondrial function was examined. *LrhGG* was found at levels of 10^5 - 10^7 UFC in feces from rats that consumed this bacterium. *LrhGG* changes the expression of *HIGD2A*, *MnSOD* and *AMPKa1*, genes involved in mitochondrial physiology. In liver, *LrhGG* intake increase mitochondrial NADH levels in SP rats. Also in BEP rats, *LrhGG* intake increase mitochondrial total antioxidant capacity. Besides, the ADP/ATP ratio showed a significant decrease in BEP rats. *LrhGG* regularized this ratio. While BEP rats presented a decline of HIG2A protein and an increase in the respiratory complexes, *LrhGG* induces a reduction in HIG2A protein and respiratory complexes. *LrhGG* likely exerts its beneficial effects through modulation of antioxidant defense, AMPKa1 activation, and remodeling of respiratory complexes.

FONDECYT 11130192, FONDECYT 11150308, FONDECYT 1140284, & PIA (ACT 1411)



JU203

Primary evidences of the mechanisms of action of the HIV aspartyl peptidase inhibitors nelfinavir and lopinavir on trypomastigote forms of *Trypanosoma cruzi*

Leandro Sangenito¹, Rubem Menna-Barreto², Branquinha Marta LEANDRO ST¹, André Santos¹. ⁽¹⁾ IMPG, Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro ⁽²⁾ Laboratório de Biologia Celular, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, BR

The development of HIV aspartyl peptidase inhibitors (HIV-PIs) and their introduction into AIDS therapy preceded a significant decrease in the incidence, morbidity and mortality of relevant protozoan co-infections. However, few data are available about how HIV-PIs act on pathogenic parasites, such as *Trypanosoma cruzi*, the etiologic agent of Chagas disease. Therefore, the aim of the present work was to evaluate different physiological aspects of the treatment of the infective trypomastigote forms of *T. cruzi* with the HIV-PIs nelfinavir and lopinavir. The LD50 values for nelfinavir and lopinavir were 8.6 and 10.6, respectively, after only 4 h of drug contact. At the LD50/4h doses, both HIV-PIs induced a significant reduction in trypomastigote size and a marked increase in granularity/complexity. Transmission electron microscopy analysis associated to biochemical assays permitted definition of the main HIV-PIs targets in the parasite. Lopinavir and nelfinavir induced (i) plasma membrane shedding, especially in the flagellar region, which drastically affected parasite integrity; (ii) strong mitochondrial swelling with rare matrix fragmentation, which were linked to severe reduction of the hydrolytic activity of dehydrogenases and organelle membrane depolarization; (iii) the increase in the generation of reactive oxygen species (ROS); (iv) dilation of both nuclear envelope (without DNA disruption) and endoplasmic reticulum (with also formation of autophagosomes), and (v) accumulation of intracellular lipid droplets, revealing a typical lipid metabolism disorder. In addition, nelfinavir and lopinavir were also capable of significantly inhibiting the aspartic peptidase and proteasome activities measured in trypomastigote extracts. Particularly, nelfinavir also reduced the cruzipain-like activity present in trypomastigotes extracts. Collectively, our study demonstrated that nelfinavir and lopinavir target vital cellular structures of trypomastigotes, culminating in irreversible metabolic injuries that lead to *T. cruzi* death.

This work was supported by grants from FAPERJ, CNPq, CAPES and FIOCRUZ.



JU204

***Salmonella*-specific transcriptional regulators affecting biofilm formation**

María Laura Echarren¹, Gonzalo Tulin¹, Luisina Vitor-Horen¹, Nicolás Figueroa¹, **Fernando Soncini**¹. ⁽¹⁾ Microbiología, Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, CONICET-Universidad Nacional de Rosario, Rosario, AR

Salmonellosis is among the most common foodborne diseases, with millions of human infections occurring worldwide every year. A key aspect of *Salmonella*'s life cycle that contributes to its high prevalence is its ability to form biofilms, bacterial communities embedded in a self-produced extracellular matrix that allows them to adhere to each other and to diverse surfaces. This multicellular behavior facilitates persistence and transmission between hosts, and survival in the environment. In *Salmonella*, the extracellular matrix is composed mainly by cellulose and curli fimbriae whose synthesis are controlled at transcriptional level through the expression of its master regulator, CsgD. Expression of this transcriptional activator is in turn finely regulated by several transcription factors that integrate different environmental signals. We identified *Salmonella*-specific genes coding for transcription factors, that, according to *in silico* analysis, could participate in the control of biofilm-formation. Overexpression of these genes in different genetic backgrounds provoked marked differences in the characteristic *Salmonella* biofilm morphotypes, as well as on the expression of *csgD*, determined by the use of chromosomal reporter fusions to *lacZ*. Our results demonstrate that under specific conditions these *Salmonella* transcription factors affect biofilm-formation by either controlling the induction of the Csg regulon or the switch between planktonic and sessile lifestyles. In addition, we determined an increase in their expression under infection relevant conditions, allowing us to postulate them as link between the biofilm formation and *Salmonella* pathogenesis.



JU205

Comunicación mediante *quorum sensing* entre *Bifidobacterium dentium* y *Lactobacillus casei*, dos microorganismos de la biopelícula dental

Viviana Del Pilar Toledo¹, Naomi Riquelme¹, Andrea Cortes¹, Carla Lozano¹, Claudia Lefimil¹. ⁽¹⁾ Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL

Introducción. La caries dental es una patología de alta prevalencia en humanos, asociada a la presencia de una organizada biopelícula de características acidogénica y acidúrica, de la cual *L. casei* y *B. dentium* son parte. Ambas especies han sido consistentemente aisladas desde biopelículas de lesiones de caries profundas. En las biopelículas, los microorganismos pueden interactuar y comunicarse a través de *quorum sensing*, que lleva a la síntesis, excreción y posterior detección de moléculas señal, para efectuar respuestas multicelulares coordinadas, intra e interespecies. En nuestro laboratorio describimos la presencia de *quorum sensing* mediado por autoinductor-2 (AI-2) en *L. casei* ATCC 4646 y *B. dentium* ATCC 27534, producido por la enzima LuxS, determinando en cada caso su papel en regulación de adherencia y formación de biopelículas. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de autoinductor-2 producido por *B. dentium* sobre adherencia y formación de biopelículas de *L. casei*. **Metodología.** Para adherencia, *L. casei* ATCC 4646 fue mezclado con saliva, agregado a placas de poliestireno, y cultivado por 16 horas, incorporando sobrenadantes libres de células (SLC) de cultivos de *B. dentium* ATCC 27534 que contenían AI-2. AI-2 sintetizado químicamente en diferentes concentraciones, se utilizó como control positivo. La adherencia fue determinada mediante el ensayo MTT. Para ensayo de biopelículas, cubreobjetos embebidos en saliva fueron cultivados en las mismas condiciones del ensayo de adherencia, por 5 y 7 días, y la formación de biopelículas se observó mediante SEM (JSM-IT300). **Resultados.** *L. casei* ATCC 4646 muestra baja adherencia a las 16 horas, que se incrementa significativamente en presencia de AI-2 químicamente sintetizado. Se observó un aumento de adherencia de *L. casei* ATCC 27534 en presencia de SLC de *B. dentium*. En cuanto a formación de biopelículas de *L. casei* ATCC 4646, AI-2 y SLC fueron capaces de incrementar la formación de biopelículas, observándose también un aumento en la secreción de exopolisacáridos por parte de las células adheridas a la matriz en estas condiciones. **Conclusión.** *B. dentium* es capaz de ejercer un efecto positivo sobre la adherencia y formación de biopelículas de *L. casei* ATCC 4646, probablemente por inducción de la síntesis de exopolisacáridos.

FONDECYT 11150928

JU206

Actividad antibacteriana y antibiofilm de nanopartículas de plata biosintetizadas con extracto acuoso de *Bothriochloa laguroides* contra cepas de *Yersinia enterocolitica*

Araceli Toranzo¹, Paulina L Páez², Cecilia Lucero Estrada³. ⁽¹⁾ FQByF, IMIBIO - SL, CONICET, Universidad Nacional de San Luis, San Luis, AR ⁽²⁾ FCQ, UNITEFA - CONICET, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, AR ⁽³⁾ FQByF, IMIBIO-SL, CONICET, Universidad Nacional de San Luis, San Luis, AR

Los *biofilms* son acumulaciones de células bacterianas rodeadas principalmente por polisacáridos que protegen a las bacterias involucradas de múltiples condiciones ambientales adversas, aumentando su resistencia contra el tratamiento antimicrobiano clásico; por lo tanto, es importante buscar alternativas para luchar contra ellos. *Yersinia enterocolitica* es un enteropatógeno humano transmitido por alimentos que causa principalmente gastroenteritis. Esta especie se clasifica en 6 biotipos (B) y más de 57 serotipos (O). Debido a que las nanopartículas han demostrado actividad antimicrobiana, el desarrollo de nuevas aplicaciones en este campo las convierte en una alternativa atractiva a los antibióticos. Los objetivos de este trabajo fueron determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) y Concentración Bactericida Mínima (CBM) en células planctónicas y la capacidad de inhibir la formación de biofilms en cepas de *Y. enterocolitica*. Se utilizaron cuatro cepas de diferentes bio-serotipos: *Y. enterocolitica* 1B/O:8 (8081), *Y. enterocolitica* 2/O:9 (CLA138), *Y. enterocolitica* 1A/O:5 (ME102 y ME110). La CIM y CBM se determinaron mediante la técnica de microdilución en caldo Mueller Hinton (MH) de acuerdo con las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). La concentración inhibitoria mínima del *biofilm* (CIMB) se determinó mediante la técnica de cristal violeta en caldo tripticase de soja suplementado con 0,25% glucosa (TSBG). Se realizaron diluciones seriadas a 1/2 de las nanopartículas de plata (AgNPs) en placas de 96 pocillos de poliestireno (PE) y se añadió el inóculo a una DO610 final de 0,05. Se incubó durante 24 horas a 25°C. Los valores de CIM fueron de 1/1024 y 1/256 para las cepas B1A/O:5 (ME102 y ME110, respectivamente) y de 1/256 para las cepas 1B/O:8 (8081) y 2/O:9 (CLA138); mientras que los valores de CBM fueron de 1/512 para ME 102, 1/256 para ME 110 y 8081, mientras que para CLA138 fue de 1/128. La CIMB fue de 1/32 para las cuatro cepas estudiadas. Los resultados sugieren que las AgNPs inhiben tanto células planctónicas como sésiles de las cepas ensayadas. Sin embargo, se necesita una mayor concentración para inhibir la formación de biofilm. Las AgNPs mostraron una buena actividad antibacteriana, por lo que en el futuro podrían utilizarse como agentes antimicrobianos.



JU207

The P-type ATPase CtpH is involved in the efflux of calcium across the *Mycobacterium tuberculosis* plasma membrane

Milena Maya Hoyos¹, Eliana Castillo¹, Carlos Yesid Soto Ospina¹. ⁽¹⁾ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, CO

Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by the acid-fast bacillus *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). According to the World Health Organization (WHO), *Mtb* produced 10.4 million new cases and 1.3 million of deaths in 2016. The incidence of TB has increased due to the existence of multidrug- and – extensively resistant (MDR and XDR) mycobacterial strains, coinfection with HIV and the limited efficacy of the *Bacillus Calmette–Guérin* (BCG) vaccine. The identification of alternative targets involved in the viability of *Mtb* are key for the design of attenuated mutants. Some studies have suggested the importance of membrane proteins in the viability of the tubercle bacilli. Specifically, the deletion of P-type ATPases leads to the imbalance in the transport of cations across the *Mtb* plasma membrane, affecting their virulence, persistence and response to toxic substances from the intrafagosomal environment. In the present work, a mutant of *Mtb* defective in *ctpH* gene (*DctpH*) was constructed and genotypically characterized. Bioinformatics predictions indicate that CtpH is an alkaline/alkaline earth metal transporter across the plasma membrane. Metal accumulation experiments using atomic absorption spectroscopy in whole cells showed that the deletion of *ctpH*, produces 8-fold more calcium (Ca^{2+}) accumulation in the mutant compared with wild-type cells, suggesting that CtpH is a possible pump related to the efflux of (Ca^{2+}) in *Mtb*. The virulence of *DctpH* needs to be evaluated to have an insight of the possible implication of CtpH in the *Mtb* infection process.

This work was supported by Colciencias (Grant 110171250419). Milena Maya Hoyos is a fellow of the National Doctoral Program, 645-2014, Colciencias, Colombia



JU208

Characterization of type IV pili in *Klebsiella pneumoniae* strains from neonatal sepsis

Cesar Israel Lopez Reynoso¹, María Cristina Gonzalez Vazquez², Patricia Lozano Zarain², **Claudia Fabiola Martinez De La Peña**². ⁽¹⁾ Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas/Maestría en Microbiología, Instituto de Ciencias, Benemertita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, MX ⁽²⁾ Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, Benemertita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, MX

Bacteria are endowed with a wide repertoire of filamentous structures on their surface. The type IV pili (T4P) is an exceptional example since they are used in various functions ranging from adherence, aggregation, DNA uptake, twitching motility, bacteriophages uptake and electrical conductance. T4P are formed by pilin proteins, a basal body composed of inner membrane proteins, two ATPases, and a porin. *Klebsiella pneumoniae* has been considered a non-motile bacterium, however, our lab characterized strains that present motility mediated by flagellum that was identified by electron microscopy. In the same micrographs we also observed putative T4P structures. Therefore, in the present work, we are investigating if clinical *Klebsiella pneumoniae* strains are capable to express a functional T4P. In the present work, we identified the pilin gene (*pilA*) by PCR on 26 *K. pneumoniae* strains isolated from neonatal sepsis. In order to identify if the T4P is involved in the twitching motility, we tested it on three different agar media (2%), Luria-Bertani, brain-heart infusion and blood agar. We also incubated at different times (24, 48, 72 and 96 hr) and temperatures (30 and 37°C). Our results showed a greater motility on BHI plates at 37°C and after 96 hours of incubation, observing the characteristic twitching phenotype. To know if there is a relationship between the twitching phenotype and the expression of T4P, qRT-PCR was performed to quantify the expression levels of the pilin. For this purpose, we extracted RNA from the cells of the motility halos every 24 hours until reaching 96 hours of incubation. The RNA was used to obtain the cDNA that will be used in the relative quantification of the pilin gene.

Conacyt, VIEP-BUAP



JU209

Evaluation of immunological effects in the model murino of food allergy treated with *Bifidobacterium longum* 51A

Spencer Silva Santos¹, Denise Carmona Cara², Jacques Robert Nicoli³, Flaviano dos Santos Martins¹. ⁽¹⁾ Department Microbiology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, BR ⁽²⁾ Department Morphology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, BR ⁽³⁾ Department Microbiology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, BR

Food allergy is defined as an adverse reaction to a food antigen fundamentally mediated by immunological mechanisms and with a substantial negative impact on the quality of life of the patient. This is a nutritional problem which number of cases increased in the last decades, probably due to higher exposure of the population to a greater number of food allergens. The objective of this study was to evaluate a possible probiotic effect of *Bifidobacterium longum* 51A (BL51A) against food allergy to ovalbumin (OVA) induced in mice. When daily administered to OVA-sensitized animals at an oral dose of 1×10^8 CFU/mL, BL51A prevented the loss of body weight and reduced the serum levels of anti-OVA IgE, sIgA and the recruitment of eosinophils and neutrophils in the intestinal mucosa observed in control mice when fed an OVA-containing diet. Additionally, treatment with BL51A reduced serum levels of pro-inflammatory cytokines (TNF, IL-4, IL-5, and IL-13) and increased those of anti-inflammatory cytokine (IL-10). These results demonstrate that treatment with BL51A had positive effects on experimental food allergy. The mechanisms by which the bacterium acts will be investigated.

CAPES

CNPq



JU210

Factores sociodemográficos y su relación con enteroparásitos en escolares de la Institución Educativa N°1227 en una zona rural Este de Lima, Perú

Miguel Otiniano¹, Salomon Huancahuire¹, Pool Marcos¹, Janeth Chávez¹, Roger Albornoz¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Escuela de Medicina Humana, Universidad Peruana Unión, Lima, PE

Introducción: Globalmente cerca de 1500 millones de personas (24% de la población mundial) están infectadas por geohelminths. Más de 267 millones de niños en edad preescolar y más de 568 millones en edad escolar viven en zonas con intensa transmisión de esos parásitos y necesitan tratamiento e intervenciones preventivas. Las enteroparasitosis en el Perú son muy constantes siendo la región amazónica la zona de mayor prevalencia, seguido de la costa y de la sierra respectivamente. En estudios realizados de parasitismo escolar en la costa peruana predomina el departamento de Lima como la zona de mayor incidencia, prevaleciendo los niños de 2 a 10 años como el grupo etario más vulnerable para infectarse con enteroparásitos. **Objetivo:** Determinar la relación de los factores sociodemográficos con enteroparásitos en escolares de una institución educativa de la zona rural Este de Lima. **Material y métodos:** Investigación de enfoque cuantitativo, diseño no experimental, corte transversal y tipo correlacional. Para la recolección de datos sobre la parasitosis se empleó el examen coproparasitológico directo y el test de Graham, con análisis seriado de tres muestras fecales por niño, correspondiente a 55 estudiantes del primero al sexto grado del nivel primario de la institución educativa N° 1227 de Cajamarquilla, Lurigancho Chosica, Lima y para la obtención de los datos sociodemográficos se empleó una encuesta epidemiológica que fueron llenados por los apoderados de los escolares. Se analizaron los datos mediante el programa estadístico SPSS v.24.0, utilizando la prueba Chi Cuadrado para la correlación de las variables con una significancia de 0,05 y 95% de confianza. **Resultados:** De 55 niños examinados se encontró un 27,3% de infección enteroparasitológica, siendo los más prevalentes *Giardia lamblia* (10,9%), *Entamoeba coli* (9,1%) y *Trichuris trichiura* (1,8%). Asimismo, al análisis inferencial de las variables en estudio, se comprobó que existe relación significativa entre los factores tenencia de mascotas ($p=0,023$) y tipo de agua para el consumo ($p=0,010$) con la presencia de enteroparásitos en escolares. **Conclusiones:** Los resultados obtenidos registran una mediana prevalencia de enteroparasitismo en escolares de la zona rural, indicando una correlación significativa para los factores tipo de agua para el consumo y tenencia de mascotas.

Agradecimiento

A la Escuela Profesional de Medicina Humana por la ayuda económica parcial en la realización de la investigación y por el uso del Laboratorio de Microbiología y Parasitología.



JU211

HSV-1 hijacks erad machinery to increase its viral replication

Carola Otth¹, Marukel Salamin¹, Evelyn Mancilla¹, Paula Salazar¹, Cinthia Mella¹, Burgos Patricia V^{1,2,3} ⁽¹⁾ Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL ⁽²⁾ Center for Cell Biology and Biomedicine (CEBICEM), School of Sciences and School of Medicine, Facultad de Medicina, Universidad San Sebastián, Valdivia, CL ⁽³⁾ Center for Aging and Regeneration (CARE), Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile

During viral infection the protein synthesis is highly increased at the endoplasmic reticulum (ER), condition that in some cases trigger ER stress responses by the accumulation of misfolded proteins. Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) is a neurotropic virus that causes a latent persistent infection in humans. It has been shown that during productive infection HSV-1 triggers ER stress through the inhibition of IRE1/XBP1 signal pathway; however, the impact of HSV-1 infection on ERAD machinery and HSV-1 viral replication efficiency is yet unknown. The aim of this study was to investigate the impact of HSV-1 infection on ERAD function. We studied EDEM1, one crucial ER luminal lectin that participate in the recognition and delivery of misfolded glycoproteins through ERAD. First, we found that HSV-1 infection decreases the levels of EDEM1 protein in different cell types. RT-PCR and immunoblotting analysis showed that such reduction was due to a post-transcriptional mechanism. To investigate whether reduction in EDEM1 levels could have an impact in HSV-1 viral production, we performed TCID50 assay of human neuroglioma cells (H4) stably expressing either a shRNA to luciferase or EDEM1 shRNA infected with HSV-1. Our results showed a significant increase in HSV-1 viral replication efficiency when EDEM1 protein levels were reduced, strongly indicating that ERAD activity plays a crucial role to avoid HSV-1 replication. Altogether, this study elucidated the contribution of ERAD function as a crucial pathway to prevent HSV-1 replication, and identified EDEM1 as a key protein hijacked by HSV-1 to favor its own replication.

FONDECYT 1180936; FONDECYT 1171649

JU212

Excision of ROD21 plays a role during *Salmonella enterica* serovar Enteritidis infection and is required to cross the epithelial barrier

Catalina Pardo-Roa¹, Geraldine A Salazar¹, Loreani Noguera¹, Francisco J. Salazar-Echagarai¹, Omar P. Vallejos¹, Isidora Suazo¹, Susan M. Bueno¹. ⁽¹⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy; Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL

Introduction: Pathogenicity islands excision is a mechanism that occurs in several *Enterobacteriaceae* family members, including *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovars. ROD21 is an excisable PAI present in the chromosome of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, Gallinarum, Dublin, and Typhi. It has been described that excision of ROD21 may play an important role in the ability of *S. Enteritidis* to cause systemic infection in the murine model because strains unable to excise ROD21 show a reduced ability to colonize the liver and the spleen of mice. **Hypothesis:** We hypothesize that the frequency of ROD21 excision changes across the infective cycle in mice, modulating bacteria gene expression. **Objectives:** 1. To determine the kinetics of ROD21 excision *in vivo* across the stages of the infective cycle performed by *S. Enteritidis* in C57BL/6 mice. 2. To evaluate the importance of ROD21 excision in *Salmonella* gene expression. **Methods:** C57BL/6 mice were intragastrically infected with *S. Enteritidis* WT or with a mutant strain unable to excise ROD21. After different times post-infection, bacterial load, excision frequency and the expression of genes within ROD21 and in other pathogenicity islands were quantified in different portions of the digestive tract and internal organs. **Results:** We observed that the frequency of ROD21 excision is significantly increased in bacterial population colonizing mesenteric lymph node at early stages of the infective cycle. In contrast, excision frequency remains very low in the liver and spleen at these early stages but increases drastically at late times post-infection when intestinal re-infection and mortality start to happen. Importantly, we observed that the inability to excise ROD21 affects the translocation of *S. Enteritidis* from the intestine to the mesenteric lymph node, due to a defect in its capacity to invade host cells. Furthermore, the assays showed that impairment to excise ROD21 can affect the expression of genes located both within and outside the island. **Conclusions:** Our results suggest that the excision of ROD21 is a genetic mechanism employed by *S. Enteritidis* to regulate the expression of virulence genes, in order to adapt to the conditions found in different tissues and to produce a successful systemic infection in the mouse.

FONDECYT 1170964 and 1140010, Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy P09/016-F from ICM and Beca de Doctorado Nacional CONICYT 21140169

JU213

Inhibición de la apoptosis en células CHSE-214 por la proteína VP5 del virus de la necrosis pancreática infecciosa: rol de la proteína quinasa C

Gardenia Payne¹, Fernanda Fredericksen¹, Nicolás Maldonado¹, Melina Villalba¹, Víctor Olavarría¹. ⁽¹⁾Virología Molecular, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL

El virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) es el agente etiológico de una enfermedad de distribución mundial que provoca severas pérdidas económicas en varias especies de peces, principalmente en salmónidos jóvenes. Su genoma consiste en dos segmentos de ARN bicatenarios lineales que codifican cinco proteínas virales que se denotan como VP 1-5. Particularmente, VP5 es una proteína no estructural que se produce en pequeñas cantidades solo en células infectadas y cuya función continúa siendo incierta. Esta molécula presenta dominios de homología con la familia de proteínas Bcl-2 inhibiendo la apoptosis durante la replicación temprana de IPNV. El uso de la bioinformática estructural identificó, potenciales motivos expuestos de reconocimiento de la familia de quinasas serina/treonina PKC. En este contexto, el objetivo de este estudio fue evaluar la contribución de la interacción entre VP5 y PKC a la señalización apoptótica inducida por la infección con IPNV *in vitro*. Las células CHSE-214 fueron transfectadas con diferentes concentraciones del plásmido pCMV-HA-VP5 y tratadas con calphostina C, un potente inhibidor de PKC. La técnica RT-qPCR se usó para evaluar los niveles de expresión de VP5. La supervivencia celular se monitoreó a través de ensayo del MTT y la actividad apoptótica inducida por los distintos tratamientos se evaluó mediante la cuantificación de la actividad de la Caspasa-3. La utilización de calphostina-C, evitó la fosforilación e interacción de VP5-PKC en las células transfectadas. Adicionalmente, el nivel de apoptosis intrínseca inducida disminuyó de forma significativa conforme se generó el dímero VP5-PKC, por el contrario, un resultado inverso se obtuvo cuando los motivos de reconocimiento de PKC en VP5 fueron modificados. Nuestros datos sugieren que la putativa unión de VP5 a PKC puede ser responsable, en parte, de la disminución de la apoptosis observada en etapas tempranas durante la infección por IPNV.

JU214

Examination of the effects of *Vibrio parahaemolyticus* Zonula Occludens Toxin on intestinal epithelial cells

Diliana Celeste Pérez¹, Sebastián Ramírez², Nicolás Plaza¹, Carlos J. Blondel¹, Guillermo Wise¹, Gino Corsini¹, Víctor Jaña³, Katherine García¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigación Biomédica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago de Chile, CL ⁽²⁾ Departamento Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás, Santiago de Chile, CL ⁽³⁾ Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Universidad de Las Américas, Santiago de Chile, CL

Vibrio parahaemolyticus pathogenic strains have a large arsenal of virulence factors of which the TDH and TRH toxins and the Type III Secretion System-2 (T3SS2) are the most important. However, diarrhea cases associated with strains lacking these classical virulence factors have been reported in many countries suggesting that cytotoxicity and enterotoxicity of non-toxicogenic *V. parahaemolyticus* are not explained by classic virulence factors alone and suggest that novel virulence factor(s) could be responsible for their pathogenicity. One of such potential virulence factor is *V. parahaemolyticus* zonula occludens toxin (Zot), which was first described in *Vibrio cholerae* and is encoded in the CTX prophage. Zot increases the intestinal epithelial permeability by interaction with the cellular receptor of *zonulin*. Its action is mediated by a cascade of intracellular events leading to the disassembly of the intercellular tight junctions (tj). PMC 53.7, a clinical *tdh/trh/T3SS2*/negative strain, harbored a prophage-related element encoding a gene related to Zot. In this work we characterized the Zot toxin in the PMC 53.7 clinical strain of *V. parahaemolyticus* and their effects on intestinal epithelial barrier. PMC 53.7 *zot* gen was cloned and expressed in *Escherichia coli* BL21(DE3) and the effects on intestinal epithelial barrier were examined using Caco-2 cell model. Phase contrast microscopy analysis of Zot effect on Caco-2 morphology, distribution of the tj transmembrane-associated protein occludin and the perijunctional actin ring were made for monolayers of Caco-2 cells. Following treatment with Zot, the cell morphology and the distributions of occludin and F-actin were modified, seen as fragmentation of the brightly cell boundaries, with areas of low and high intensity, indicating a loss and redistribution of the tj associated proteins. The results from this study suggest that *V. parahaemolyticus* Zot may have detrimental effects in the paracellular pathway.

FONDECYT de Inicio 11140257 y 11160901

Proyecto RED170269

Proyecto UDLA PI2018026

Vía fagocítica de macrófago murino infectado con esporas de *Clostridium difficile* R20291

Rodrigo R Reyes¹, Carolina Otero², Daniel Paredes-Sabja³. ⁽¹⁾ Microbiota-Host Interactions and Clostridia Research Group, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL ⁽²⁾ Center for Integrative Medicine and Innovative Science (cimis), Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL ⁽³⁾ Microbiota-Host Interactions and Clostridia Research Group, Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL

Clostridium difficile (*C. difficile*) es un patógeno bacteriano, el cual es la principal causa de infecciones nosocomiales asociada a la atención de la salud y es responsable de ~ 20% de diarreas asociadas a antibióticos. En un cuadro de infección asociado a *C. difficile* (IACD), *C. difficile* secreta dos toxinas principales, TcdA y TcdB produciendo daño al epitelio intestinal gatillando la producción de mediadores de la inflamación que sirven como quimioattractantes de los neutrófilos y células fagocíticas. Finalmente, durante el ciclo infeccioso, *C. difficile* comienza a producir esporas, las cuales son su morfotipo de transmisión y persistencia. Estudios previos han demostrado que las esporas de *C. difficile* son fagocitadas, sobreviven al ataque de los macrófagos y produce citotoxicidad en estos a las 48 horas post-infección (p.i). Sin embargo, una vez dentro del fagosoma, se desconoce su destino intracelular. En este trabajo nosotros mostramos que al realizar una cinética de fagocitosis, la espora de *C. difficile* alcanza un porcentaje de fagocitosis máximo de un ~20% después de 60 minutos p.i. de los macrófagos. Además, los fagosomas que contienen esporas de *C. difficile* se asocian con Rab5 observándose un porcentaje de asociación máximo (p.a.m) de ~11% a los 5 min p.i. y con EEA1 observándose un p.a.m. de ~6% a los 20 min p.i. Los cuales difieren de los p.a.m. observados para fagosomas que contienen *E.coli* los cuales fueron ~21% para Rab5 a los 20 min p.i. y ~29% para EEA1 a los 5 min p.i. Por último, los fagosomas que contienen esporas de *C. difficile* se asociaron con Lamp1 observándose su máximo porcentaje de asociación de ~11% a los 60 minutos p.i., significativamente menor a los ~34% de p.a.m. de fagosomas que contienen *E. coli* 60 min p.i. Si bien se observó que los marcadores se asociaron tanto a fagosomas que contienen esporas de *C. difficile* o *E.coli* en macrófago, el porcentaje de asociación de estos marcadores tuvieron diferencias significativas y presentaron temporalidades diferentes. Estos resultados sugieren que los fagosomas que contienen esporas de *C. difficile* podrían estar madurando de manera más tardía que lo observado por fagosomas que contienen *E.coli*.

FONDECYT Regular 1151025

JU216

Chemical signaling during O104:H4 *Escherichia coli* pathogenesis

Ribeiro Tamara RM¹, Lustru Bruna C¹, Elias Waldir P², Moreira Cristiano G¹. ⁽¹⁾ Biological Sciences, School of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University - UNESP, Araraquara, BR ⁽²⁾ Bacteriology Laboratory, Butantan Institute, São Paulo, BR

Enteraggregative *Escherichia coli* O104:H4 Stx⁺ has caused a major diarrheagenic hemolytic-uremic syndrome (HUS) outbreak in Europe in 2011. Specifically, the C227-11 O104:H4 strain produces Shiga toxin (Stx2a subtype), also found in enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7 serotype, a deadly combination for humans. The two-component system QseBC is closely related to expression of virulence genes in *Enterobacteriaceae*. The chemical signaling here occurs via Autoinducer-3/Epinephrine/Norepinephrine employing the QseC sensor kinase, as previously described by our group. The VisP periplasmic protein is a pleiotropic function player during chemical signal and virulence of different pathogenic *E. coli* strains. A novel compound described by our group, the LED209, blocks the QseBC signaling pathway by directly affecting virulence in Gram-negative pathogens. Therefore, this study aimed to investigate the chemical signaling virulence in EAEC O104:H4 C227-11 (Stx2a+) and EAEC O104:H4 BA3826 (Stx-) *in vivo*. Orally infected C57BL/6 mice with both O104:H4 Stx⁺ and Stx⁻ upon LED209 treatment have shown distinct colonization during infection period of 14 days pi and *in vivo* expression levels of *qseC* and *visP* genes. The *qseC* overexpression was observed in throughout *in vivo* experiment, both in the presence and absence of Stx. It was 3.8-fold higher by C227-11 at day 5 and 9.5-fold for the BA3826 strain. Noteworthy, the *qseC* expression reduction at day 14 in the absence of Stx, thus the BA3826 strain, with approximately 1-fold decrease. The *visP* expression was highly upregulated in the presence of LED209 in the C227-11 strain between day 3-14 pi has peaked at 30-fold increase. Moreover, the BA3826 strain has shown higher levels of *visP* expression, specifically at day 5 pi, but much lower in comparison to the C227-11 strain. To date, the VisP important role in enteric bacterial stress response seems accentuated upon LED209 *in vivo* treatment. The QseC may trigger alternative mechanisms of intestinal colonization, bacterial survival and overexpression of important chemical signaling players. Herein, we highlighted the importance of QseC in the O104:H4 (Stx⁺) outbreak strain during colonization *in vivo* and in the presence of a promising anti-virulence drug to intestinal pathogens.

FAPESP (2014/06779-2) and CAPES.

JU217

Avaliação da produção de citocinas pró e anti-inflamatórias em pacientes com Hepatite B aguda e crônica

Ribeiro Camilla Rodrigues¹, Mello Vinícius Da Motta², Baptista Bruna Da Silva², Dias Natália Spitz Tole¹, Pinto Luzia Maria Oliveira³, Paiva Iury Amancio³, Lia Laura Lewis-Ximenez², De Paula Vanessa Salete¹. ⁽¹⁾ Instituto Oswaldo Cruz - IOC, Laboratório de Virologia Molecular, Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz, Rio de Janeiro, BR ⁽²⁾ Instituto Oswaldo Cruz - IOC, Ambulatório de Hepatites Virais, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, BR ⁽³⁾ Instituto Oswaldo Cruz - IOC, Laboratório de Imunologia Viral, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, BR

O vírus da hepatite B (HBV) é uma das principais causas de hepatite aguda e crônica representando uma séria ameaça à saúde pública, estima-se que mais de 2 bilhões de pessoas já tenham sido infectadas mundialmente. Sabe-se que as citocinas são importantes mediadores químicos que regulam a diferenciação e proliferação de células imunitárias, coordenando, assim, as respostas e a progressão das doenças inflamatórias. O objetivo deste estudo foi investigar a produção de citocinas pró e anti-inflamatórias (IL-35, IL 6, IL-17A, IFN- γ) em pacientes com hepatite B aguda e crônica e verificar se existe associação entre a produção dessas citocinas com a carga viral e os genótipos do vírus. Foram avaliadas 57 amostras de pacientes, sendo 23 com infecção aguda e 34 com infecção crônica. Todas as amostras incluídas no estudo foram testadas para a presença do DNA do HBV por PCR em tempo real e *nested*-PCR, as amostras positivas foram purificadas, sequenciadas e genotipadas para construção da árvore filogenética. Foi realizada a detecção das citocinas IL-35, IL-6, IL-17A, IFN- γ por ELISA. O DNA do HBV foi detectado por PCR em tempo real em 93% (53/57) das amostras, sendo a média do Log quantitativo para os agudos de 4,48 e para os crônicos de 2,81. Em relação a distribuição dos genótipos, 82% dos indivíduos com infecção aguda para o HBV pertenciam ao genótipo A e 18% ao genótipo F. O perfil crônico foi o que apresentou maior diversidade de genótipos, sendo 80% das amostras do genótipo A, 7% do genótipo D, 7% do genótipo E e 6% do genótipo F. Na avaliação das citocinas não foi encontrada correlação entre os genótipos e a produção das mesmas. Foi observado que os níveis plasmáticos de IFN- γ e IL-17A foram maiores nos pacientes crônicos comparado aos agudos, foi observada uma correlação positiva entre os valores da carga viral e as taxas de IL-17A ($p=0.045$) e de IFN- γ ($p=0.023$) em ambos os grupos. Os níveis de IL-6 ($p=0,052$) foram maiores nos agudos comparados aos crônicos. Em contraste com a literatura para o HBV, os níveis de IL-35 foram maiores nos pacientes agudos em relação aos crônicos.

IOC - Fiocruz

JU218

Evaluation of the cellular immune response in peripheral blood of patients with Influenza A

Natalia Ross-Torres¹, Tamara García-Salum^{1,2}, Catalina Infante¹, Rafael A Medina^{1,2,3}. ⁽¹⁾ Laboratory of Molecular Virology, Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ Department of Microbiology, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, USA, New York, US

Influenza A virus (IAV) is the etiological agent of influenza in humans. It may cause significant respiratory disease that affects a large number of people in the world every year, causing seasonal epidemics and sometimes pandemics. The disease caused by the virus starts as a common cold, which can evolve to complications that trigger systemic failure and eventually death. The severity of the disease will depend on both viral and host factors, being the most susceptible individuals those who present extreme ages, pregnancy, immunosuppression and certain comorbidities. The infection begins when the virus infects the epithelial and immune cells present in the respiratory tract, activating the innate and adaptive immune response, where type I Interferon is the main mediator of the antiviral response, meanwhile the effector cells like NK and T Lymphocytes mediate the viral clearance, eliminating the infected cells. In this work, to determine the relationship between the immune response of IAV infected patients and the severity of the disease, we recruited IAV (+) patients and classified them as severe and non-severe, according to their clinical evolution. We evaluated the genetic predisposition to express the antiviral cytokine IL-28B by measuring the single nucleotide polymorphisms (SNPs) rs12979860 and rs8099917, and the frequency of effector populations from peripheral blood mononuclear cells (PBMC). Until now, our results show the severe patient group is composed of a higher frequency of individuals that carried the haplotype CC, associated with a higher expression of IL-28B. In addition, we considered 35 severe patients and 28 non-severe patients to evaluate the effector cells of the immune response, by measuring with Flow Cytometry the following surface markers; CD45 for leukocytes, CD3 for T lymphocytes, CD4 for T helper Lymphocytes, CD8 for cytotoxic T lymphocytes, CD20 for B Lymphocytes and CD16/CD56 for NK cells. Thus, it is expected to find a relationship between a low frequency of the effector cells and the severity of the disease. Finally, with these results we intend to demonstrate that there are differences in the innate and adaptive immune response of each individual, which are determining the severity of Influenza A virus infection.

FONDECYT 1121172, 1161791, and Proyecto ANILLO PIA ACT 1408 from CONICYT; ICM del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, grant P09/016-F and NIH-NIAID 1U19AI135972

JU219

Contribution of lipopolysaccharide in the virulence and intracellular survival of *Salmonella* Typhimurium in the amoeba *Dictyostelium discoideum*

Andrea V Sabag¹, Ítalo Urrutia¹, Bayron Labra¹, Camila Valenzuela¹, Sergio A Álvarez¹, Carlos A Santiviago¹. ⁽¹⁾Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL

Salmonella spends a substantial part of its life cycle in the environment living in close contact with predatory organisms that feed on bacteria, such as protozoa. Recently, we described that *S. Typhimurium* can survive intracellularly in the social amoeba *Dictyostelium discoideum*. In our laboratory, we performed a high-throughput analysis of mutants under negative selection to identify genes of *S. Typhimurium* required to survive in *D. discoideum*. Our results indicated that mutants of genes linked to lipopolysaccharide (LPS) biosynthesis and modification are required for the intracellular survival of *Salmonella* in this amoeba. To confirm these results, we constructed individual deletion mutants in selected LPS-associated genes (i.e., *waaL*, *wzz_{ST}*, *wzz_{fepe}* and *arnBCADTEF*) of *S. Typhimurium* 14028s by the Red-swap method. To evaluate the intracellular survival of these mutants, we performed competition assays infecting *D. discoideum* AX4 with a 1:1 mixture of each mutant and the wild-type strain for 1 h using a MOI of 100 bacteria/amoebae. After co-incubation, extracellular bacteria were killed by gentamicin treatment and intracellular bacteria were recovered at different times of infection (0, 3 and 6 h). To evaluate the role played by LPS in the virulence of *S. Typhimurium* in *D. discoideum*, we compared the effect of feeding *D. discoideum* with mutants in LPS genes or the wild-type strain on the social development of the amoeba. To do this, we cultured each strain on N agar at 23°C for 24h. Next, a defined amount of amoeba cells was deposited on top of each bacterial lawn and the progression of *D. discoideum* development was monitored during 4 days. Our results indicate that *S. Typhimurium* mutants $\Delta waaL$, Δwzz_{ST} and $\Delta arnBCADTEF$ are defective for intracellular survival in *D. discoideum*. In addition, preliminary data show that the Δwzz_{ST} mutant causes a less pronounced delay in the social development of the amoeba in comparison to the wild-type strain. Thus, our results highlights an important role for LPS in the virulence and intracellular survival of *S. Typhimurium* in *D. discoideum*.

Supported by FONDECYT grants 1140754 and 1171844, and CONICYT fellowships 22140758, 21140615 and 21150005

JU220

Rol de los efectores PphA y SteC de *Salmonella* Typhimurium en la manipulación de la autofagia en la ameba *Dictyostelium discoideum*

Beatriz E Salas¹, Ítalo M Urrutia¹, Sergio A Álvarez¹, Ricardo Escalante², Carlos A Santiviago¹. ⁽¹⁾ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Departamento de Modelos Experimentales de Enfermedades Humanas, Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, ES

Investigaciones recientes con la ameba *Dictyostelium discoideum* han demostrado que *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) puede sobrevivir intracelularmente dentro de este hospedero. A pesar de esto, los mecanismos moleculares involucrados en esta interacción no han sido dilucidados. Se ha reportado que *D. discoideum* puede usar la autofagia como mecanismo de defensa contra *Salmonella* y que a su vez esta bacteria puede manipular este proceso de manera de asegurar su supervivencia intracelular. Con el objetivo de reconocer posibles proteínas de *Salmonella* que pudieran modular la autofagia en *D. discoideum*, se caracterizaron los efectores PphA y SteC. PphA es una serina/treonina fosfatasa hipotética de *Salmonella*, mientras que SteC es una serina/treonina quinasa secretada a través del sistema de secreción T3SS-2. En primer lugar, se evaluó la expresión del gen *pphA* mediante ensayos de actividad β -galactosidasa en una cepa de *S. Typhimurium* que contiene el promotor de este gen fusionado al reportero *lacZ*. Adicionalmente, se evaluó la producción de PphA mediante su inmunodetección en cultivos de una cepa de *S. Typhimurium* que expresa la proteína fusionada al epítotope 3xFLAG. Nuestros resultados indican que *pphA* es transcrito activamente cuando la bacteria es cultivada a 37°C en medio rico (caldo LB). Además, bajo estas condiciones se produce la proteína de fusión PphA-3xFLAG. Por otro lado, con el fin de evaluar el rol de PphA y SteC en el control de la autofagia en *D. discoideum*, se realizaron ensayos de infección en una cepa de esta ameba que expresa el marcador autofágico GFP-Atg8. Las infecciones usando una cepa silvestre de *S. Typhimurium* y cepas mutantes $\Delta pphA$ y $\Delta steC$ fueron analizadas mediante microscopia confocal para cuantificar la cantidad de autofagosomas generados durante la infección. Observamos que las amebas infectadas con las mutantes $\Delta pphA$ y $\Delta steC$ presentan menos autofagosomas que aquellas infectadas con la cepa silvestre. En conjunto, nuestros resultados indican que la proteína PphA es expresada y producida por *S. Typhimurium*, y que tanto PphA como SteC están involucradas en la manipulación de la autofagia en *D. discoideum*.

Financiado por los proyectos FONDECYT 1140754 y 1171844, proyecto MINECO BFU2015-64440-P, las becas CONICYT 22151032 y 21150005, y una beca para pasantías en el extranjero de la Vicerrectoría de Asuntos Académicos, Universidad de Chile.

JU221

El hierro controla la expresión de genes de virulencia en *Shigella flexneri*

Juan C Salazar¹, Thomas Hagemann^{1,2}, Daniela Otárola¹, Claudia Lefimil³, Victor García¹, Cecilia Toro¹. ⁽¹⁾ Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Fac de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Programa de Doctorado, Eberhard Karls Universität, Tübingen, DE ⁽³⁾ Departamento de Ciencias Básicas y Comunitarias, Fac. de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL

El hierro es un micronutriente esencial para las bacterias, pero el exceso es tóxico. Por tanto es fundamental regular la homeostasis, proceso realizado por el regulador transcripcional Fur (*Ferric uptake regulator*), y un RNA pequeño, RyhB; ambos codificados en el cromosoma. *Shigella flexneri*, patógeno humano que provoca disentería bacilar, invade y se disemina en el epitelio intestinal utilizando proteínas codificadas en el plásmido de virulencia. La expresión de estos genes depende de condiciones ambientales -temperatura, osmolaridad, pH-, por reconocimiento específico de factores transcripcionales. La disponibilidad de hierro afecta la virulencia de la bacteria, la ausencia de Fur impide que *Shigella* invada células humanas en cultivo, así también RyhB regula directamente la transcripción del regulador transcripcional *virB* codificado en el plásmido de virulencia. Sin embargo, se desconoce el papel del hierro en la regulación de la expresión de otros genes. Mediante bioinformática detectamos posibles sitios de unión de Fur en regiones promotoras de varios genes de virulencia. Así, evaluamos el papel de Fur como regulador transcripcional de los genes *virF* e *icsA*, cuyos productos están involucrados en la patogenicidad de *Shigella*. Mediante genes reporteros se obtuvieron plásmidos recombinantes fusionando los promotores correspondientes al gen *lacZ*. Además, en el mismo plásmido se clonó el gen *fur* de *S. flexneri*, para los ensayos de complementación. Los resultados de actividad β -galactosidasa de extractos proteicos obtenidos desde *Escherichia coli* H1941 (Δfur) de ambas construcciones, muestran una disminución en la actividad enzimática en presencia de Fur. La presencia de hierro potenció el efecto de Fur puesto que la actividad β -galactosidasa disminuyó 41% y 20% para *virF* e *icsA*, respectivamente, cuando se compara con la actividad obtenida desde la cepa sin complementar. Mediante ensayos de retardo en la migración electroforética de los promotores analizados, se observó en ambos casos una retención sobre el 80% en presencia de Fur. Estos hallazgos constituyen una primera evidencia de la regulación por Fur y hierro de los genes *virF* e *icsA*, mediante interacción directa con la región promotora de ambos genes. Se discutirá el papel del hierro en la regulación del metabolismo y patogenicidad bacteriana.

JU222

La colonización eficiente de la superficie de hojas es un requisito previo para la acción de *Bacillus amyloliquefaciens* contra *Botrytis cinerea* en tomate

Ricardo Salvatierra¹, Michael Araya², Máximo González¹, Edgardo Jofré³, Alexandra Stoll¹. ⁽¹⁾ Microbiología Aplicada, Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas (CEAZA), La Serena, CL ⁽²⁾ Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Algas (CIDTA), Universidad Católica del Norte, Coquimbo, CL ⁽³⁾ Department of Natural Sciences, Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales, Universidad de Río Cuarto, Río Cuarto, AR

Bacillus spp. son los agentes de biocontrol (ABC) más estudiados. Esta capacidad, se atribuye principalmente a la producción de lipopéptidos (LPs) que actúan como moléculas antibióticas (antagonismo directo) y elicitores de respuesta inmune en las plantas (ISR), dando así menor importancia a otros rasgos bacterianos como la capacidad de colonización. Nosotros utilizando dos cepas ABC de *Bacillus amyloliquefaciens* (BBC023 y BBC047) evidenciamos que el control foliar de *Botrytis cinerea* en tomate no está determinado solo por el antagonismo directo. Mientras las 2 cepas mostraron una inhibición similar de *B. cinerea* en condiciones *in vitro*, la aplicación foliar de la cepa BBC047 mostró una mayor capacidad de biocontrol ($p < 0.05$). Por esto postulamos que la cepa BBC047 tiene mayor capacidad de colonización que la cepa BBC023. Primero establecimos la producción e importancia de los LPs en la acción sobre *B. cinerea*. Mediante UHPLC-MS se determinó que las cepas BBC023 y BBC047 producen LPs de las familias bacilomicinas, fengicinas y surfactinas, siendo las bacilomicinas y fengicinas claves para el antagonismo directo y las surfactinas para la ISR. La cepa BBC047 produce un 35% más surfactinas que la cepa BBC023. Sin embargo, esto no resulta en diferencias en la capacidad de inducción de ISR, sino en la motilidad, adherencia y estructuración de biopelículas, todos rasgos relacionados con la colonización. Finalmente realizamos ensayos de colonización en hojas de tomate. Los resultados fueron analizados mediante SEM y cuantificación de densidad poblacional. La cepa BBC047 logró densidades poblacionales significativamente superiores que la BBC023 a los 4 y 7 días. Así mismo, a los 7 días, en la cepa BBC047 se observaron comunidades tipo biopelículas en las uniones de paredes celulares, sostenidas por un entramado de material fibrilar extracelular. Esta estructuración de biopelículas no fue observada en la cepa BBC023. Los resultados obtenidos nos permiten concluir que la capacidad de colonización es clave para que las cepas de *Bacillus* puedan desplegar los modos de acción eficientemente por lo que este rasgo debería incluirse en los screening de cepas ABC.

CONICYT R16A10003, Beca de Doctorado Nacional CONICYT (RS, Folio N° 21140504) y al GORE de Coquimbo mediante proyecto FIC BIP 30137771-0.

JU223

Adesão e invasão de *Escherichia coli* obtidos de cabras com mastite antes e após o tratamento

Lima Magna C³, Lourenço Sanely Da C³, Albuquerque Jéssica L³, Paolicchi Fernando A¹, Da Costa Mateus M², Maria Aparecida Scatamburlo³. ⁽¹⁾ Grupo de Sanidad Animal, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuária (INTA), Balcarce, AR ⁽²⁾ Microbiologia, Zootecnia, Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Petrolina, BR ⁽³⁾ Veterinary, Veterinary, Universidade Federal de Viçosa

A mastite causada por *Escherichia coli* na espécie caprina não é comum, entretanto quando ocorre resultam em sinais clínicos severos. A adesão dos microrganismos nas células do hospedeiro é o primeiro passo para estabelecimento da infecção. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de adesão e invasão de *E. coli* obtidas de mastite caprina antes e após o tratamento com antimicrobiano. Foram utilizados dois isolados obtidos de cabras com mastite clínica antes do tratamento e dois isolados obtidos dos mesmos animais após o tratamento. Foi utilizada a linhagem de células epiteliais mamária bovina (MAC-T). No ensaio de adesão as células MAC-T ($\sim 1 \times 10^6$) foram infectadas com 1×10^7 UFC. Após 3 h de incubação a 37 ° C com 5% de CO₂, as células foram lavadas três vezes com PBS e separadas com uma solução de tripsina + EDTA (0,1% / 0,04%). Foi realizada diluição seriada e cada diluição plaqueada em ágar BHI. O ensaio de invasão foi semelhante da adesão com adição 1mL de DMEM suplementado com 5% de SFB e 100 µg de gentamicina em cada poço, para eliminar as bactérias aderidas extracelularmente, e a placa foi incubada novamente sob as mesmas condições durante uma hora. Os poços de controle positivo (*E. coli*) e os poços de controle negativos (células MAC-T). A adesão e invasão foi expressa como o número total de unidades formadoras de colônias (CFU/ml) recuperadas por poço nos respectivos momentos. Cada ensaio foi executado em duplicata e em triplicatas biológicas. A concentração bacteriana (1×10^7 UFC) utilizada nos ensaios de adesão e invasão não apresentou citotoxicidade. *E. coli* obtidas de cabras com mastite persistente (após o tratamento) apresentou poder de adesão e invasão duas vezes maior que *E. coli* isolada do mesmo animal com mastite clínica (antes do tratamento). Os dados sugerem que isolados de *E. coli* são capazes de aderir, invadir e sobreviver dentro de células epiteliais mamárias, evitando as defesas do hospedeiro, resultando na persistência da mastite.

CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais) e CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasília, Brasil).

JU224

***Salmonella* Typhimurium strains isolated from humans showed higher virulence than strains isolated from food in Brazil in the *Galleria mellonella* infection model**

Amanda Aparecida Seribelli¹, Paziani Mario Henrique¹, Medeiros Marta Inês Cazentini², Rodrigues Dália Prazeres³, Von Zeska Kress Marcia Regina¹, Falcão Juliana Pfrimer¹. ⁽¹⁾ Clinical Analyses, Toxicology and Food Science, School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto, University of São Paulo ⁽²⁾ Bacteriology, Adolfo Lutz Institute, Ribeirão Preto, BR ⁽³⁾ Bacteriology, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, BR

Salmonella enterica subsp. *enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) is one of the main foodborne enteropathogens in various countries, including Brazil. The virulence of this pathogen has been studied in mice, but there are few studies using an alternative infection model such as *Galleria mellonella*. *G. mellonella* larvae are easily grown in large numbers and have components of the innate immune response very similar to humans, formed by hemocytes and opsonins. The aim of this study was to analyze the virulence of *S. Typhimurium* strains in *G. mellonella* infection model. A total of 13 *S. Typhimurium* strains isolated from humans (7) and food (6) between 1983 and 2013 in Brazil were studied. Groups of 10 larvae were infected with each strain of *S. Typhimurium*. For artificial inoculation of each larva, 5 µl (100 UFC) were injected across center of the last right pro-leg with a Hamilton microliter syringe. After the inoculation, the larvae were incubated at 37°C, deprived of feed and direct illumination. The same was done for the negative control using PBS and for the positive control infected by *S. Typhimurium* ATCC 14028 strain. The larvae survival was scored daily for 7 days. Statistical analyses and graphics were performed by the Log-rank (Mantel-Cox) method in Prism 5 software (GraphPad®). The ATCC 14028 strain isolated from chicken and three strains, being two isolated from humans and one from food were highly virulent killing 100% of larvae during 7 days. Other four strains from humans showed an intermediary pattern killing 70 – 90% of the larvae in 7 days. However, four strains isolated from food and one from human were less virulent killing 10 – 20% until the end of the experiment. Finally, one strain isolated from food was avirulent. In conclusion, *G. mellonella* larvae showed to be a good alternative model of infection to study *S. Typhimurium* strains during various days revealing that *S. Typhimurium* strains isolated from humans showed a higher virulence than strains isolated from food in Brazil.

Sao Paulo Research Foundation (FAPESP) and Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES).



JU225

Expresión génica de citoquinas pro inflamatorias, proteínas de destrucción tisular y moléculas de superficie en queratinocitos infectados con los tres serotipos más prevalentes de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Rodrigo Soto¹, Daniel Betancur¹, Rolando Vernal², Angel Oñate¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Inmunología Molecular, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL ⁽²⁾ Laboratorio de Biología Periodontal, Ciencias Odontológicas, Universidad de Chile, Santiago, CL

Aggregatibacter actinomycetemcomitans, bacteria Gram negativo considerada el principal patógeno en el desarrollo de periodontitis agresiva (enfermedad inflamatoria que compromete las estructuras que soportan y protegen los dientes). Se describen seis serotipos de *A. actinomycetemcomitans* según la composición de su lipopolisacárido, siendo los serotipos a, b y c los de mayor frecuencia en la cavidad oral. Estudios han demostrado que la expresión de genes relacionados con la inflamación por parte de células dendríticas y linfocitos T varían al ser infectados con estos tres serotipos, donde, en términos generales el serotipo b induce la mayor expresión de estos genes, asociándose a una mayor virulencia con respecto a los otros dos. Sin embargo, poco se sabe acerca de la participación de los queratinocitos del epitelio gingival en la respuesta inmune contra esta bacteria y su implicancia en los procesos osteodestructivos. Este estudio evalúa la expresión de genes mediante RT-PCRq en queratinocitos infectados a 3 horas y 24 horas con los serotipos a, b y c de *A. actinomycetemcomitans*, centrándose en genes asociados a inflamación, destrucción tisular y moléculas fenotípicamente características de estas células. Los resultados muestran que los queratinocitos responden frente a la infección con los tres serotipos de *A. actinomycetemcomitans*, aumentando los niveles de expresión de genes que podrían cumplir un rol en los procesos inflamatorios y osteodestructivos que tienen lugar en la periodontitis, sin embargo, los queratinocitos no son capaces de dar una respuesta diferencial tan marcada frente a un serotipo particular, a diferencia de lo que ocurre en células propias del sistema inmune.

VRID N° 216.101.008-1.0

JU226

Cocultivation of *Helicobacter pylori* with *Porphyromonas gingivalis* and its effects on biofilm formation and hemagglutination of *P. gingivalis*

Cristopher Enrique Soto^{1,2,3}, M Olivera¹, A Rojas^{1,2,3}, D Venegas¹, A Hoare¹, D Bravo^{1,3}, A Quest^{2,3}. ⁽¹⁾ Microbiología Oral, Facultad de Odontología, Universidad de Chile ⁽²⁾ Laboratorio de Comunicaciones Celulares, Facultad de Medicina, Universidad de Chile ⁽³⁾ Advanced Center for Chronic Diseases ACCDiS, Universidad de Chile

Periodontitis is a multifactorial inflammatory disease characterized by the loss of supporting tissues of teeth. In Chile, more than 90% of the adult population exhibits clinical signs associated to this pathology. One of the factors that participate in the periodontitis onset is a change in the bacterial communities associated with the subgingival biofilm. In this context, *Porphyromonas gingivalis* is one of the key species in the development and progression of periodontitis because it influences the ecological successions that lead to dysbiosis. Interestingly, recent studies have shown that *Helicobacter pylori*, a gastric pathogen associated with the development of gastric cancer, is able to colonize the oral cavity and interact with members of the subgingival community. Furthermore, its presence in the oral cavity has been associated with an increase of periodontal pathogens biomass and higher periodontitis severity. To date, it is unknown how *H. pylori* promotes these changes. The objective of this work is to determine if the interaction between *H. pylori* and *P. gingivalis* promotes changes in the some virulence factors of the latter. To do that, a liquid co-culture was standardized in which *H. pylori* 26695 and *P. gingivalis* W50 can grow and co-exist for 1 to 2 days (brain-heart infusion, hemin, menadione, VITOX, equine serum, 37°C, anaerobiosis and orbital shaking). After that time, *P. gingivalis* was isolated from co-cultivation and used in hemagglutination assays and biofilm formation tests, processes related with the progression of the periodontitis. Both assays were selected because virulence factors associated with these processes, such as fimbria, haemagglutinins and lipopolysaccharide have been associated with the virulence of *P. gingivalis* when infecting cells of the gingival epithelium. Our results indicated that *P. gingivalis* previously co-cultivated with *H. pylori* for 1 or 2 days, has a greater capacity to form a bigger biofilm and a higher rate of hemagglutination at low concentration of bacteria with respect to *P. gingivalis* grown in monoculture. This suggests that *H. pylori* enhances the virulence of *P. gingivalis* only by sharing the same liquid culture.

PROYECTO FONDAP 15130011, Fiouch 17/020



JU227

***Leptospira* GAPDH binds human plasmin(ogen)**

Matilde Souza¹, Roberto Nepomuceno², Barbosa Angela Silva³. ⁽¹⁾ Bacteriologia, Universidade de São Paulo / Instituto Butantan, São Paulo, BR ⁽²⁾ Laboratório de Bacteriologia, Instituto Butantan, São Paulo, BR ⁽³⁾ Laboratório de Bacteriologia, Instituto Butantan, São Paulo, BR

Introduction: Leptospirosis is a zoonosis caused by spirochetes of the genus *Leptospira*. The disease is widespread throughout developing countries, posing a significant health problem. Leptospire have the ability to adhere to renal tubule cells, and to extracellular matrix components, which facilitates invasion and host colonization. They have also developed strategies to evade host's complement system. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) is a multifunctional housekeeping protein, and an archetypical example of a moonlighting protein. Recent evidence identifies GAPDH as a requirement for fungal, protozoal, or viral virulence. Recent published data have shown that GAPDH presents plasminogen-binding activity. As leptospire are capable of binding plasminogen on their surfaces, the aim of this study was to evaluate if leptospiral GAPDH could serve as a ligand for this coagulation cascade molecule.

Methodology: The GAPDH gene was amplified by PCR from genomic DNA of *L. interrogans* serovar Copenhageni strain 10A, and the protein was expressed in *E. coli* and purified by nickel-affinity chromatography. To assess if GAPDH-bound plasminogen could be converted to active plasmin by exogenously supplied uPA, immobilized GAPDH was incubated with plasminogen and after extensive washing, uPA and the chromogenic substrate D-valyl-leucyl-lysine-p-nitroanilide dihydrochloride were added. Degradation of physiological plasmin substrates, including fibrinogen, vitronectin, C3b and C5, by leptospiral GAPDH was evaluated. **Results:** Here we demonstrate that plasminogen bound to GAPDH is converted to plasmin, which, in turn, is capable of degrading fibrinogen, vitronectin and C5 α -chain. **Conclusion:** Our data suggest that GAPDH may contribute to leptospiral pathogenesis.

FAPESP

A TLR2 polymorphism (-196 to -174) is associated with active tuberculosis development in HIV-1 infected individuals from a southern Brazilian population

Mousquer Gabriel T^{1,5}, Marilu Fiegenbaum², Mariana Milano³, Bruno Dorr⁴, Saraiva Ana Carolina P^{1,5}, Almeida Sabrina EM⁶, Da Silva Elisângela C⁷, Gisela Unis⁸, Elis Regina Dalla Costa⁸, Rossetti Maria Lucia R¹. ⁽¹⁾ Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CDCT, Secretaria Estadual da Saúde do Rio Grande do Sul - SES/RS (CEVS/RS), Porto Alegre, BR ⁽²⁾ Ciências Básicas da Saúde, Genética, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA, Porto Alegre, BR ⁽³⁾ Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, Porto Alegre, BR ⁽⁴⁾ Laboratório Central do Rio Grande do Sul - LACEN/RS, Virologia, Secretaria Estadual da Saúde do Rio Grande do Sul - SES/RS, Porto Alegre, BR ⁽⁵⁾ Curso de Biomedicina Noturno, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA ⁽⁶⁾ Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Feevale, Novo Hamburgo, BR ⁽⁷⁾ Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, Campo dos Goytacazes, BR ⁽⁸⁾ Hospital Sanatório Partenon, Secretaria Estadual da Saúde do Rio Grande do Sul - SES/RS, Porto Alegre, BR

The toll-like receptor 2 (TLR2) is able to recognize molecular patterns associated with pathogens and thus promote the transcription of genes involved in the antimicrobial response. This receptor is fundamental in the identification of mycobacterial lipoproteins, acting in the immunological regulation against *Mycobacterium tuberculosis* by the baculum phagocytosis and triggering host defense mechanisms. Recent findings indicate that a functional polymorphism, located in the *TLR2* gene promoter region -196 to -174 (rs796378596), may cause a significant reduction in the receptor expression on cell surface and is associated with an increased risk to the development of active tuberculosis (TB) and also with a greater susceptibility to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection. However, the influence of this polymorphism on HIV-1/TB co-infection has not been evaluated yet and none of the studies considered the genetic patterns of the southern Brazilian population. Therefore, the objective of this study was to investigate the association of *TLR2* polymorphism (rs796378596) with susceptibility to TB development, HIV-1 infection and HIV-1/TB co-infection in the population of the southern Brazilian state of Rio Grande do Sul. The study population consisted of 158 individuals with active TB (HIV seronegative), 53 HIV-1 seropositive individuals (without TB), 99 HIV-1/TB co-infected individuals and 130 healthy controls. The *TLR2* encoding gene was amplified by a standard polymerase chain reaction (PCR) and genotyped by 3.5% agarose gel electrophoresis. Allelic and genotypic frequencies of the *TLR2* variants were compared between groups by the qui-square test with residual adjustment. Our results suggest that the mutated homozygote *TLR2* genotype (del/del), together with the virus-induced immunodeficiency, promotes an increased susceptibility to the development of active TB between HIV-1 seropositive individuals ($p=0.042$ / Adjusted residual $p<0.01$), since the reduction in *TLR2* expression in phagocytic cells makes them more likely to be infected by *M. tuberculosis*. A further analysis is still required to elucidate the specific mechanisms associated with *TLR2* -196 to -174 polymorphism in HIV-1/TB co-infected individuals, especially taking into account data on CD4+/CD8+ T cell counts and viral load during the course of infection by the bacillus.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

JU229

Contribución del sistema de secreción Tat en la supervivencia intracelular de *Salmonella Typhimurium* en la ameba *Dictyostelium discoideum*

Ítalo M Urrutia¹, Andrea Sabag¹, Camila Valenzuela¹, Sergio A Álvarez¹, Carlos A Santiviago¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL

Recientemente, hemos determinado que *Salmonella Typhimurium* es capaz de sobrevivir intracelularmente en la ameba *Dictyostelium discoideum*. Sin embargo, los mecanismos moleculares en este proceso no están bien caracterizados. En este trabajo evaluamos la contribución del sistema *twin-arginine translocation* (Tat) en la supervivencia intracelular de *S. Typhimurium* en *D. discoideum*. Este sistema es responsable de exportar proteínas plegadas desde el citoplasma a través de la membrana plasmática. Se ha reportado que cepas de *S. Typhimurium* que presentan una delección de los genes que conforman el sistema Tat (genes *tatABC*) presenta defectos en la supervivencia intracelular en macrófagos RAW264.7 y en la colonización sistémica de ratones BALB/c. En primer lugar, construimos una cepa mutante Δ *tatABC* derivada de *S. Typhimurium* 14028s mediante intercambio alélico. Posteriormente, evaluamos la internalización y supervivencia intracelular de la cepa silvestre y la mutante Δ *tatABC* por medio de ensayos de infección *in vitro* en *D. discoideum* AX4 en los que se cuantificó el número de bacterias intracelulares por determinación de unidades formadoras de colonia (UFC) o *live imaging* mediante microscopía confocal usando bacterias que expresan la proteína fluorescente mCherry. Estos ensayos se realizaron usando una multiplicidad de infección de 100 bacterias/ameba, permitiendo que la infección transcurriera durante 1 h a 22°C. Posteriormente, se realizaron lavados con *buffer* Soerensen suplementado con gentamicina (10 µg/mL) y se determinó el número de bacterias intracelulares a distintos tiempos (0, 1, 3 y 5 horas) post infección. Nuestros ensayos por determinación de UFC mostraron que la cepa Δ *tatABC* presenta un aumento en la internalización luego de 1 h de infección y un posterior defecto en la supervivencia intracelular en *D. discoideum* a todos los tiempos post infección evaluados, en comparación con la cepa silvestre. Ambos fenotipos fueron complementados al transformar la cepa mutante con un plasmidio que contenía los genes *tatABC* de la cepa silvestre. Por otra parte, nuestros experimentos de *live imaging* entregaron resultados similares a los obtenidos en los ensayos por determinación de UFC. De acuerdo a los resultados obtenidos, concluimos que el sistema de secreción Tat contribuye a la supervivencia intracelular de *S. Typhimurium* en *D. discoideum*.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT 1140754 y 1171844, y becas CONICYT 21150005 y 21140615.

JU230

Proteomic analysis of the *Salmonella*-Containing Vacuole in the social amoeba *Dictyostelium discoideum*

Camila Valenzuela¹, Magdalena Gil², Andrea Sabag¹, Ítalo M Urrutia¹, Jost Enninga², Carlos A Santiviago¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Unité Dynamique des Interactions Hôte-Pathogène, Institut Pasteur, Paris, FR

Salmonella survival within eukaryotic cells is explained, in part, by its ability to establish an intracellular compartment known as the *Salmonella*-containing vacuole (SCV). To this end, *Salmonella* exploits several effector proteins secreted by two independent type-three secretion systems: T3SS-1 and T3SS-2. We previously reported a role for both T3SS in the survival of *Salmonella* Typhimurium in the social amoeba *Dictyostelium discoideum*. In this work, we employed a proteomic approach to identify host proteins recruited to this compartment. We performed infections using the *S. Typhimurium* 14028s wild-type strain to infect *D. discoideum* AX2 cells. At 3 hours post infection, cells were mechanically lysed and the post-nuclear supernatant (PNS) was obtained. The PNS was loaded on top of a 10 to 25% linear Optiprep gradient and, after centrifugation, 12 fractions were collected from the top of the gradient. Each fraction was analyzed to determine CFUs and density. As control, a sample of PNS obtained from non-infected amoebae was spiked with a known amount of bacteria grown *in vitro*, and subjected to the same procedure. We observed a differential distribution in the number of CFUs per fraction between the control and infected samples, suggesting the presence of bacteria inside intact vacuoles only in samples from infected amoebae. This result was corroborated by ELISA determination of bacteria in fractions 5 and 6, indicating that these fractions were enriched in intact SCVs. Next, the selected fractions from infected and control samples were subjected to protein precipitation and treated to perform label-free quantitative mass spectrometry-based proteomics. The analysis of proteomic data allowed us to identify over 1,000 proteins per sample, and among the proteins enriched in the infected samples we observed several Rab and Rho GTPases, Ras guanine nucleotide exchange factors and kinesin, among others. Although further analysis and validation of these results are ongoing, to our knowledge this is the first proteomic description of the SCV-like compartment that contains *Salmonella* within *D. discoideum*.

This work was supported by FONDECYT grants 1140754 and 1171844, and CONICYT Fellowships 21140615 and 21150005.

JU231

Permissiveness of the human choriocarcinoma cell line (BeWo) and placental components with respiratory syncytial virus (RSV)

Manuel Adrián Velázquez Cervantes¹, Aristeo Velásquez Flores², Tania Vargas Pavía³, Didier González García¹, Julio García Cordero³, Enrique Reyes Muñoz⁴, Veronica Zaga Clavellina⁵, Cecilia Helguera Repetto⁵, Moises León Juárez⁵. ⁽¹⁾ Posgrado de Biomedicina y Biotecnología Molecular, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, MX ⁽²⁾ Químico Bacteriólogo Parasitólogo, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, MX ⁽³⁾ Biomedicina Molecular, Zacatenco, CINVESTAV, Ciudad de México, MX ⁽⁴⁾ Endocrinología, INPer, Ciudad de México, MX ⁽⁵⁾ Inmunobioquímica, INPer, Ciudad de México, MX

The human respiratory syncytial virus (RSV) is a common respiratory virus that usually causes mild cold-like symptoms, but can be especially threatening for infants and older adults. Strong epidemiologic evidence suggests that early-life infections with this virus predispose individuals to chronic respiratory dysfunction and asthma, possibly related to the persistence of the virus itself or to its effects on lung development. Recent studies have shown vertical transmission of RSV in rats from mother to offspring and persistence of virus in lungs after birth, which indicates a possible transplacental transmission throughout the main elements of this tissue: trophoblast cells and villous core stroma cells. In the present study, we demonstrate that human placental explants are susceptible to RSV infection by the immunodetection of viral F protein in the villous core stroma cells, although there was no positive sign in trophoblast cells. One possibility is that the last trimester placental trophoblast cells are not permissive to RSV infection, we used two cellular models of the trophoblast of human first-trimester placenta (HTR8/SVneo and BeWo cells) to assess its susceptibility to infection, and we determined that the viral replication cycle is taking place in these cell lines. These results indicate that trophoblast cells of terminal placenta are not infected with RSV, but other cellular types such as villous core stroma cells may be; and finally, results indicate that the trophoblasts of early pregnancy are more permissive to RSV infection.

INPer number: 212250-3210-21007-03-15 and CONACYT number:CB-CONACYT-255007

JU232

Host response to Andes hantavirus (ANDV) infection: longitudinal analysis of immune cells subpopulation

Eduardo Duran¹, Pablo A Vial¹, Flavio Carrion², Analia Cuiza¹, Marcela Ferres³, Grazielle Ribeiro¹, Jose Luis Perez⁴, Jonas Klingstrom⁵, Mario Calvo⁶, Maria Luisa Rioseco⁷, Ruth Perez¹, Graf Jeronimo⁸, Cecilia Vial¹. ⁽¹⁾ Programa Hantavirus, Facultad de Medicina, Clinica Alemana Universidad del Desarrollo, Santiago, CL ⁽²⁾ Programa de Inmunologia Traslacional, Clinica Alemana Universidad del Desarrollo, Santiago, CL ⁽³⁾ Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunologia Pediatricas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽⁴⁾ Universidad Austral, Hospital Clinico Regional Guillermo Grant Benavente, Osorno, CL ⁽⁵⁾ Department of Medicine, Huddinge, Karolinska Institute, Stockholm, SE ⁽⁶⁾ Hospital Base de Valdivia, Facultad de Medicina, Universidad Austral, Valdivia, CL ⁽⁷⁾ Departamento de Infectologia, Hospital Puerto Montt Dr. Eduardo Schroeder, Puerto Montt, CL ⁽⁸⁾ Unidad de Cuidados Intensivos, Clinica Alemana, Santiago, CL

In Chile, ANDV infection is considered an important public health problem affecting young, previously healthy people with a very high case fatality rate. In humans, hantavirus infection occurs following exposure to the animal reservoir and causes hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS). Regarding pathogenesis of HCPS, host-related immune mechanisms rather than direct viral cytopathology are postulated to be responsible for the principal manifestations of the disease, along with infection of endothelium which can disrupt tight junctions among them to cause leakage. A major role for T cell-directed immune responses in development of the cardiopulmonary stage is suggested, especially CD8+ T cells along with Natural Killer cells (NK), which also seem to have an important role in hantavirus infection. The current study analyzes peripheral blood mononuclear cells subpopulation by flow cytometry (FACSCanto II, BD). Specifically Cytotoxic T cells (CD3+ CD8+), Helper T cells (CD3+ CD4+), Natural Killer cells (NK) (CD3- CD16+ CD56+) and B cells (CD3- CD19+) were analyzed. The study included three healthy subjects as controls and 14 ANDV infected patients, which were sampled on days 1, 3, 5, and 60 post-hospitalization. From these 14 HCPS patients nine had a severe clinical course defined as HCPS patients that require mechanical ventilation and vasoactive drugs. The other five patients had a mild clinical course defined as a disease characterized only by prodromal symptoms or who progressed to a mild respiratory failure that did not require mechanical ventilation and remained hemodynamically stable. It was found that CD4/CD8 T cell ratio in HCPS patients was constant through time but significantly smaller compared to healthy controls. No difference on CD4/CD8 T cell ratio was found between severe and mild patients. Regarding NK and B cells, no statistical significant difference was found during HCPS progression, compared to healthy patients or between severe and mild patients.

FONDECYT 1161447

Rol de dos transportadores de arginina en la invasividad de *Salmonella enterica* serovares Dublin y Enteritidis

Adriana Martínez¹, Laura Betancor², Bruno D'Alessandro¹, Chabalgoity José A¹, Lucía Yim¹. ⁽¹⁾ Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Medicina, Universidad de la Republica, Montevideo, UY ⁽²⁾ Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Universidad de la Republica, Montevideo, UY

La salmonelosis es una de las enfermedades transmitidas por alimentos más frecuentes a nivel mundial. Los serovares Enteritidis y Dublin de *Salmonella enterica* están muy estrechamente relacionados genéticamente, pero difieren en su patogenicidad. *S. Enteritidis* es altamente prevalente en humanos y causa típicamente gastroenteritis autolimitada, mientras que *S. Dublin* infecta ganado bovino, pero puede afectar a humanos resultando generalmente en infecciones invasivas, con elevada morbi-mortalidad. Los factores bacterianos implicados en esta patogenicidad diferencial son desconocidos. Previamente, analizamos comparativamente los proteomas de superficie de aislamientos naturales de ambos serotipos, identificando mediante espectrometría de masas a la proteína ArtI sobre-representada en *S. Dublin* respecto a *S. Enteritidis*. ArtI está anotada en los genomas de *Salmonella* como un posible transportador periplásmico de arginina, aunque no hay datos experimentales sobre su rol. Asimismo, existe otra proteína, denominada ArtJ, con elevada homología con ArtI (63% de identidad, 79% de similitud) y anotada con la misma función. Objetivo: evaluar si ArtI/ArtJ cumplen un rol en el fenotipo invasivo de *S. Dublin*. Métodos: análisis por RTqPCR de los niveles de ARNm para ambos genes en varios aislamientos de cada serovar. Construcción de mutantes nulos para *artI* o *artJ* en una cepa de cada serovar, y evaluación de su invasividad en el modelo murino de salmonelosis (ensayos de infección competitiva con la cepa parental). Resultados: *artI* y *artJ* presentan niveles de ARNm significativamente mayores en *S. Dublin* respecto a *S. Enteritidis* (4 y 7 veces más respectivamente). Además, al inactivar *artI*, los niveles de ARNm para *artJ* aumentan 36 veces en *S. Dublin*, pero no varían en *S. Enteritidis*. *In vivo*, tanto el mutante *artI* como *artJ* de *S. Dublin* resultaron atenuados en su capacidad de colonizar órganos internos (CIs 0.46 y 0.20, respectivamente), pero no hubo diferencias entre mutante y salvaje en *S. Enteritidis*. Conclusiones: colectivamente estos resultados sugieren redundancia en la función de ArtI y ArtJ en el serovar Dublin, así como la relevancia de estas proteínas en la invasividad de *S. Dublin* pero no en Enteritidis. Los diferentes niveles de expresión de *artI/artJ* podrían influenciar en las diferencias en la invasividad observada entre ambos serovares.

Comisión Sectorial de Investigación Científica, Uruguay (CSIC Grupos de I+D 2014)



JU234

Global proteomic profiling of Atlantic salmon macrophages infected with *Piscirickettsia salmonis*

Javiera Ortiz-Severín¹, Verónica Cambiazo², **Chávez Francisco P¹**. ⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología de Sistemas, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, INTA, FONDAF, Centro de Regulación del Genoma, Universidad de Chile, Santiago, CL

Piscirickettsia salmonis is an intracellular bacterial fish pathogen that causes piscirickettsiosis, a disease with numerous negative impacts in the Chilean salmon farming industry. Despite some proteomic studies of in vitro-grown *P. salmonis* cells have been performed, in vivo proteomic approaches during infection are still missing. Considering that in vitro studies inadequately reflect in vivo conditions and to improve the existing knowledge for the pathogenicity of *P. salmonis*, we present here a global proteomic profiling analysis (Q-exactive) of *Salmo salar* macrophages infected with *P. salmonis*. Our analyses can detected both, host and pathogen proteins. Our analyses identified several *P. salmonis* proteins from different phases of macrophages infection; some of them related to key functions for bacterial survival in other intracellular pathogens. Interestingly, previously unidentified virulence-related proteins were identified in *P. salmonis* plasmids. In addition, we have discovered novel host proteins that could be considered as biomarkers for Atlantic salmon infection and also new *P. salmonis* virulence factors. Our global proteomic profiling identifies novel molecular signatures that give systematic insight into macrophages-*P. salmonis* interaction.

FONDECYT 1160802

JU235

Caracterización de sustratos Dot/Icm de *Piscirickettsia salmonis* con dominios SEL1, ubiquitin-ligasa y ADP-Ribosil transferasa

Onice Astudillo¹, Oscar Arredondo-Zelada¹, Sergio H Marshall¹, Fernando A Gómez¹. ⁽¹⁾ Instituto de biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso CL

Introducción: *Piscirickettsia salmonis* es una bacteria Gram negativo e intracelular facultativa, patógeno de salmónidos. Su multiplicación intracelular depende del Sistema de Secreción Tipo IV-B o Dot/Icm, el cual es homólogo al de *Legionella pneumophila* y *Coxiella burnetii*. La función de este sistema es exportar efectores de virulencia, los que modularían el comportamiento de la célula huésped favoreciendo la replicación de *P. salmonis*. Los sustratos Dot/Icm, en general, se caracterizan por tener dominios conservados eucariotas, por lo que muchos de ellos actúan mediante “mimicry” con proteínas del hospedero, favoreciendo la multiplicación del patógeno. Este trabajo evaluó, mediante ensayos *in vivo*, el efecto de 3 nuevos sustratos Dot/Icm de *P. salmonis* sobre la integridad celular y viabilidad de macrófagos de *Salmo salar*. **Metodología:** Se analizó el genoma de 4 cepas de *P. salmonis* (Psal-103, Psal-104, LF-89 y EM-90), los que fueron anotados con el servidor RAST (Rapid Annotation using Subsystem Technology). Posteriormente se obtuvo una lista de 294 sustratos Dot/Icm de *L. pneumophila* y *C. burnetii* desde la base de datos del servidor Secret4 (<http://db-mml.sjtu.edu.cn/SecReT4/index.php>), los que fueron sometidos a análisis por BLASTP (Basic Local Alignment Search Tool-Protein) contra los genomas de las cepas de *P. salmonis*. Las proteínas identificadas fueron analizadas con los servidores Conserved Domain Search (NCBI), Simple Modular Architecture Research Tool (EMBL) y Motif Search (GenomeNET), para verificar y confirmar sus dominios. Finalmente, se seleccionaron 3 de ellos, cuyos genes fueron clonados y expresados como proteínas recombinantes en *E. coli* BL21 DE3, para evaluar su efecto en la viabilidad e integridad celular de macrófagos de *S. salar* (línea celular SHK-1). **Resultados:** Se observó la existencia de 18 genes con alta similitud y/o conservación de secuencia con sustratos de *L. pneumophila* y *C. burnetii*. Se verificó que estos 3 nuevos efectores putativos en *P. salmonis* poseen dominios conservados SEL1, ADP-Ribosilación y Ubiquitinación. Finalmente, se obtuvo que las 3 proteínas generan una pérdida en la viabilidad celular, además de incrementar la expresión de algunas citoquinas pro-inflamatorias. Estos resultados preliminares permitirían proyectar a estos 3 sustratos putativos del Sistema Dot/Icm de *P. salmonis* como potenciales herramientas para un control eficaz del patógeno.

Proyecto FIE-2015-V014: “Estudio integral de las bases biológicas y moleculares del ciclo de vida de *Piscirickettsia salmonis* en el contexto de una aproximación epidemiológica para desarrollar estrategias que permitan su control” (201708070182).

Drosophila melanogaster* como modelo para estudo da patogenicidade e do tratamento de *Malassezia pachydermatis

Simone Merkel¹, Daiane Heidrich², Bruna Pippi³, Ribeiro Amanda Carvalho⁴, Danilevicz Chris Krebs¹, De Souza Karina Duarte⁴, Fuentefria Alexandre Meneghello¹, Scroferneker Maria Lúcia^{2,4}, Zanette Régis Adriel¹. ⁽¹⁾ Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, BR ⁽²⁾ Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, BR ⁽³⁾ Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, BR ⁽⁴⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, BR

Introdução: *Malassezia* é uma levedura presente na microbiota normal da pele de homens e animais onde vive em comensalismo. *M. pachydermatis* é a única espécie não lipodependente, estando presente em cães e gatos. Alterações nos processos físicos, químicos ou imunológicos da pele podem aumentar ou diminuir a patogenicidade da levedura, além dos seus próprios fatores de virulência, podendo causar otite, dermatite e infecção sistêmica em animais e em humanos. Em humanos, pacientes que recebem nutrição parenteral total por meio de cateter venoso central, como recém-nascidos, prematuros e pacientes imunocomprometidos são mais frequentemente acometidos. **Métodos:** Testamos a patogenicidade de *M. pachydermatis* em moscas *D. melanogaster wild-type* e *Toll*-deficientes com inóculos fúngicos entre 10^3 e 10^7 UFC/mL, preparados em tampão PBS + 0,05% Tween 80, pH 7,4. A inoculação ocorreu através de punção com agulha, previamente inserida em tubos Eppendorf contendo as concentrações acima, no tórax das moscas, que após foram colocadas em recipientes com tampas, contendo alimento e/ou antifúngicos e incubados em estufa à 29 °C por sete dias, com contagem diária da sobrevivência. Para o tratamento foram utilizados os antifúngicos fluconazol, itraconazol, cetoconazol, clotrimazol, e miconazol na concentração de 1 mg/ml, diluídos em 2% de DMSO + água estéril, exceto o fluconazol que foi diluído em água estéril. Foram adicionados 100 µl de antifúngico sobre a comida das moscas. A contagem de UFC/ml/mosca e a histopatologia foram realizadas a partir de um pool de moscas mortas durante os sete dias de observação. **Resultados:** Moscas wild-type se mostraram resistentes à infecção. Curvas de mortalidade de moscas *Toll*-deficientes, em concentrações a partir de 10^4 leveduras/mL, diferiram estatisticamente do grupo inoculado com salina. Nenhum antifúngico nas concentrações testadas foi tóxico para as moscas, tampouco foi capaz de proteger as mesmas da infecção por *M. pachydermatis*. **Conclusão:** Moscas *D. melanogaster Toll*-deficientes são suscetíveis à infecção por *M. pachydermatis*, decorrente da falta do sistema imune para se defender de patógenos fúngicos, para os quais a via *Toll* é responsável por ativar o sistema imune. Reservado as diferenças, esse quadro é semelhante ao que ocorre com pacientes imunocomprometidos.

CAPES, CNPq.

JU237

Participación de la adhesina autoaglutinante (Saa) de STEC O174:H28 aisladas de bovinos en la adhesión y la respuesta inflamatoria sobre células epiteliales intestinales

Cecilia Cundon¹, David Montero², Pablo Gallardo³, Roberto Vidal², Mauricio Farfán³, Adriana Bentancor¹. ⁽¹⁾ Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Microbiología, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, AR ⁽²⁾ Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago de Chile, CL ⁽³⁾ Departamento de Pediatría y Cirugía Infantil, Facultad de Medicina, Campus Oriente-Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna, Santiago de Chile, CL

Escherichia coli shigatoxigénica (STEC) es responsable de cuadros diarreigénicos de distinta severidad, que pueden progresar a síndrome urémico hemolítico. En las cepas STEC se distinguen cepas LEE-positivas (*locus of enterocyte effacement*) y LEE-negativas de casos clínicos. La adhesina autoaglutinante de STEC (Saa), se ha encontrado ampliamente distribuida en cepas STEC LEE-negativas de diversos serotipos y fuentes y se propone como adhesina putativa en estas cepas. El serogrupo O174 fue identificado en Argentina como el cuarto serogrupo no-O157, LEE-negativo asociado a SUH. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar la adhesina Saa de dos cepas STEC O174:H28 de origen bovino en la adhesión a células epiteliales, proteínas de matriz extracelular y la inducción de una respuesta inflamatoria. Se seleccionaron dos aislamientos bovinos de STEC O174:H28 *saa+* (F35 y F130). Se obtuvo la cepa mutada para el gen *saa* y una cepa complementada con este gen para cada una de cepas silvestre. Utilizando la línea celular T84, se determinó adherencia de las cepas silvestre, mutada y complementada y la inducción de la secreción de interleucina-8. Se evaluó además, la adhesión de estas cepas a la proteína de matriz extracelular fibronectina. Los resultados se analizaron mediante ANOVA considerando significativo un $p < 0.05$. Se observó un aumento significativo en la adhesión en las cepas mutantes con respecto a la cepa silvestre, un efecto que fue restablecido con la cepa complementada. La cantidad de IL-8 secretada por células infectadas con las cepas silvestre, mutada y complementada no presentó diferencias significativas. En los ensayos de unión a fibronectina, no se observaron diferencias significativas entre la adhesión a fibronectina y albúmina bovina, utilizada como control. Los resultados de adhesión a células epiteliales sugieren que la pérdida de la adhesina Saa podría estar compensado y superado por la expresión de otras adhesinas. En relación a la inducción de la respuesta inflamatoria, a pesar que la cepa silvestre induce la secreción de IL-8, la adhesina Saa no participaría en este proceso.

JU238

Alterations by local immune response against fertile and infertile hydatid cysts is modulate by fasciolasis coinfection

Edgar Mauricio Jimenez¹, Felipe Corrêa², Caroll Stoore², Christian Hidalgo², Ismael Pereira³, Rodolfo Paredes². ⁽¹⁾ Ciencias de la Vida, Medicina Veterinaria, Universidad Andrés Bello ⁽²⁾ Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL ⁽³⁾ Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, CL

Background: Cystic Echinococcosis (CE) is a zoonotic infection with high prevalence in part of Eurasia, Africa, Australia and South America. Previous reports showing the host-parasite relationship with chronic CE infection coexists with detectable humoral and cellular responses against the parasite, but this response regarding the hydatid cyst fertility is scarcely studied and it is not known if the coinfection with other parasitosis affects this response. The aims of this work is compare response of lymphocytes T and B, the cytokine profiles Th1 / Th2, and humoral response against fertile and infertile cysts and alterations by coinfection caused by trematodes of the *Fasciola hepatica* (FH) in those immune response. **Materials and Methods:** Samples from animals with either fertile and infertile hydatid cysts with and without coinfection with FH were included in this study. Histological samples were evaluated by immunohistochemistry with a panel of antibodies for CD3, CD20, IFN γ , TNF α , IL4 and IL10, IgG, IgG1, IgG2. Digital images were obtained using an Olympus FSX100 Microscope and analyzed with software for morphometric analysis (Image J). **Results:** In infertile hydatid cysts an increase in CD3 is observed, together with a response of the Th1 immune profile with an increase in IFN γ , TNF α compared with the control group and fertility hydatid cysts (< 0.05). Animals with coinfection with FH, showing that IL4 decreases in fertile hydatid cyst and IFN γ increase in infertile hydatid cyst (< 0.05). In humoral response (IgG, IgG1, IgG2) no alteration were detected in adventitial layer. In both fertile and infertile hydatid cyst. **Conclusions:** These findings suggest the presence of coinfection with FH alters the immune response in adventitial layer of hydatid cysts. A predominant polarized Th1 localized immune response and high CD3+ T cell population could contribute to infertility condition of bovine hydatid cysts.

FONDECYT /Chile 1161475, Proyecto interno UNAB DI-1388-16/I.

Análise da suscetibilidade e permissividade de células humanas de próstata à infecção por Zika vírus

Machado Francielly Cristina¹, Cíntia Bittar¹, Paula Rahal¹, Calmon Marília Freitas¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, BR

Os recentes surtos de infecções pelo Zika vírus (ZIKV) levantaram questões acerca da relação desse vírus com os sistemas reprodutores humanos. Tais incertezas surgiram após homens infectados pelo ZIKV apresentarem RNA viral no sêmen por até 6 meses após o início dos sintomas da infecção, indicando que órgãos do sistema reprodutor são potenciais reservatórios para o ZIKV. Além disso a presença do ZIKV no líquido ejaculado de homens vasectomizados faz da próstata um possível sítio de replicação desse vírus. Estudos prévios com outros vírus filogeneticamente próximos ao ZIKV demonstraram que a patogênese da infecção pode ser cepa-específica. Nesse contexto a proposta desse estudo foi infectar células humanas normais de próstata (PNT1A) com as cepas africana (ZIKV^{AF}) e brasileira (ZIKV^{BR}) do ZIKV avaliando se são suscetíveis e permissivas ao vírus. Para isso células PNT1A foram infectadas com as cepas ZIKV^{AF} e ZIKV^{BR} a 10^5 unidades formadoras de placas por mL (PFU/mL) durante 1 hora para adsorção viral. Após esse tempo, o inóculo viral foi removido, meio de cultura fresco foi adicionado às células e 72 horas pós infecção (hpi) foi realizada imunofluorescência com o anticorpo pan-*Flavivirus* (4G2), a fim de constatar a presença do vírus no meio intracelular. Já para avaliar a permissividade de células PNT1A a essas cepas virais, essas foram infectadas com ZIKV como descrito anteriormente, e após 6, 12, 24, 48, 72 e 96 hpi o sobrenadante celular foi titulado em células Vero a fim de se acompanhar a progressão da infecção. Demonstramos com nosso estudo que células PNT1A são suscetíveis à ambas as cepas do ZIKV. Além disso, observamos um aumento gradual na produção de partículas virais ao longo da infecção, constatando que essas células são permissivas ao ZIKV. O sobrenadante de células infectadas com a cepa ZIKV^{AF} apresentou em média 332 PFU/mL em 6 horas hpi e $1,27 \times 10^8$ PFU/mL em 96 hpi. Já na infecção com a cepa ZIKV^{BR} constatamos 122 PFU/ml em 6 hpi e $1,21 \times 10^6$ PFU/mL em 96 hpi. Nossos resultados permitem inferir que o tecido prostático humano é um potencial sítio para replicação e reposição do ZIKV em humanos.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) - Processo nº 2017/09197-2.

JU240

Phylogenetic analysis of *tprK* and *tprJ* genes of *Treponema pallidum*

Marques Mirlanje Stephane P De Sousa, Rodrigues Rebecca Araújo¹, Alves Nathanael Dos Santos¹, Silva Carla Thália Santos¹, Machado Ana Clara Rabelo N¹, Dias Brenda Nascimento¹, Silva Joana Darc Viana¹, Cruz Dhanielle Aragão Da¹, Lima Iarly Santos¹, Paim Kennio Ferreira², Fonseca Fernanda Machado¹. ⁽¹⁾ Department of Biomedicine, Campus Ministro Reis Velloso, Federal University of Piauí, Parnaíba, BR ⁽²⁾ Department of Infectious and Parasitic Diseases, UFTM, Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, BR

Syphilis is an infectious disease caused by *Treponema pallidum* (*T. pallidum*), a non-cultivable treponeme. The disease is usually transmitted sexually or vertically during pregnancy. It is characterized by periods of latency and activity, due to its systemic spread and evolution, and there may be serious complications in untreated patients who were treated inadequately or discovered the disease in the late phase. The molecular basis for host specificity and the different clinical manifestations caused by these treponemes is not known. The Tpr proteins represent candidate virulence factors, and have been the focus of intense research for the last decade. The homology of sequence divides the *tpr* family into three subfamilies: subfamily I (*tpr* C, D, F and I), subfamily II (*tpr* E, G and J) and subfamily III (*tpr* A, B, H, K and L). *tprK* gene is the only antigen of *T. pallidum* known to suffer variation of seven regions V1-V7 variables by non-reciprocal recombination with a large repertoire of donor sites to generate new proteins. The aim of this study was to evaluate the genetic diversity of *T. pallidum* isolates from the United States and New Zealand. These data were obtained from the National Center for Biotechnology Information (NCBI). The multiple alignments of the samples were performed by Clustal W software. Phylogenetic analysis was performed in the MEGA 5.0[®] software with the Neighboring Group method and under the Kimura-2-parameter model for the correction of nucleotide distances. A total of 79 samples were included, and of these, 64 (81%) were sequences of the *tprK* gene and 15 (19%) were sequences of the *tprJ* gene. The most of the analyzed sequences of the *tprK* gene showed more genetic recombination when compared to the samples of the *tprJ* gene. Despite this, the bootstrap values found in the analysis of both genes were low, thus confirming these genes are still conserved. However, the *tprK* gene has been shown to be more susceptible to recombination events. The molecular studies are able to detect genetic recombination that results in microbial resistance and also in the identification of new circulating species.

JU241

Estudio filogenético de aislados chilenos de *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* en *Actinidia* spp.

Elisa Miranda¹, Hector García², Alex Slater¹, Analía Espinoza², Cecilia Ramos². ⁽¹⁾ Facultad de Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, CL ⁽²⁾ Departamento de Biología Molecular, Laboratorios Diagnofruit, Santiago, CL

Chile es el tercer exportador de kiwi a nivel mundial, con un promedio de exportación de 180.000 ton/año. La producción de kiwis alcanzó una tasa anual de crecimiento de 7,9% sin embargo luego del año 2008 ésta disminuyó, situación coincidente con la detección de *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa), agente causal del cancro bacteriano del kiwi, enfermedad de gran impacto a nivel mundial; los daños causados van desde atizonamiento de flores a muerte de plantas, mermando la producción de kiwis de forma directa. A la fecha, se han descrito 5 biovares (bv) de esta bacteria, y recientemente, reclasificado otro bv como un nuevo patovar (pv), evidenciando la dificultad de caracterización del patógeno. El bv 3 es el más virulento y representa la actual pandemia global. En Chile, Psa fue detectada por primera vez en la región del Maule en 2010; sin embargo, la enfermedad continuó expandiéndose hasta la región de Valparaíso a pesar de ser un patógeno bajo control oficial del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). El presente trabajo corresponde al primer análisis filogenético utilizando aislados chilenos de Psa, originados por el programa de vigilancia SAG desde años consecutivos (n=27), considerando así, variaciones geográficas y temporales del patógeno. Con el objetivo de caracterizar las poblaciones de Psa se secuenció un grupo de genes constitutivos (*cts*, *gapA*, *gyrB* y *rpoD*) de cada aislado y posteriormente se realizó un análisis multilocus de secuencias (MLSA) y otro de coalescencia, en contraste con información genética proveniente de individuos de diversas partes del mundo caracterizados por especie, pv y bv. Los resultados indicaron que los aislados chilenos de Psa pertenecen al bv 3, se agrupan con aislados de la pandemia mundial y presentarían un carácter clonal, a pesar de su distinto origen temporal y geográfico. Los resultados generan información básica de las poblaciones de Psa chilenas, sin embargo, caracterizar zonas variables del genoma, como genes de resistencia a cobre y antibióticos, es fundamental para elaborar estrategias de control en campo efectivas y de largo plazo.

Laboratorios Diagnofruit Ltda.

MqsR/MqsA type II toxin-antitoxin system is prevalent in enteroaggregative *Escherichia coli*

Thaís Mitsunari^{1,2}, Silva Rosa M³, Elias Waldir P¹, Piazza Roxane MF¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Bacteriologia, Instituto Butantan, São Paulo, BR ⁽²⁾ Farmácia, Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, BR ⁽³⁾ Microbiologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, BR

Introduction: Toxin-antitoxin system (TA) is a regulatory system found in prokaryotes, which is involved in physiological processes related to population control, growth suppression and cell death. TA is also involved in biofilm formation, bacteriophage protection and cell persistence. TA system is composed of a protein pair: a stable toxic molecule and an unstable antitoxin that blocks toxin activity. Under stress conditions antitoxin is degraded by endogenous proteases leaving the toxic protein free to act by inhibiting primordial cellular functions. In *Escherichia coli* K12 there are 36 different protein pairs grouped in six types of TA systems according to their antitoxin genes. Type II TA system proteins are composed of eight pairs: MazF-MazE, RelE-RelB, ChpBK-ChpBI, YafQ-DinJ, YoeB-YefM, HipA-HipB, Yafo-YafN, and MqsR-MqsA. However, the distribution of these systems in pathogenic *E. coli* is not fully understood. **Objective:** To investigate the presence of Type II TA systems in isolates of distinct *E. coli* pathotypes. **Methods:** We developed a species-specific duplex polymerase chain reaction (PCR) assay to identify the toxin genes in four pathogenic *E. coli* pathotypes: Shiga-toxin *E. coli* (STEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC), atypical enteropathogenic *E. coli* (aEPEC), and extraintestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC). **Results and Conclusions:** We have found that the searched genes were distributed among the four *E. coli* pathotypes in a different manner. However, the toxin gene *mqsR* was prevalent in EAEC (65%) but not among the other pathotypes studied [aEPEC (18%), STEC (7%), and ExPEC (5%)]. This MqsR/MqsA system regulates persistence and biofilm formation. These preliminary results suggest that some type II TA systems may be associated to a given *E. coli* pathotype, such as the MqsR/MqsA in EAEC. The confirmation of such differences may provide important information regarding the role of TA systems in the virulence and persistence of pathogenic *E. coli*. It also demonstrates the possibility of new strategies for the development of alternative treatments, through the breakdown of the toxin-antitoxin balance.

CAPES, FAPESP

JU243

Genetic interactions between polymorphisms in the *GTR1* gene cause nitrogen consumption differences in *Saccharomyces cerevisiae* during alcoholic fermentation

Jennifer Molinet¹, Francisco Salinas^{2,3}, Guillamón José M⁴, Claudio Martínez^{1,2}. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago De Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CECTA), Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ Millennium Institute for Integrative Systems and Synthetic Biology (MIISB), Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽⁴⁾ Departamento de Biotecnología de Alimentos, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia, ES

Nitrogen is the second most important nutrient assimilated by yeast during alcoholic fermentation, its consumption is key for *Saccharomyces cerevisiae* to carry out this process. Deficiencies in nitrogen sources are one of the main causes of sluggish and stuck fermentations. It is known that yeasts present differences in their nitrogen consumption profiles but the origins of these variations are little understood. Thus, it is important to understand the molecular differences between *S. cerevisiae* strains underlying differences in nitrogen consumption profiles. Previous studies have shown that allelic variants in the *GTR1* gene as one of the responsible for the differences in ammonium and amino acid consumption between strains of Wine origin (WE) and African origin (WA), affecting the expression of genes that encode nitrogen transporters. The *GTR1* gene encodes a GTPase participating in the EGO complex responsible for stimulating TORC1 in response to the absence of amino acids. The TORC1 signaling pathway is responsible for detecting nutritional signals and to coordinate cell growth. In this work, we studied the polymorphisms present in the *GTR1* gene in order to identify those SNPs responsible for the differences in nitrogen consumption during alcoholic fermentation. Allelic swapping were carried out in the strains of WE and WA origin with the promoter, coding region or the complete allele of *GTR1* of the opposite origin. The strains generated were fermented in synthetic must, determining the nitrogen content by HPLC and the expression of the nitrogen transporters by qPCR. We observed complex genetic interactions between the SNPs of each region and the genetic background, determining that in the strain of WE origin the greatest effect on the phenotype is caused by the complete allele of *GTR1* of WA origin, while in the strain of WA origin the greatest effect is caused by the regulatory region of *GTR1* of WE origin. In conclusion, the impact of each SNP of *GTR1* on nitrogen consumption and gene expression is dependent on the genetic background and its genetic interactions, which determine whether the allele is beneficial or harmful to the phenotype studied.

Grants FONDECYT 1150522, CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2014-21140935.

JU244

La pseudogenización del gen *tsr*, un sensor del aceptor alternativo de electrones nitrato, modula la patogenicidad de *Salmonella enterica* serovar Typhi

Aracely A Mora¹, Nicolás N Villagra¹, Guido C Mora¹, Alejandro A Hidalgo¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Patogénesis Molecular y Antimicrobianos, Medicina, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL

Salmonella enterica, patógeno intracelular facultativo, causa enfermedad en una gran cantidad de hospederos. *S. Typhi* y *S. Typhimurium* son serovares relacionados que presentan alta identidad entre sus secuencias conservadas. Sin embargo, *S. Typhi* infecta solo al humano, mientras que *S. Typhimurium* es considerado de amplio rango de hospedero. Diferencia que podría estar dada por el proceso de pseudogenización. Entre los genes que pierden su función por pseudogenización, muchos corresponden a genes implicados en vías metabólicas, como genes que codifican para receptores de Aceptores Alternativos de Electrones (AAE). *Salmonella* posee una serie de genes metabólicos para captar AAE como son nitrato y tetracionato, útiles en ambientes con baja tensión de oxígeno. El gen *tsr* que codifica para una proteína receptora capaz de detectar el nitrato, es requerido en *S. Typhimurium* para la colonización del intestino del ratón. Sin embargo, el gen *tsr* se encuentra anotado como pseudogen en *S. Typhi* y serovares tyfoidales. Con estos antecedentes, decidimos estudiar su rol en *S. Typhi*, restituyendo su expresión con una copia funcional del gen *tsr* de *S. Typhimurium*. Se midió la expresión del gen *tsr* en *S. Typhi* y *S. Typhimurium* WT en mutantes *tsr*, y en mutantes *ttrR* y *ttrS*, involucrados en sensor tetracionato, como control. Determinamos que *tsr* es capaz de modular la expresión de *ttrR* y *ttrS* en *S. Typhimurium*, pero no en *S. Typhi*. También se determinó que la proteína TSR se expresa en *S. Typhimurium*, sin embargo, no se observa expresión en *S. Typhi*, confirmando que *tsr* de *S. Typhi* es pseudogen. La restitución del gen *tsr* en *S. Typhi* disminuyó la adherencia, invasión y proliferación en células HEP2. Análogamente, la mutante *S. Typhimurium tsr* proliferó mejor en hígado y bazo de ratones que la cepa WT. Para determinar la relación del gen *tsr* con expresión de genes del SST3 y motilidad, se midió la expresión de genes relacionados, observando una disminución en la expresión de estos genes cuando el gen *tsr* es restituido en *S. Typhi*. Además, la restitución de *tsr* en *S. Typhi* aumenta la motilidad, mientras, esta disminuye en la mutante *S. Typhimurium tsr*.

Agradecimientos al Laboratorio de Patogénesis Molecular y Antimicrobianos y a los Proyectos FONDECYT 1151393 (GM) y FONDECYT 11150588 (AH)

JU245

Efecto del medio de cultivo y de la 5-azacitidina en la expresión de genes del metabolismo secundario en una cepa del hongo antártico *Pseudogymnoascus verrucosus*

Vicente Oliva¹, Inmaculada Vaca¹, Carlos Gil-Durán², Renato Chávez². ⁽¹⁾ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile ⁽²⁾ Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL

Los hongos filamentosos del género *Pseudogymnoascus* son prevalentes en la Antártica, y varios reportes recientes sugieren que las cepas de este género fúngico son potenciales productores de metabolitos secundarios con estructuras químicas novedosas. A pesar de esto, el metabolismo secundario de las especies de *Pseudogymnoascus* ha sido muy poco estudiado. En este trabajo, mostramos un estudio del efecto del medio de cultivo en el patrón transcripcional de 5 genes (*gymB*, *gymC*, *gymD*, *gym722* y *gym36*) relacionados con el metabolismo secundario de una cepa de *Pseudogymnoascus verrucosus* aislada de una esponja marina Antártica. Para ello, se cultivó la cepa en cinco medios de cultivo diferentes (PDB, YES, YES-NaCl, CYA-sacarosa, CYA-lactosa), se extrajo el ARN a tres tiempos (5, 8 y 10 días) y se realizó el análisis de expresión de los 5 genes mediante RT-PCR. En todas las combinaciones de medios y tiempos de cultivo, se observó la expresión de los genes *gymB*, *gymC* y *gymD*, pero nunca se observó expresión de *gym722*. En cuanto a *gym36*, se observó expresión únicamente en medio PDB a los 8 y 10 días de cultivo. Además, determinamos el efecto del remodelador de cromatina 5-azacitidina (5-AZA) sobre ese patrón transcripcional. Para ello se cultivo el hongo en medio PDB, y se adicionaron dos cantidades de 5-AZA (50 y 500 mM) a dos tiempos diferentes del cultivo (0 y 7 días). Nuestros resultados muestran que el uso de 500 mM de 5-AZA reprimió la expresión de *gymB*, *gymC* y *gymD*. Por el contrario, la adición de 5-AZA a una concentración de 50 mM incrementó entre 1-2 veces la expresión de *gymC*. Interesantemente, la adición de 5-AZA a cualquier concentración al inicio del cultivo, induce la producción de un pigmento rojizo en el caldo de cultivo. El análisis de estos caldos mediante HPLC mostró la existencia de un compuesto con un máximo de absorción de 540 nm. Estos resultados indican que el medio de cultivo empleado y la adición de un remodelador como 5-AZA tienen efectos sobre el patrón de transcripción de los genes del metabolismo secundario y la producción de compuestos en el hongo.

Este trabajo fue financiado por los proyectos INACH RG_15-14 y FONDECYT 1150894



JU246

Synonymous mutations in phosphoglycerate kinase 1 gene alters protein misfolding response in *Schizosaccharomyces pombe*

Sandra Moreira-Ramos¹, Loreto Arias², Assaf Katz², **Omar Orellana**³. ⁽¹⁾ Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ Programa de Biología celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Folding of many proteins is a co-translational process, where the exit speed of the nascent peptide from the ribosome is critical. This process might be controlled by mRNA translation rate. Due to the redundancy of the genetic code, it is believed that codon bias is a relevant factor that control of translation rate. To these days, the rules that govern translational rate by synonymous codons and the effects on cell fitness are poorly understood. The purpose of this work was to study the effects of synonymous mutations in the gene encoding the highly expressed enzyme 3-phosphoglycerate kinase 1 (PGK1) on protein levels and folding as well as on cell fitness in *Schizosaccharomyces pombe*. Replacement of preferred codons for their low preferred synonymous codons in ten segments of *pgk1* and their introduction in the chromosome by homologous recombination were carried out. We measured cell growth in minimal medium of each variant and selected two mutant strains with an altered growth and two more strains with normal growth for further analysis. Messenger RNA and protein levels of the selected strains were measured. Although mRNA levels of *pgk1* changed in the mutants with altered growth, protein levels were not changed. Next, we purified PGK1 from each strain and analyzed their enzymatic activity and protein folding. Both parameters changed in a region-dependent manner. Finally, we analyzed PGK1 aggregation, and the response to heat stress and to proteasome inhibition, both related to protein aggregation. We found that protein aggregation and response to stresses were altered in all studied regions. Concomitantly, reduction of mRNA levels of chaperones Hsp9 and Hsp16 for heat stress was observed. Altogether, these data suggest that codon usage bias is an important regulator of protein folding and proteostasis in a highly expressed protein.

Supported by FONDECYT, Chile Postdoctoral grant 3150366 (SM) and FONDECYT, Chile grant 1150834 (OO)



JU247

The presence of m6A within the 5'UTR of the HIV-1 genomic RNA defines its usage as mRNA or as the packaged genome

Camila Andrea Pereira¹, Daniela Toro-Ascuy¹, Cecilia Rojas-Fuentes¹, Catarina Ananias¹, Sebastian Riquelme-Barrios¹, Paulina Aguilera-Cortés¹, Babara Rojas-Araya¹, Delphine Allouche², Bruno Sargueil², Fernando Valiente-Echeverria¹, Ricardo Soto-Rifo¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Virología Molecular y Celular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile ⁽²⁾ Laboratoire de Cristallographie et RMN Biologiques, Université Paris Descartes, Paris, FR

The human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) is the etiological agent of the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Their genome consists of a positive sense RNA (genomic RNA or gRNA), which is found as a dimer within the viral particle. During the late stages of viral replication, the gRNA plays to major roles by acting as an mRNA encoding the structural proteins Gag and Gag-Pol, and is the genome packaged into the newly produced viral particles. Although it is known that the 5'-untranslated region (5' UTR) is key in the regulation on the transition from translation to packaging, the molecular mechanisms involved in this regulation are not well understood. It was recently reported that HIV-1 gene expression is post-transcriptionally regulated by the presence of N6- methyladenosine (m6A) along the gRNA. The addition of this modification is mediated by the methyltransferases METTL3/14 and is removed by the demethylases FTO and ALKBH5. Here, we show that the hypermethylation of the gRNA through the overexpression of the METTL3/14 methyltransferase complex induces a strong decrease of the gRNA packaged into released viral particles. We also observed that this effect was dynamic since overexpression of the m6A demethylase FTO (but not ALKBH5) induced an increase in the packaged gRNA. Interestingly, m6A-seq analyses revealed that the 5' UTR of the gRNA is methylated within the cell, but not in the viral particle, indicating that the absence of m6A within the 5' UTR is probably necessary for the packaging of the gRNA. When we analyzed in detail, we identified A198 and the A242 as the potential methylated residues. We are currently investigating the impact of m6A within the 5'-UTR on the interaction with Gag as well as the dimerization of the gRNA and their structure in order to understand the molecular mechanism involved in this regulation.

FONDECYT 1160176; ANILLO ACT-1408.

JU248

Distribuição do tipo compatível e habilidade de formação de órgãos sexuais dos patógenos da brusone de cereais de inverno

Reis Kézia Cristina¹, Urashima Alfredo Seiiti¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Genética Molecular, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos, Araras, BR

A brusone é uma doença causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae* (*Pyricularia oryzae*), que causa grande queda de produtividade em cereais como aveia, cevada, trigo e triticale. A recombinação sexual é uma possível causa para a rápida perda da eficácia das variedades resistentes, utilizadas como método de controle ideal. Por se tratar de um ascomiceto heterotálico, é necessária a presença de dois isolados sexualmente compatíveis (*MAT1-1* e *MAT1-2*) para que ocorra a recombinação sexual. A determinação do tipo compatível pode ser realizada de maneira rápida através da técnica molecular. Entretanto, para examinar a habilidade de formação de órgãos sexuais é necessário realizar o cruzamento em meio artificial. As informações a esse respeito para a cultura do trigo são conflitantes e para os demais cereais citados são inexistentes. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi obter dados iniciais sobre a distribuição dos tipos compatíveis, por PCR, de *P. oryzae* de aveia, cevada, trigo e triticale e verificar a capacidade de formação de órgãos sexuais dos isolados provenientes do trigo. Foi realizado PCR de 21 isolados obtidos de aveia, 26 de cevada, 20 de triticale e 44 de trigo, com os "primers" L1, L2, T1 e T2. A análise dos resultados foi feita pela amplificação de bandas em 552bp para *MAT1-1* e 390 bp para *MAT1-2*. Os cruzamentos de 54 isolados de trigo foram realizados em meio de aveia, com dois parentais férteis de trigo e mantidos a 22°C sob luz constante. A avaliação foi feita aos 30 dias, avaliando-se o tipo compatível (*MAT1-1* e *MAT1-2*), sexualidade (macho, fêmea ou hermafrodita) e produção de órgãos sexuais (peritécia, ascas e ascospóros). Dados do presente trabalho mostraram que apenas *P. oryzae* de triticale apresentaram os dois tipos compatíveis, na proporção 1:1. Todos os isolados de aveia foram *MAT1-2*, de cevada foram *MAT1-1* e para trigo, apenas um foi *MAT1-2*. Além disso, somente um dos 53 isolados de *P. oryzae* do trigo formou peritécia.

FAPESP 2017/18587-9

JU249

Molecular immune response progression in patients infected with *Andes hantavirus* (ANDV)

Grazielle Ribeiro¹, Pablo Vial¹, Analía Cuiza¹, Marcela Ferres², Mario Calvo³, José Luis Pérez⁴, Leonila Ferreira⁵, Maria Luisa Rioseco⁶, Jerónimo Graf⁷, Luis Leon⁸, Cecilia Vial¹. ⁽¹⁾ Programa Hantavirus, Instituto de Ciencia e Innovación en Medicina (ICIM), Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo, Santiago, CL ⁽²⁾ Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátricas, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ Hospital Base de Valdivia, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL ⁽⁴⁾ Hospital Base San José de Osorno, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Osorno, CL ⁽⁵⁾ Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), Hospital Clínico Regional Guillermo Grant Benavente, Concepción, CL ⁽⁶⁾ Departamento de Infectología, Hospital Puerto Montt Dr. Eduardo Schütz Schroeder, Puerto Montt, CL ⁽⁷⁾ Clínica Alemana, Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo, Santiago, CL ⁽⁸⁾ Instituto de Ciencias Biomédicas, Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL

Hantavirus are important human pathogens that cause a severe zoonotic disease called hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS). HCPS presents a fatality rate of ~30% in Chile. Clinical manifestations may present as a mild condition with moderate respiratory failure or progress quickly to a severe condition with shock that can be fatal. This progression towards HCPS is a complex multifactorial process that involves mechanisms directly induced by the virus or by the host response, but it is not known exactly what are the host response factors associated with the progression towards HCPS. Our goal is to better understand the role of the host's immune responses in this progression towards HCPS, by longitudinally characterize the transcriptional profile of the peripheral blood mononucleated cells (PBMCs) isolated from ANDV infected patients, and healthy subjects as controls. Total RNA was extracted from PBMCs isolated from peripheral blood of healthy controls and patients infected with ANDV on days 1, 3, 5 post hospitalization, during the acute phase of the disease, and on day 60, during the convalescent phase. Isolated RNA was sequenced at the Broad Institute (Boston, USA) using Illumina's HiSeq platform (50M reads aligned in pairs). We analyzed 10 patients and four healthy controls. Transcriptome analyzes were performed with STAR, Kallisto, Deseq2 and ShinyGO. The results show different patterns of gene expression during the progression of HCPS. Evaluation of gene ontology (GO) biological processes enrichment, showed a difference between samples from the acute phase and convalescent phase or healthy controls. We found that during the acute phase (days 1 and 3), there was an enrichment of GO processes related to cell activation, humoral immune response and inflammatory response. Then they decrease on day 5, and continues to decrease on day 60 to levels similar to healthy controls, suggesting the full recovery of these patients. Future directions of this study include the analysis of differential expression by gene, to help us understand the mechanisms involved in the pathogenesis of HCPS.

FONDECYT 1161447 and Universidad del Desarrollo.

JU250

Role of cytoplasmic N6-methyladenosine (m6A) readers on HIV-2 protein synthesis

Sebastian Riquelme Barrios¹, Eduardo Isla¹, Fernando Valiente Echeverria¹, Ricardo Soto Rifo¹. ⁽¹⁾ Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL

N6-methyladenosine (m6A) is the most abundant internal modification present in eukaryotic mRNA and has been involved in the post-transcriptional regulation of gene expression at different levels. The effects of this modification are mainly exerted by the recruitment of any of the m6A reader proteins YTHDF1, 2 and 3 or YTHDC1 and YTHDC2 to the methylated mRNA. Besides cellular mRNAs, the presence of m6A has also been reported in several viral RNA including HIV-1, HCV, ZIKV, IAV, amongst others. In the case of HIV-1, it was reported that overexpression of the cytoplasmic m6A readers YTHDF1, 2 and 3 indistinctly promotes Gag synthesis from the 9-kb unspliced mRNA. In this work, we have investigated the role of m6A readers in HIV-2 protein synthesis and the subcellular localization of the unspliced mRNA. Our results reveal that, in contrast to what was reported for HIV-1, overexpression of DF proteins exerts different effects on HIV-2 protein synthesis. As such, while overexpression of YTHDF1 and 2 promotes Gag and Vpx synthesis, overexpression of YTHDF3 negatively regulates this process. Interestingly, we observed that the three DF proteins relocalize together with the HIV-2 gRNA and G3BP1 to stress granules, sites where the viral genome is stored in the absence of active translation. Together, these data show that HIV-2 protein synthesis is differentially regulated by YTHDF1, 2 and 3, suggesting that viral transcripts contain m6A. Our data also indicates that these cytoplasmic m6A readers interact with the HIV-2 unspliced mRNA and are relocalized to stress granules during viral replication. HIV-2 is less pathogenic and replicates at very low rates when compared to HIV-1. We are currently investigating whether these features of HIV-2 are regulated at the epitranscriptomic level.

FONDECYT 1160176 and ANILLO ACT-1408



JU251

Automatización del análisis MLVA para la tipificación de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina que causan infecciones invasivas en población pediátrica paraguaya

Claudia Salinas¹, Florentín Gladys M¹, Federico M Escobar ¹, Patricia M Acuña¹, Fátima Rodríguez¹, Rosa M Guillén¹. ⁽¹⁾ Microbiología, Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, PY

Staphylococcus aureus es uno de los patógenos humanos más importantes con resistencia a meticilina (SARM) en aumento incluso en cepas aisladas de la comunidad. La tipificación genética de los clones es fundamental para comprender los patrones de diseminación. Este estudio, observacional, descriptivo de corte transversal, tuvo como objetivo automatizar la técnica MLVA para la tipificación de SARM que causaron infecciones invasivas a niños paraguayos. Se analizaron 25 cepas invasivas SARM, que se obtuvieron de un biobanco de más de 700 aislados de *S. aureus* que fueron colectados en los años 2010, 2012 y 2013 de 4 hospitales, genotipificados previamente por las técnicas MLVA manual y Spatyping. Se empleó la técnica MLVA automatizada utilizando electroforesis capilar para el análisis de 6 regiones VNTR características, permitiendo la tipificación del 88% (22/25) de los aislados en estudio, resultando 3 perfiles diferentes, cada uno asociado a un spatipo distinto, siendo el perfil 1-t019 el predominante (86%), seguido del perfil 3-t002 (9%) y el perfil 2-t311 (5%), arrojando 100% de concordancia con el método MLVA manual y por tanto una alta concordancia con el método *gold estándar* PFGE con el cual fue validado previamente. El uso de esta metodología permite llevar a cabo la caracterización de aislados con alta sensibilidad y un óptimo tiempo de respuesta en comparación con el método manual, permitiendo el estudio de brotes y por tanto proporcionaría la capacidad a nivel nacional para responder de forma más eficiente y con una disminución significativa de tiempo a problemas de salud pública.

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Paraguay

Stochastic modeling of gene regulation in *Escherichia coli* K-12

Rodrigo Santibáñez^{1,2}, Daniel Garrido², Martín Alberto JM¹. ⁽¹⁾ Network Biology Lab, Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor ⁽²⁾ Laboratorio de Microbiología de Sistemas, Dpto. Ingeniería Química y Bioprocesos, Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago

Background. Gene regulation is central to the inner working of cells. It allows responses to intracellular and environmental signals such as the availability or lack of resources. These responses rely on a complex circuitry called Gene Regulatory Network (GRN) which establishes the genetic relationship between biological sensors and effectors. With the advent of single-cell omics, variability has been recognized as an essential property of GRNs. Experimentally, the impact of stochasticity on gene expression is well documented with examples depicting mechanisms that filter extrinsic noise in cell responses or harnessing random expression to survive environmental changes. Moreover, since GRNs are commonly used as blueprints to design microbes performing specific tasks, modeling efforts could predict the behavior of GRNs reducing experimental efforts. However, such model that address the behavior of the complete GRN of *Escherichia coli* is missing. Here, we present an automatically reconstructed model from the GRN of *E. coli* K-12 and their gene expression dynamics. **Methods.** We developed Atlas that employs a GRN and reconstructs executable models. The GRN was downloaded from the EcoCyc and RegulonDB databases, completed with literature and employed as input. The GRN defines promoter specificity and operates over the architecture of genes and promoters of the bacterial chromosome. The model was developed within the Kappa BioBrick framework and stochastically simulated using the Gillespie's Algorithm. Finally, we employed transcriptomic data of *E. coli* to estimate parameters employing a Genetic Algorithm developed at the laboratory that leverages High-Performance Computing infrastructures. **Results.** Our simulations of the smallest subset of regulatory components of *E. coli* reproduced the available free RNA polymerase qualitatively. Moreover, the calibrated parameters allowed the quantitative and statistical agreement between gene expression dynamics and experimental data. **Conclusion.** From the complete GRN from EcoCyc considering near 2000 protein-encoding genes with determined promoter specificity, we selected the subset of 10-genes essentials for gene expression to test the methods. The reconstructed and parameterized submodel reproduced the experimental data satisfactorily, and the developed methods could be applied to arbitrary GRN such as synthetic GRNs. The ongoing work involves extending Atlas to consider metabolism and propose a whole-cell model of *E. coli*.

CONICYT Beca Doctorado Nacional [PCHA-2014-21140377]

CONICYT FONDECYT Iniciación 2014 [11140342], Regular 2013 [11130518], y Regular 2018 [1181089]

JU253

Heterologous expression of the histidine kinase protein in the pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*

Dener Santos¹, Moisés Inácio ², Juliana Rocha², Célia Soares², Juliano Paccez². ⁽¹⁾ Laboratório de Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás ⁽²⁾ Laboratório de Biologia Molecular, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, BR

Background: The ability to respond to external stressors is a basic requirement to organisms survival. Prokaryotic and eukaryotic organisms (except animals) have developed a system called “phosphorelay” responsible for adaptation to different environmental conditions such as oxidative and osmotic stress. In fungi, it has been described to be involved in the fungal dimorphism. Studies demonstrated that inhibition of hybrid histidine kinase, the phosphorelay sensing protein, affected the morphological transition from mycelia to yeast. Fungal dimorphism is an opportunistic adaptation to environmental condition. Among the thermomorphic fungi, *Paracoccidioides* spp. are the most prevalent in Latin America mainly in Brazil and is responsible for paracoccidioidomycosis (PCM) systemic mycoses. Following conidia inhalation and their exposure to the body temperature (37°C), *Paracoccidioides* species starts the transition from mycelium to yeast. In this sense, it is notable that morphological transition is necessary for dimorphic fungal pathogen. Thus the objective this studies to characterize the hybrid histidine kinase protein and evaluate the significance to *Paracoccidioides brasiliensis* dimorphism. **Methods:** Extraction of total RNA from *Paracoccidioides brasiliensis* 18 was used as template for production of cDNA by *in vitro* reverse transcription. Using cDNAs the hybrid histidine kinase (hk) gene was produced by PCR. We used primers designed in order to allow cloning in pET32a vector using *Bam*HI and *Not*I endonucleases. After confirmation of cloning, the plasmid was transformed and induced in *Escherichia coli* Rosetta. Different induction conditions were tested and analysed in SDS-PAGE. **Results:** We amplified a 1000 bp region from *Pb18hk* gene and cloned it in pET32a heterologous expression system. Optimal protein expression was determined and we obtained a protein the size of 55 KDa. **Conclusion:** We successfully expressed *Pb18hk* in *Escherichia coli* system. As perspectives we expect to purify and produce specific antibodies in order to immunolocalize in the pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (INCT-CNPq)

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG)

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

JU254

A new detection of high level gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis* ST9-CC9 strains producers β -lactamase in a Public Hospital of Argentina

Celia Maria Schell¹, Mónica Delfina Sparo¹, Sabina Lissarrague¹, Teresa Coque González², Judith Celina Bernstein¹, Juan Pablo Stagnaro¹, Juan Angel Basualdo Farjat¹. ⁽¹⁾ Centro Universitario de Estudios Microbiológicos y Parasitológicos, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, AR ⁽²⁾ Área 2: Microbiología, Inmunología e Infección, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Madrid, ES

Background: *Enterococcus faecalis* is a microorganism that produce human invasive infections associated principally with immunocompromised patients. This strains have intrinsic resistance to several antimicrobials such as β -lactams. Resistance to penicillins via penicillinase mechanisms (β -lactamase enzyme) is scarcely detected in *E. faecalis*. The first published of a β -lactamase-producing *E. faecalis* (β -lacEFC) was in 1983, (Houston, Texas). In Argentina, the first isolated of β -lacEFC was reported in a Hospital of Buenos Aires in 1989. The aim of this study was communicate the emergence and spread of *E. faecalis* strains producers β -lactamase in a Public Hospital of Argentina with high level gentamicin-resistant (HLGR). **Methodology:** Between 2010 and 2014, *E. faecalis* strains were isolated from clinical samples of invasive infections (Hospital Municipal Ramon Santamarina, Tandil, Argentina). Species identification was done by MALDI TOF-MS. Susceptibility to ampicillin, penicilin, vancomycin, teicoplanin, gentamicin, streptomycin, ciprofloxacin, levofloxacin, linezolid, tigecycline, ampicillin-sulbactam and amoxicillin/clavulanic acid were investigated. The MIC was determined using E-test strips. β -lactamase production was determined using the nitrocefina disk method in all strains that presented de $\delta > 5$ in the inhibition diameter of ampicillin-sulbactam compared to ampicilin. **Population structure characterization:** was realized by *Sma*I-PFGE and MLST in representative isolates. **Results:** Forty four ($n=44$) *E. faecalis* were isolated from blood $n=15$ (34.9 %); abscess $n=10$ (23.2 %); abdominal liquid $n=10$ (23.2 %); sinovial fluid $n=7$ (16.3 %) and pericardial fluid $n=1$ (2.3 %) of patients between 16 and 92 years old (mean age = $60 \pm 19,8$; 14 females, 29 males). Twenty-five clonal types were detected by PFGE (EFC-2 was the major clone). ST236, ST9, ST388, ST604, ST179, ST281 and a new ST720 were determined by MLST. Antimicrobial resistance to gentamicin (43.2 %), streptomycin (22.7 %), ciprofloxacin and levofloxacin was detected (both 20.4 %). β -lactamase production was detected in $n=5$ (11.4 %) *E. faecalis* with HLGR belonging to clone EFC-2, ST9 and clonal complex CC9. **Conclusions:** Five β -lacEFC ST9-CC9 strains with HLGR were detected. The adequate utilization and combination of phenotypic and molecular techniques allowed new knowledge about epidemiology and spread of β -lacEFC principally in the surgery service. These results allow to adjust conducts to prevent the dissemination.

Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina.



JU255

Study of the establishment and maintenance of cellular-state patterns in a bi-stable coupled system

Kevin Simpson¹, Juan Keymer², Fernán Federici¹. ⁽¹⁾ Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Ecología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL

Several models of pattern formation in multicellular systems have been elaborated, most of them based on the generation of morphogen gradients. However, multicellular systems can undergo order generation by more primitive mechanisms, since pattern formation also take place during the emergence of cellular states based on cell-cell coupling. This type of mechanisms are difficult to study on whole systems, and an alternative is the generation of systems that incorporate the essential features of the process. On the other hand, one way to gain knowledge of complex systems is to use abstract models that capture their essential information, and the Ising model allows explaining how discrete changes at local level lead to major changes. Using components from an orthogonal system for cell-cell communication based on acyl homoserine lactone molecules, we constructed a synthetic bacterial system that exhibits bi-stability and coupling between two states. This system allows, from a single cell, the generation of different populations of cells capable of adopting one of two cellular states, and the adoption of a particular state is influenced by and influences the state of neighboring populations. This system allowed us to study the establishment and maintenance of cellular-state pattern formation during the growth of *Escherichia coli* colonies, showing that the coupling between bi-stable cellular states facilitates the global pattern formation in multicellular systems. We were also able to analyze the effect of the initial configuration of the system in the emergence of a collective behavior at the population level in a system composed of cell populations with different initial states. To understand the generation and maintenance of patterns in the bacterial bi-stable coupled system we created a C program that simulates the two-dimensional Ising model using the Metropolis algorithm during the growth of a bacterial colony. The use of the Ising model allowed us to study the relationship between local processes in the bacterial system with the emergence of global processes, in which coupling between cellular states results in a long-range correlation. The application of general models to understand the pattern formation could be useful to the development of biomaterials, synthetic consortia and tissue engineering.

Beca de Doctorado Nacional CONICYT 2016



JU256

Identification and functional characterization of cytoskeletal proteins from cyanobacteria

Benjamin Springstein¹, Christian Whoele¹, Tal Dagan¹, **Karina Stucken**². ⁽¹⁾ Genomic Microbiology, Christian Albrechts University Kiel, Kiel, DE ⁽²⁾ Departamento de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad de La Serena, La Serena, CL

Prokaryotes, like eukaryotes, possess a distinct cytoskeleton comprised of actin, tubulin and intermediate filament (IF)-like proteins. Additionally, prokaryotes have also evolved their own specific subset of cytoskeletal proteins with no eukaryotic homologs. The IF-like and coiled-coil rich proteins (CCRPs) CreS from *Caulobacter crescentus* and FilP from *Streptomyces coelicolor* determine the cell shape and provide resistance to mechanical deformations in their host microorganisms. Prediction of coiled-coil rich proteins using the COILS algorithm led to the identification of further cytoskeletal CCRPs from diverse species, suggesting a predictive property of the number of coiled-coil domains for IF-like functions. Unlike other bacteria, the cyanobacterial phylum is characterized by an immense morphological diversity that includes unicellular to multicellular types with the ability to differentiate into specialized cell types. However, besides limited characterizations of FtsZ and MreB, the bacterial tubulin and actin homologs, little is known about cell shape-determining factors in cyanobacteria. Here we show that CCRPs are common in cyanobacteria where they perform IF-like functions. These proteins form diverse polymeric structures *in vitro* and *in vivo*. We identified CCRPs in each of the investigated 141 cyanobacterial genomes using the COILS algorithm. CCRPs have different levels of conservation and fulfill diverse functions as phenotypic plasticity, motility and cyanobacterial filament integrity.

This work was supported by the German Science Foundation (Grant No. STU513/2–1 to KS) and by FONDECYT 11170842 (Chile)



JU257

Analysis of the RNAome associated to the HIV-1 Rev protein during viral replication in T-cells

Daniela Toro¹, Cecilia Rojas-Fuentes¹, Francisco Garcia -de Gracia¹, Felipe León-Díaz¹, Fernando Valiente-Echeverria¹, Ricardo Soto-Rifo¹. ⁽¹⁾ Virology Program, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Universidad de Chile

AIDS has become one of the most devastating pandemics in recorded history. The causal agent of AIDS is the human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) that infects and destroys CD4+ T lymphocytes. Once integrated into the genome of the infected cell, the host RNA polymerase II recognizes the viral promoter and drives the synthesis of one single messenger RNA molecule, the 9-kb genomic RNA (gRNA). Early during viral gene expression the gRNA undergoes alternative splicing generating a set of fully (Rev, Tat and Nef) and partially spliced transcripts. Later on, the gRNA in its unspliced form is exported to the cytoplasm and used as an mRNA for the synthesis of the structural protein Gag and the viral enzymes. Gene expression from the gRNA is highly dependent on the viral protein Rev, which promotes nuclear export and translation of this viral transcript. The activity of Rev on nuclear export is achieved through interactions with the host karyopherin CRM1 and the function of Rev in translation is expected to be exerted through the specific recruitment of host factors such as translation initiation factors. However, the precise composition of these Rev-dependent mRNP complexes has never been characterized during viral replication in T-cells. In this work, we have characterized the specific RNAs that are part of the Rev-dependent mRNP complex. For this, we first developed a CD4+ T-cell line carrying the HIV-1-ΔRev provirus integrated in its genome as well as a tetracycline/doxycycline inducible Flag-Rev cassette. Upon induction of Flag-Rev expression we carried out an anti-Flag immunoprecipitation to isolate the Rev-dependent mRNP complexes. Then, we performed a RNA extraction and this RNA was used for RNAseq. Our results allowed us to characterize the Rev-associated transcriptome during viral replication in T-cells, determining the participation of some cellular RNAs in the Rev-dependent mRNP complex.

FONDECYT Postdoctoral Grant 3160091 FONDECYT Grant 1160176 and Grant ANILLO ACT1408



JU258

Distribución espacial y localización subcelular in vivo de FtsZ en *Anabaena* sp. PCC7120

Jorge Olivares¹, Derly Andrade¹, Vicente Rojas¹, Mónica Vásquez¹. ⁽¹⁾ Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile

Un evento clave en la división celular bacteriana es la formación del septo, cuyo componente principal es la proteína FtsZ, homóloga estructuralmente a tubulina. FtsZ es conservada y ampliamente distribuida en bacterias, y polimeriza formando una estructura conocida como anillo Z al centro de la célula. Este anillo es capaz de contraerse y ser un andamiaje proteico para otras proteínas. Microscopías de superresolución en modelos como *E. coli*, *B. subtilis*, *S. pneumoniae* y *C. crescentus* han revelado que la estructura del anillo Z es discontinua y la distribución de FtsZ no es uniforme. Las cianobacterias son morfológicamente diversas: existen unicelulares, filamentosas (con división en un plano) y ramificadas (capaces de dividirse en más de un plano). El divisoma de cianobacterias (conjunto de proteínas involucradas en la división) posee elementos comunes a bacterias gram positivas y negativas, además de proteínas exclusivas de este *phylum*. En *Prochlorococcus* sp (unicelular) se ha determinado la localización subcelular de FtsZ, observándose la misma estructura discontinua que en otros modelos, pero detectándose la formación del anillo en diferentes planos. En el modelo filamentosos, *Anabaena* sp. PCC 7120, no se ha determinado con detalle la distribución espacial de FtsZ dentro del anillo ni su localización subcelular durante el ciclo celular. El objetivo fue determinar la organización y distribución de FtsZ en diferentes estados de división en *Anabaena* sp. Mediante de conjugación triparental y recombinación homóloga, se obtuvo una mutante completamente segregante que expresa la proteína FtsZ fusionada a sfGFP, bajo el control del promotor nativo. Esta mutante mantiene la morfología WT y con microscopía confocal se determinó que el anillo Z forma una estructura discontinua y con diferentes intensidades de fluorescencia. También, mediante tinción DAPI se logró observar la distribución de los cromosomas durante la división y, utilizando microscopía de fluorescencia y *time-lapse*, se describió la dinámica *in vivo* de FtsZ. Se pudo concluir que el anillo Z en *Anabaena* sp. sigue el “modelo irregular”, donde el anillo Z está formado por parches de FtsZ.

FONDECYT 1161232

JU259

Caracterização molecular de *Staphylococcus aureus* metilina sensíveis e metilina resistentes isolados de amostras clínicas

Venancio Grazielly Beserra Ca¹, Figueiredo Mariana Andrade¹, Silva Carolina Maria¹, Silva Viviane Marinho¹, Santos Leandro Araújo¹. ⁽¹⁾ Centro de Saúde, Faculdade de Biomedicina, Centro Universitário FBV WYDEN, Recife, BR

Staphylococcus aureus metilina-resistente (MRSA) e metilina-sensível (MSSA) são importantes patógenos nas infecções adquiridas na comunidade e nos hospitais no Brasil e em todo o mundo, podendo causar diversas doenças pela produção de exotoxinas. Bactérias resistentes a múltiplos antibióticos representam um desafio no tratamento de infecções e são decorrentes do aumento da utilização destes medicamentos no tratamento de doenças. No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde, mais de 70% das bactérias que causam infecções hospitalares são resistentes a, pelo menos, um dos antimicrobianos frequentemente utilizados no tratamento dos pacientes. A aquisição do gene *mecA* pelo *S. aureus* pode conferir à bactéria resistência ao antibiótico metilina e a todos os antibióticos β -lactâmicos utilizados na clínica médica. Embora os isolados MSSA sejam sensíveis à metilina, são considerados importantes patógenos nas infecções, visto que causam doenças graves em pacientes debilitados e persistem no ambiente hospitalar. No presente estudo, foi realizado um estudo de epidemiologia molecular em 89 isolados clínicos de *S. aureus* oriundos de hospitais públicos da cidade do Recife/PE, para melhor compreender a dispersão e a diversidade desses isolados, assim como a sua relação com as infecções nosocomiais. Foi realizada a pesquisa em 31 isolados MRSA e 58 MSSA, realizando-se análise do Cassete Cromossômico Estafilocócico *mec* (SCC*mec*). A tipagem molecular foi realizada utilizando as seguintes técnicas: polimorfismo do gene *coa*, *spa*, ribotipagem-PCR, MLST e PFGE. Foram observados isolados relacionados a clones epidêmicos internacionais MRSA como o Clone Epidêmico Brasileiro (BEC) (61% dos isolados MRSA), Pediátrico (36%), Nova Iorque/Japão (3%), USA400 (10% dos isolados MSSA), clone Berlim (2%), Pediátrico (14%), Nova Iorque/Japão (2%) e Oceania Sudoeste do Pacífico (17%). A análise do MLST e do gene *spa* revelou novos tipos de sequências multilocus e novos tipos de gene *spa*. Entre os 58 isolados MSSA, 30 foram considerados oxacilina-susceptíveis, *mecA* positivos (OS-MRSA). No estudo, foi possível documentar uma dispersão dos isolados MRSA e MSSA (incluindo os OS-MRSA) nos ambientes hospitalares, revelando um sério problema de Saúde Pública para a região.

Oswaldo Cruz Foundation, Aggeu Magalhães Research Center, CPqAM/Fiocruz.

Centro Universitário UNIFBV/Wyden

JU260

Construcción de mutante del último paso en la biosíntesis de ergosterol (*ERG4*) de *Xanthophyllomyces dendrorhous*

Maximiliano Alberto Venegas¹, Salvador Karim Barahona¹, Dionisia Sepúlveda Esperanza¹, Marcelo Enrique Baeza¹, Víctor Hugo Cifuentes¹, Jennifer Cecilia Alcaíno¹. ⁽¹⁾ Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CL

Xanthophyllomyces dendrorhous es una levadura basidiomicete que produce carotenoides, destacando la astaxantina por su interés biotecnológico. El isopentil-pirofosfato es precursor de los carotenoides y también de la síntesis de ergosterol, el cual corresponde al producto final de la vía de esteroides en hongos. Antecedentes experimentales sugieren que ambas rutas estarían reguladas por la vía SREBP, la cual regula los niveles de colesterol en células de mamíferos. En hongos, la vía SREBP se encuentra conservada y probablemente se encuentra activa en la mutante *cyp61-* de la biosíntesis de ergosterol de *X. dendrorhous* siendo responsable de la sobreproducción de carotenoides en este mutante. El objetivo de este trabajo fue identificar el gen *ERG4*, último gen de la biosíntesis de ergosterol que codifica una C-24(28) esterol reductasa, para luego obtener otra mutante de la biosíntesis de ergosterol y evaluar si se produce el mismo fenotipo sobreproductor de carotenoides como en la mutante *cyp61-*. La mutante del gen *ERG4* (CBS-6938 Δ *erg4*) se obtuvo mediante recombinación homóloga reemplazando el gen por una resistencia a zeocina. Se observó mediante RP-HPLC que la cepa CBS-6938 Δ *erg4* no es capaz de producir ergosterol, sino que acumula un intermediario distinto a este producto final y presenta un fenotipo distinto a la cepa mutante *cyp61-* (no sobreproduce carotenoides). Por otro lado, se midieron los niveles de transcrito del gen *HMG5*, gen estructural de la vía del mevalonato que produce los precursores de la síntesis de esteroides y carotenoides, en la mutante CBS-6938 Δ *erg4* y no se encontraron diferencias significativas respecto a su parental, como si ocurre en el caso de la mutante *cyp61-*. En conclusión, en la cepa CBS-6938 Δ *erg4* no se encuentra activa la vía de regulación SREBP, sugiriendo que no es la ausencia de ergosterol la que activa esta ruta, sino más bien un cambio en la composición de esteroides.

Financiamiento: FONDECYT 1160202

JU261

Estudo do polimorfismo *Apal* do gene do receptor de vitamina D na hanseníase

Moura Leticia Siqueira¹, Paz Jasna Letícia Pinto¹, Santos Everalda Cordeiro², Silvestre Maria Do Perpétuo Socorro Amador², Lima Luana Nepomuceno³. ⁽¹⁾ Bacteriologia, Universidade do Estado do Pará, Belém, BR ⁽²⁾ Bacteriologia, Universidade Federal do Pará, Belém, BR ⁽³⁾ Bacteriologia, Universidade Federal do Ceará, Belém, BR

A evolução da hanseníase depende de aspectos imunológicos e genéticos do hospedeiro, sendo forma ativa da vitamina D fundamental para a regulação do sistema imune. Estudos implicaram a variação de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) no gene do receptor de vitamina D (VDR) com a susceptibilidade a várias doenças, incluindo a tuberculose e a hanseníase. O objetivo foi verificar a relação entre os SNPs *Apal* (rs7975232) do gene do VDR e a hanseníase. O estudo foi realizado com 84 indivíduos dos municípios de Rondon do Pará e Goianésia, no estado do Pará, Brasil. Foram incluídos 48 pacientes, sendo 31 multibacilares (MB) e 17 paucibacilares (PB). Adicionalmente, foi incluído um grupo de 36 contactantes que moram com o paciente (intradomiciliares) e não apresentam sintomas clínicos de hanseníase. Foi realizada a coleta de sangue para a extração de DNA e análise do polimorfismo *Apal* (rs7975232) do gene VDR, submetido a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) tipificados através do sequenciador ABI 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems®). Não foram observadas associações significantes entre os SNPs *Apal* do gene do VDR e a susceptibilidade à hanseníase. Nos grupos de contatos e PB o genótipo C/A (44,9% e 58,8%; respectivamente) foi o mais frequente, enquanto o genótipo A/A foi o mais frequente nos grupos MB (37,4%). O genótipo C/C apresentou uma menor frequência no grupo PB (11,7%) quando comparado com os grupos contatos e MB (24,5% e 27%; respectivamente). Dessa forma, não foi encontrada relação entre o polimorfismo *Apal* (rs7975232) do gene VDR e a hanseníase. Entretanto, a prevalência do genótipo C/A entre contatos e a forma PB (mais branda) da doença, pode sugerir um genótipo de proteção.

Ministério da Saúde do Brasil

Genômica comparativa de *Staphylococcus aureus* para a discriminação de cepas causadoras de mastite bovina subclínica

RibonAndreaBarros¹, RochaLisSouza¹, SilvaDanielleMendes¹, VidigalPedroMarcusPereira², MendesTiagoAntônioOliveira¹.

⁽¹⁾ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, BR ⁽²⁾ Núcleo de Análise de Biomoléculas, Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, BR

Staphylococcus aureus é uma das principais bactérias causadoras da mastite bovina, uma doença predominante nos rebanhos leiteiros. A mastite bovina pode se manifestar de forma clínica, onde os sinais de inflamação são observados, ou de forma subclínica, sem sintomas aparentes, e que frequentemente evolui para a cronicidade. Os genomas de quatro isolados de *S. aureus* causadores de mastite bovina subclínica (170, 302, 1269, 1364) foram sequenciados por nosso grupo e foram contrastados com os genomas de duas cepas isoladas de mastite clínica (*S. aureus* RF122 e *S. aureus* N305) para identificar diferenças que pudessem ser ligadas à mastite subclínica. Não foi possível associar a presença de fatores de virulência ao tipo de manifestação, porém mais genes relacionados à produção de enterotoxinas foram encontrados no genoma de *S. aureus* RF122. Os genes que codificam a toxina 1 da síndrome do choque tóxico (*tsst-1*), a variante bovina da enterotoxina C (*secbov*), a enterotoxina t e dois homólogos da streptolisina S de *Streptococcus pyogenes* foram exclusivos da cepa RF122. A presença de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) nos genomas subclínicos foi averiguada comparando 36 genes que codificam fatores de virulência com seus ortólogos em *S. aureus* RF122. SNPs não sinônimos foram encontrados nos genes *clfa* (fator de aglutinação A), *srtA* (sortase A) e *sspa* (protease). Diferentes programas de predição foram utilizados para a identificação das proteínas de superfície e secretadas das seis cepas, as quais foram usadas na construção de um plot de escala multidimensional (MDS). Os resultados mostraram alta similaridade entre as proteínas das cepas estudadas. Pela inspeção visual, identificaram-se dois grupos de ortólogos, cl3309 e cl3700, correspondentes a uma proteína hipotética e a uma lipoproteína, respectivamente, que possuem regiões de maior similaridade entre as clínicas ou subclínicas. Os dados encontrados *in silico* foram validados pela reação em cadeia da polimerase em isolados bacterianos coletados em fazendas leiteiras. Todos os isolados subclínicos foram corretamente identificados com os *primers* desenhados para as cepas subclínicas, porém existe a necessidade de redesenhar novos *primers* para a correta discriminação dos isolados clínicos e estender a análise para um número maior de isolados bacterianos.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)

JU263

A multi-approach for the detection of CRISPR-Cas gene cluster in a metagenome and bacterial strains isolated from different extreme environments in the Chilean Altiplano

Sebastián Rodríguez¹, Gonzalo Icaza^{1,6}, Vilma Pérez^{1,6}, Sergio Barahona², Pablo Aguilar³, Martha Hengst⁴, Francisco Ramonsellez², Verónica Molina⁵, Cristina Dorador^{1,6}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta & Departamento de Biotecnología, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL ⁽²⁾ Laboratorio de Microbiología Aplicada y Extremófilos, Departamento de Ingeniería Química, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL ⁽³⁾ Lake and Glacier Ecology Research Group, Institute of Ecology, University of Innsbruck, Innsbruck, AT ⁽⁴⁾ Laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL ⁽⁵⁾ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha de Ciencias de La Educación, Valparaíso, CL ⁽⁶⁾ Center for Biotechnology and Bioengineering (CeBiB), Universidad de Chile, Santiago, CL

In Bacteria, clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) and CRISPR-associated (Cas) proteins is an adaptive immune-system mechanism that store memory of past infections, and upon reinfection, deploy RNA-guided nucleases for sequence-specific silencing of phages and other mobile genetic elements (MGEs), such as plasmids and transposons. These systems consist of a *cas* gene cassette and a CRISPR array that encodes a series of direct repeats interspaced by variable sequences (spacers) that match sequences with MGEs. Recent studies indicate that in environments where there is a high diversity of viruses also there is a great probability that microorganisms could develop defense strategies such as CRISPR/Cas systems. A unique ecosystem where there is a high proportion of viruses is the Salar de Huasco which has been described as a high altitude wetland (3800 masl) located in the Chilean Altiplano with poly-extreme environmental conditions (high solar radiation, wide variation in salinity, high aridity and wide temperature fluctuations). To detect CRISPR-Cas sequences we used culture-independent methodologies coupled with classical microbial culture techniques to increase the degree of resolution in metagenomic analysis. Therefore, in the present study we use data from a metagenome recovered from the Salar de Huasco in combination to a set of three genomes of isolates from the Chilean Altiplano; *Exiguobacterium* sp. *SH31*, *Acidithiobacillus ferrivorans* *ACHa_45*, *Rhodobacter* sp. *Rb3*. Using strict parameters, we were able to detect 506 hits in the metagenome corresponding to proteins related to CRISPR/Cas and we managed to reconstruct partially the CRISPR system in each one of the analyzed independent genomes, due to the *cas* genes fragments detected for all three types of CRISPR-Cas systems (*cas1*, *cas2*, *cas3*, *cas3*, *csn1(cas9)*, *cas4b* and *cmr1-6*). Henceforth, the detection of *cas* genes in this poly-extreme environment supports the potential for CRISPR activity increasing the questions about Bacteria and virus dynamics.

CeBiB FB0001; FONDECYT 1140179, 1181773

JU264

Caracterización del Pangenoma de los *Acidithiobacilli*: Aspectos diferenciales entre sublinajes de bacterias hierro oxidantes

Camila Rojas¹, Ana Moya-Beltrán¹, Fernanda Sazo¹, Yasna Gallardo¹, Daniel Garrido¹, D. Barrie Johnson², Raquel Quatrini¹. ⁽¹⁾ Microbial Ecophysiology, Microbial Ecophysiology, Fundación Ciencia y Vida ⁽²⁾ School of Natural Sciences, Bangor University, Bangor, GB

Históricamente, tres especies azufre oxidantes - *A. thiooxidans*, *A. albertensis* y *A. caldus* - y una especie hierro/azufre oxidante - *A. ferrooxidans* – conformaban el género *Acidithiobacillus*. En la última década, utilizando análisis moleculares más resolutivos, tres nuevas especies hierro oxidantes - *A. ferrivorans*, *A. ferridurans* y *A. ferriphilus* - han sido reconocidas como parte de este grupo de bacterias. Sin embargo, se han aislado y reportado muchas otras cepas con características fenotípicas variables y con rasgos genéticos que aún persisten sin resolver. En el linaje de *A. ferrooxidans* (linaje 2), se han descrito recientemente al menos tres sub-linajes (2A, 2B y 2C), de los cuales únicamente el 2A (representado por la cepa tipo de la especie) ha sido estudiado cabalmente a nivel fisiológico y genómico. En este estudio, se emplearon estrategias pangenómicas para investigar las características diferenciales de los representantes cultivables de los sublinajes 2B y 2C. Para ello se secuenciaron 16 genomas del grupo y se llevaron a cabo estudios comparativos de diversa índole, incluyendo parentesco genómico (ej. ANI), análisis de huellas genómicas (ej. Tetra), análisis identificación de familias de ortólogos, delimitación del complemento génico central y flexible. La identidad nucleotídica promedio y otros índices genómicos sugieren que el sublinaje 2C es lo suficientemente divergente del sublinaje 2A para ser considerado una nueva especie. Tanto el sublinaje 2B como el 2C poseen un subconjunto de genes únicos del linaje cercano al 10% del complemento génico total (2B:9,2%, 2C:10,5%). Según los análisis de reconstrucción metabólica los rasgos diferenciadores entre los sub-linajes incluyen la presencia de flagelo, sistemas de degradación/utilización de la urea, de adquisición/utilización de hierro y de restricción/modificación. Estos resultados se interpretan y discuten en el contexto de la diferenciación adaptativa y la evolución del taxón.

AFB 170004, FONDECYT 1181251 (RQ), CONICYT scholarship 21171049 (AMB).

Oxford Nanopore MinION para la generación de genomas bacterianos completos y libres de errores

Francisco Salvà-Serra^{1,2,3,4}, Daniel Jaén-Luchoro^{1,2}, Hedvig Engström Jakobsson^{1,2}, Lucia Gonzales-Siles^{1,2}, Roger Karlsson^{1,2,5}, Antonio Busquets⁴, Margarita Gomila⁴, Antoni Bennasar-Figueras^{4,6}, Nahid Karami^{1,2}, Moore Edward RB^{1,2,3}. ⁽¹⁾ Department of Infectious Diseases, Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Gothenburg, SE ⁽²⁾ Centre for Antibiotic Resistance Research (CARE), University of Gothenburg, Gothenburg, SE ⁽³⁾ Culture Collection University of Gothenburg (CCUG), Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Gothenburg, SE ⁽⁴⁾ Microbiology, Department of Biology, University of the Balearic Islands, Palma de Mallorca, ES ⁽⁵⁾ Nanoxis Consulting, Nanoxis Consulting AB, Gothenburg, SE ⁽⁶⁾ Area of Infectious Diseases, Research Institute of Health Sciences (IUNICS-UIB), University of the Balearic Islands, Palma de Mallorca, ES

El desarrollo de los secuenciadores de nueva generación ha supuesto una revolución genómica, permitiendo generar millones de lecturas de ADN en horas. Las plataformas Illumina producen lecturas de alta calidad, aunque de corta longitud, impidiendo así completar la resolución de genomas. PacBio permite cerrar genomas sin errores, pero su elevado coste y exigentes requerimientos de calidad y cantidad de ADN, la hacen tediosa y en ocasiones inviable. Recientemente, Oxford Nanopore Technologies lanzó al mercado el secuenciador portátil MinION: simple, rápido y capaz de producir lecturas de hasta 2.000.000 pb, permitiendo de manera eficaz determinar regiones repetitivas y clústeres completos de genes de complicada resolución para las lecturas cortas. Sin embargo, su elevada tasa de error genera gran escepticismo entre la comunidad científica. En este estudio, demostramos como la combinación de lecturas de Illumina y Oxford Nanopore no solo mejora la calidad del ensamblaje, sino que es capaz de generar un genoma completo y libre de errores. Por una parte, la cepa tipo de *Streptococcus pyogenes* (NCTC 8198T) fue secuenciada (Wellcome Sanger Institute) con una plataforma PacBio RSII. Paralelamente, *S. pyogenes* CCUG 4207T (=NCTC 7465T) se secuenció con las plataformas Illumina HiSeq y MinION. Las lecturas Illumina, una vez cribadas (Sickle), se combinaron y ensamblaron lecturas Nanopore mediante SPAdes. El ensamblaje híbrido fue comparado con el de PacBio. La combinación de lecturas Illumina y Nanopore generó un *scaffold* de 1.914.862 pb, idéntica longitud a la obtenida al ensamblar lecturas PacBio. Las comparaciones también mostraron 100% de identidad entre los dos ensamblajes. Este estudio demuestra por primera vez la reproducibilidad de un ensamblaje y con elevada fidelidad utilizando lecturas Nanopore, superando las limitaciones inherentes a su tasa de error. Este método está siendo actualmente utilizado en la Colección de Cultivos de la Universidad de Gotemburgo (CCUG, Suecia) para obtener genomas completos de cepas de referencia. Oxford Nanopore MinION en combinación con Illumina es capaz de generar un genoma completo, libre de errores e idéntico a PacBio.

Trabajo financiado por el Departamento de Microbiología Clínica del Hospital Universitario Sahlgrenska, por el proyecto número 6258 de FoU Laboratorimedecin y el proyecto número 720761 de VGR ALF-LUA.



JU266

Coevolution analysis of proteins NS3 and NS5B of hepatitis C virus in genotype 1b isolates

Karina Salvatierra¹, Hector Florez², Xavier López Labrador³. ⁽¹⁾ Faculty of Exact, Chemical and Natural Sciences, Universidad Nacional de Misiones, Posadas, AR ⁽²⁾ Faculty of Technology, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, CO ⁽³⁾ Virology Laboratory, Genomics and Health Area, Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunitat Valenciana (FISABIO), Valencia, ES

Background The effects of direct-acting antiviral agents (DAAs) are affected by the presence of resistant-associated variants (RAVs). Resistance mutations that are detected in a protein can be accompanied by other compensatory mutations (in the same protein or other), for this reason it is important to analyze if in the NS3 protease and the NS5B polymerase of hepatitis C virus (HCV), mutations or compensatory polymorphisms are observed that could contribute to the resistance to DAAs. **Methods** We analyzed two groups of non-redundant sequences of genotypes 1b of proteins NS3 protease and NS5B polymerase. For the analysis of intramolecular coevolution between the amino acid sites that belong to the same protein, and for the analysis of both proteins (coevolution intermolecular) the CAPS2 algorithm has been used. **Results** Coevolution analysis of proteins was realized, represented by a set of protein sequences. Some amino acids related to resistance to protease inhibitors (IP) (NS3- 86, 87, 117) and to non-nucleoside inhibitors (INN) (NS5B-300, 421, 426, 451) co-evolve with others, either intraprotein or interprotein level, possibly to maintain viral fitness. We can speculate that certain mutations of resistance to IP in NS3 protease could favor the selection of NNI-NS5B resistance mutations in NS5B polymerase. **Conclusions** Computational coevolution analysis allowed us to understand the protein interaction network of the HCV involved in antiviral resistance. The identified coevolving residues constitute highly relevant predictions of protein-protein interactions for further experimental identification of HCV protein complexes. The method can be used to analyze other viral proteins and to predict the associated protein interaction networks.

Consorcio de Investigación Biomédica de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP)-Spain

JU267

Anotação funcional de proteínas hipotéticas presentes no genoma central de *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar *ovis*

Souza SLP¹, Blanco IR¹, Araújo CLA¹, Souza LCP¹, Azevedo V², A Silva¹, Folador ARC¹. ⁽¹⁾ Centro de Genômica e Biologia de Sistemas, Universidade Federal do Pará, Belém, BR ⁽²⁾ Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR

Corynebacterium pseudotuberculosis biovar *ovis* é o agente etiológico da linfadenite caseosa, uma doença de relevância veterinária que acomete pequenos ruminantes. Esta patologia ocasiona grandes perdas econômicas ao agronegócio mundial, visto que afeta a produção de leite, carne e lã, além da condenação da carcaça destes animais. A fim de se buscar novos alvos terapêuticos ou vacinais para este problema, visto que os disponíveis atualmente são ineficazes, têm-se utilizado ferramentas de bioinformática para melhor compreensão dos mecanismos de patogenicidade desta bactéria. Além disso, através da abordagem pan-genômica é possível fazer a análise de genes pertencentes ao genoma central, que são aqueles compartilhados por todas as linhagens analisadas. Apesar da importância deste repertório de genes, existem diversas sequências caracterizadas como proteínas hipotéticas (PHs), as quais não possuem função predita. Portanto, a caracterização funcional *in silico* de PHs pode fornecer novas informações para a busca de proteínas com potencial terapêutico. Neste estudo, foi considerado o genoma central identificado através de análise pan-genômica pelo software PGAP de 32 cepas pertencentes ao biovar *ovis*. Posteriormente, as sequências de PHs foram obtidas através do Artemis e a anotação funcional foi baseada em *gene ontology* através da ferramenta GO Feat, que também integra os bancos de dados NCBI, KEGG, Uniprot, Pfam e EMBL. Ademais, parâmetros físico-químicos (ProtParam), localização subcelular (CELLO), redes de interação proteína-proteína (STRING) e potencial de antigenicidade (Vaxijen) também foram preditos. As análises pan-genômicas mostraram que 172 PHs compõem o genoma central de *C. pseudotuberculosis* biovar *ovis*, as quais 76 (44%) foram preditas funcionalmente pelas bases de dados adotadas. Dentre as mais promissoras, destacam-se proteínas com funções relacionadas a ligações moleculares e atividades enzimáticas, atividades metabólicas e regulação transcricional. As análises adicionais corroboram os resultados anteriores, particularmente 14 PHs preditas com *score* de antigenicidade acima de 0.4, indicando o potencial para o estudo das mesmas como alvos vacinais. Desta forma, além da compreensão funcional de proteínas desconhecidas, este estudo abre caminhos para o desenvolvimento de estudos *in vitro* mais aprofundados para a caracterização dos processos envolvidos das proteínas analisadas e a busca de novas soluções para o combate ao patógeno.

Estudio de la diversidad de plasmidios del complejo específico *Acidithiobacillus*

Cesar Valenzuela^{1,2}, Ana Moya-Beltrán^{1,2}, Yasna Gallardo¹, Daniel Garrido¹, Raquel Quatrini¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Ecofisiología Microbiana, Fundación Ciencia y Vida ⁽²⁾ Escuela de Ingeniería en Biotecnología, Facultad ciencias de la vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL

El complejo específico *Acidithiobacillus* agrupa 14 linajes específicos de bacterias acidófilas, autótrofas y azufre oxidantes, caracterizados a distintos niveles de profundidad. Debido al potencial biotecnológico de los acidithiobacilli, el interés por comprender la biología de este grupo se ha incrementado en las últimas décadas, y paralelamente también ha aumentado la accesibilidad a los genomas secuenciados de representantes de los diversos linajes. A pesar de su importancia como modelos de estudio en biominería, las herramientas genéticas disponibles para el grupo sigue siendo limitada, en particular son escasos los vectores plasmidiales empleados actualmente en su manipulación y estudio. Utilizando marcadores plasmidiales universales, los pocos plásmidos conocidos del taxón y más de 50 genomas del complejo específico hemos identificado y validado los elementos replicativos presentes en el conjunto muestral. Para ello se empleó un enfoque comparativo, distintas herramientas bioinformáticas como reclutamiento de lecturas, alineamientos basados en similitud e identidad de secuencia y anotación, junto con herramientas experimentales como electroforesis de campo pulsado, southernblot y PCR. Los resultados obtenidos dan cuenta de la presencia de elementos plasmidiales de diversos tipos y tamaños, incluyendo megaplasmidos de más de 200 Kb y plasmidos crípticos de escasas 4 Kb. Algunos de estos existen en su hospedero en estado integrado y otros son exclusivamente episomales. Los replicones secundarios en general presentan variaciones en su contenido génico, su arquitectura y organización, su %G+C y su secuencia. En este trabajo se interpretan y discuten las implicancias de las similitudes y diferencias entre tipos de plasmidos identificados, en el contexto de su rol en la adaptación fisiológica de los hospederos y de su potencial de diseminación entre cepas y especies del taxón. La comprensión cabal de la biología molecular de éstos será útil en el desarrollo de vectores para potenciar la implementación de un sistema genético para el taxón.

AFB 170004, FONDECYT 1181251 (RQ), CONICYT scholarships 21171049 (AMB).



JU269

Structure of the Cyanobacterial transcriptional regulome: gene-promoter network analysis within the phylum

Pablo Vergara-Barros¹, Beatríz Díez^{1,2}. ⁽¹⁾ Genética molecular y microbiología, Ciencias biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Centro de Ciencia del Clima y Resiliencia (CR)2

Cyanobacteria are photoautotrophic microorganisms and one of the main primary producers in many environments, especially where eukaryotic organisms cannot grow due to harsh chemical and physical conditions. Nowadays, studies of Cyanobacteria genomes have discovered the main characteristics of the biology and ecology of this phylum. However, biological data related to the cyanobacterial transcriptional processes is limited and it belongs just to a few members like *Synechocystis* (unicellular cyanobacteria) and *Anabaena* (heterocyst-developing filamentous cyanobacteria). To get a better understanding of the transcriptional regulatory processes of Cyanobacteria, we identified the transcriptional factor binding sites in the gene promoters of different cyanobacteria among the phylum. Furthermore, we built networks of the gene-promoter interactions, as an approach to the gene-transcription regulatory network. Our results show that cyanobacterial gene-promoter networks are highly connected, both for the unicellular as well as for the more complex filamentous cyanobacteria. The network of promoter genes is organized as a free-scale network, where a few nodes are highly connected while most nodes are poorly connected, an arrangement observed in many other biological networks such as co-occurrence networks or gene co-expression networks. Our network analysis also found that genes involved in a specific biological process are associated with other genes involved in the same process. A remarkable example is the case of the coding genes of the photosystem II proteins PsbA and PsbD, which are associated with other genes involved in photosynthesis like *psbH* and *psaE*. Our approach is enabling us to get a better understanding of the regulatory structure inside the Cyanobacteria phylum. We expect that these results, together with data obtained by other omic approaches, will allow us to predict how biological processes at the genomic level are regulated in these organisms of well-known global relevance in natural systems.

FONDECYT 1150171, CONICYT

JU270

Expresión diferencial de genes relacionados al sistema inmune en respuesta a la infección simple por *Piscirickettsia salmonis* y a la coinfección por *Caligus rogercresseyi* y *Piscirickettsia salmonis* en salmón del atlántico vacunado

Pamela Veloso^{1,2}, Carolina Figueroa², Brian Dixon³, Pablo Conejeros⁴, José A Gallardo². ⁽¹⁾ Escuela de Ciencias del Mar, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Naturales, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, CL ⁽²⁾ Escuela de Ciencias del Mar, Facultad de Ciencias del Mar y Geografía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL ⁽³⁾ Department of Biology, University of Waterloo, Waterloo, CA ⁽⁴⁾ Departamento de Ciencias Ambientales, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, CL

Las coinfecciones son comunes en la naturaleza, y pueden alterar el curso y gravedad de las diferentes enfermedades de los peces; sin embargo, las consecuencias de la coinfección para la resistencia a enfermedades ha sido poco estudiada. En este trabajo se evaluó experimentalmente la respuesta inmune a la infección simple por *P. salmonis* y a la coinfección por *C. rogercresseyi* y *P. salmonis* en *Salmo salar*. Se colectaron muestras de riñón y bazo a los 0, 5, 10 y 15 días para ambos tipos de infección y se realizó un análisis de expresión diferencial de genes mediante RNAseq. Dos tratamientos fueron realizados: 1) Peces vacunados infectados por SRS y 2) Peces vacunados coinfectados por Caligus/SRS. El análisis *in silico* del transcriptoma se realizó en muestras a 10 días post-infección y post-coinfección. Los RNAs obtenidos de las muestras en cada condición sirvieron para construir 4 librerías: 3B10D (coinfección Caligus/SRS; tejido bazo), 3R10D (coinfección Caligus/SRS; tejido riñón), 4B10D (infección SRS; tejido bazo) y 4R10D (infección SRS; tejido riñón) que fueron secuenciadas utilizando la plataforma HISEQ 2000 ILLUMINA. Se obtuvieron 225 millones de secuencias *paired-end*, de las que 94% alinearon contra el genoma de referencia de salmón del Atlántico. Se observó que al comparar ambos tipos de infección (SRS vs. Caligus/SRS) los genes expresados diferencialmente fueron escasos, 571 genes para riñón y 319 genes para bazo. En este último tejido, genes relacionados al metabolismo del hierro, como ferritina, eritroferrona, hemoglobina y receptor de transferrina, están siendo mayormente expresados en infección simple en relación a coinfección, a diferencia de la hemopexina y hepcidina donde se observa el caso contrario. Las interleuquinas 1, 10, 11, 13, así como el receptor para IL-1 están reguladas positivamente en coinfección, pero están reprimidos en infección simple. Por otra parte, en riñón, está sobre regulado el MHC clase I y complemento C3 en infección por SRS, no así en Caligus/SRS. El patrón global de expresión de genes es semejante para ambos tipos de infección, de un total de 39.898 genes estimados, solo 890 fueron expresados diferencialmente.

CONICYT Chile a través del proyecto FONDECYT 1140772 y de las Becas del Programa de Investigación Cooperativa de la OCDE (PCI 2015-CONICYT). Nos gustaría agradecer también a Salmones Camanchaca

Potencial de adesão bacteriano a materiais de uso hospitalar

Tânia Novais³, Santos Machado Adélia Cristina Santos¹, Araújo Janilde Silva¹, Da Silva Leila Ferreira¹, Da Silva Araújo Maria Francisca Lima², Zaranza De Carvalho Alícia Valéria Dos Santos³, Camelo Nivânia Lisboa¹, Maia Sandra Cristina¹, Pontes Stelma Regina Sodré¹, Moraes Francielle Costa¹. ⁽¹⁾ Departamento de Enfermagem, Faculdade Estácio de São Luís, São Luís, BR ⁽²⁾ Departamento de Enfermagem, Hospital São Domingos, São Luís, BR ⁽³⁾ Microbiologia, Universidade Federal Maranhão, Hospital Universitário do Maranhão

As infecções nosocomiais ocorre devido a falhas na execução de procedimentos essenciais de cuidados aos pacientes. Além disso, temos o déficit imunológico dos pacientes e a virulência dos microrganismos. Destaca-se o processo de adesão bacteriana na superfície de materiais hospitalares. O estudo verificou o potencial de adesão de algumas bactérias em materiais de uso hospitalar. Os ensaios de adesão foram realizados com: *S. aureus* (25923), *K. pneumoniae* (700603), *E. coli* (25922), *S. Typhi* (14024) e *P. aeruginosa* (27853). Foram preparadas suspensões bacterianas e padronizadas pela escala 0,5 de MacFarland. Os corpos de prova foram obtidos de fragmentos de 0,5 mm de látex siliconizado oriundos de cateter urinário, policloreto de vinila obtidos de sonda de aspiração e, fragmentos de 1 cm de inox provenientes de agulhas. Cada corpo de prova foi mantido, em tubos com 5 mL de caldo BHI, onde adicionou-se 0,1 mL da suspensão bacteriana e incubou-se em estufa a 37°C/3h. Os corpos de prova foram lavados e transferidos para tubos com 5 ml de salina e agitados em Vórtex por 30 segundos. Retirou-se 0,1ml de cada suspensão agitada, semeou-se em placas de Ágar Mueller Hinton e incubou-se em estufa a 37°C/24h para a contagem das unidades formadoras de colônia. A adesão bacteriana foi observada em todos os corpos de prova, divergindo apenas a intensidade da adesão frente às espécies estudadas. O material mais susceptível à adesão foi o látex siliconizado, seguido do PVC, sugerindo que a rugosidade desses matérias podem favorecer a adesão das espécies. A espécie com maior potencial de adesão foi a *E. coli* (670 UFC) e *S. Typhi* (417 UFC) a partir da alíquota obtida do látex siliconizado. A *P. aeruginosa*, diferente das demais espécies, apresentou maior interação com o PVC(403 UFC). Quanto ao aço inox, evidenciou-se que apesar das amostras conseguirem aderir, a contagem de UFC foram as mais baixas, variando entre 14 e 185, sugerindo que a baixa porosidade desse material está intrinsecamente relacionada a intensidade de adesão bacteriana. Conclui-se que o entendimento da adesão bacteriana é de suma importância, uma vez que possibilita prever se a adesão de uma determinada bactéria é favorável ou não em diferentes superfícies.

Comparación de medios de cultivo y condiciones de crecimiento para el aislamiento de especies enterohepáticas de *Helicobacter*

Sofía Ochoa¹, Oscar Martínez¹, Heriberto Fernández², Luis Collado¹. ⁽¹⁾ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL ⁽²⁾ Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL

Introducción: Las especies enterohepáticas del género *Helicobacter* (EHH) se han vuelto cada vez más importantes como patógenos zoonóticos emergentes debido a su asociación con gastroenteritis aguda, enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedades hepatobiliares. A pesar de que frecuentemente se detectan EHH en muestras clínicas mediante PCR, solo ocasionalmente, éstas son aisladas utilizando medios y condiciones atmosféricas diseñadas para *Campylobacter* spp. Esto debido a que aún no se han descrito las condiciones óptimas para el aislamiento de EHH, lo cual aumenta la subestimación de la importancia clínica de estos patógenos emergentes. **Objetivo:** Optimizar las condiciones de aislamiento para EHH, determinando el mejor medio de cultivo, atmósfera de incubación y la sensibilidad a antibióticos utilizados para generar condiciones selectivas. **Métodos:** Teniendo en cuenta la similitud taxonómica de *Helicobacter* con *Campylobacter*, se evaluaron medios comunes para el aislamiento de este último, entre ellos los agares Columbia, Bolton, Brucella y mCCDA (Oxoid), así como la atmósfera de incubación: microaerobiosis convencional (mediante CampyGen, Oxoid) y microaerobiosis con H₂ (por intercambio gaseoso). Se utilizaron seis especies representativas de EHH (*H. canicola*, *H. canis*, *H. enhydrae*, *H. equorum*, *H. pullorum* y *H. apodemus*), aisladas de diferentes hospederos animales. Diluciones seriadas de cada cepa fueron inoculadas e incubadas a 37°C durante 48 a 96 h. Se realizó recuento de UFC en placa y el resultado se convirtió a log₁₀ para su análisis utilizando el software estadístico R. Además, se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) para los antibióticos cefoperazona (Santa Cruz) y teicoplanina (BioVision). **Resultados:** Los medios Brucella y Columbia fueron los más apropiados para el cultivo de EHH ($P < 0,05$). Sin embargo, no hubo diferencia significativa entre las atmósferas evaluadas ($P = 0,32$). La CIM de las seis especies para cefoperazona varió en el rango entre 32-512 mg/ml y para teicoplanina entre 8-512 mg/ml. **Conclusión:** Las especies EHH pueden ser aisladas usando los medios Brucella o Columbia en microaerobiosis (con o sin H₂). Además, la concentración comercial del suplemento CAT (cefoperazona 8 mg/ml y teicoplanina 4 mg/ml, Oxoid) son adecuados para generar condiciones selectivas.

Proyecto PEF 2017-04 de la Dirección de Investigación y Desarrollo, UACH.



JU273

Ação antibacteriana da clorexidina incorporada em cimentos de ionômero de vidro

Oliveira Simone Gomes De¹, Renato Mayhé², Pereira Luana Cordeiro¹, Júnior Raphael Hirata³, Sampaio-Filho Helio Rodrigues¹. ⁽¹⁾ Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR ⁽²⁾ Odontologia, INCA, Rio de Janeiro, BR ⁽³⁾ Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR

Introdução Cimentos de ionômero de vidro (CIVs) são materiais restauradores com características de biocompatibilidade e auxiliam na prevenção e controle da cárie dentária devido à liberação de flúor. A fim de potencializar o efeito cariostático dos CIVs, tem sido proposto combinar este material restaurador com agentes antimicrobianos. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da ação antibacteriana do sal diacetato de clorexidina (DCHX) incorporado em CIVs contra *Streptococcus mutans*. **Métodos** O DCHX foi incorporado nos CIVs (Maxxion RTM - FGM e Fitro FilTM R - Nova DFL) nas proporções de 0,5%, 1% e 2%. A ação antibacteriana foi avaliada por testes de difusão em ágar e exaustão de DCHX. O efeito do fluoreto de sódio na ação antibacteriana do DCHX também foi testado. As análises estatísticas foram realizadas com os testes ANOVA e Student-Newman-Keuls (SNK). **Resultados** A capacidade de inibir o crescimento de *S mutans* foi proporcional à concentração de DCHX. Apenas os grupos de 0,5% e 1% Vitro FilTM R não foram significativamente diferentes. O 15º dia foi o dia de maior efeito contra o *S mutans* para ambos os CIVs. Não houve crescimento de *S mutans* nos períodos de 7 e 15 dias de exaustão. O crescimento das colônias ocorreu apenas na superfície do meio após 96 horas de incubação. Nenhum efeito antagônico foi observado sobre a capacidade antibacteriana do DCHX na presença de fluoreto de sódio. **Conclusões** O efeito inibitório do crescimento de *S mutans* foi dependente da concentração de DCHX. O fluoreto de sódio não foi capaz de inibir o crescimento de *S mutans*.

UERJ e Faperj

JU274

Production of polyclonal antibodies for toxin production diphtheria search for strains of *Corynebacterium diphtheriae*

Wagner Oliveira Brito^{1,2}, Cíntia Silva Dos Santos², Dias Alexandre ASO³, Raphael Hirata Junior², Mattos Guaraldi Ana Luiza². ⁽¹⁾ ibrag, MPSMLTF, Universidade do Estado do Rio de Janeiro-UERJ, Rio de Janeiro, BR ⁽²⁾ DIMIP, FCM, Universidade do Estado do Rio de Janeiro-UERJ, Rio de Janeiro, BR ⁽³⁾ Serviços Técnicos Especializados, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, BR

Diphtheria continues to be a reemerging disease in the world, with a high mortality rate despite the success of immunization protocols. The disease still requires an appropriate laboratory diagnosis for the microorganism, *Corynebacterium diphtheriae* and for the determination of toxin production by the clinical strains of the index case. In this investigation, diphtheria antitoxin antibodies were produced in rabbits, fractionated and tested in parallel to the antitoxin produced in horses (commercial SAD). Rabbits were immunized with the dimerized toxin (obtained by freezing and thawing for 5X), after approval by the UERJ animal testing committee. Clinical and reference strains were confirmed for the *tox+* gene (by PCR method) and tested by the radial immunodiffusion method (IDR) in culture media and with the modified ELEK test. Neutralization of the toxin was evaluated by VERO cell cytotoxicity test. Toxin expression on the surface of toxin-producing (ATCC 27012 *tox+*) and non-toxin producing (ATCC 27010 *tox-*) strains was evaluated after biotinylation of the Igs fraction and fluorescein-conjugated streptavidin by fluorescence method. SAD (produced on horses) generated several precipitation lines generating confusion during the interpretation of the test in the modified ELEK test, where some non-toxin producing strains had precipitation lines (false positive results). A disagreement of 80% was observed in the IDR results amongst the *tox-* and 40% strains by the Elek tests when SAD was used. Using rabbit immunoglobulins, there was only a variation for one *tox-* (HC03) strain and 90% concordance in the modified Elek assays. The rabbit antibody fraction neutralized the toxin at the 1:1200 dilutions when compared to 0.1 UI SAD. The preimmune serum of both rabbits were unable to neutralize the toxin or react through the Elek test. Toxin expression on the surface of the strains confirmed positivity on strain ATCC 27012 and negative results for strain 27010 by the fluorescence technique. The antibody produced in rabbits behaved as a more accurate reagent in the identification of the *tox+* *C. diphtheriae* strains, with a good neutralizing titer, and it should be used in the diagnosis of toxinogenicity for *C. diphtheriae*.

Ao Programa de Pós-graduação de Mestrado em Saúde, Medicina Laboratorial e Tecnologia Forense (MPSMLTF);

Ao CNPq, CAPES, PRONEX, FAPERJ e SR2-UERJ pelo auxílio financeiro fundamental para o desenvolvimento deste projeto.

JU275

Caracterización epidemiológica-molecular de *Clostridioides difficile* como agente etiológico de infecciones nosocomiales, 2015-2017, Paraguay

Maria Veronica Orrego¹, Natalie Weiler¹, Mario Martinez¹. ⁽¹⁾ Departamento de Bacteriología y Micología, Laboratorio Central de Salud Pública, Asunción, PY

Introducción: *Clostridioides difficile* es una bacteria causante de infección nosocomial cuyo principal cuadro clínico, la diarrea, se asocia al uso de antibióticos de amplio espectro. Puede sobrevivir en el ambiente por tiempo prolongado permitiendo su fácil diseminación por contacto y fómites, por lo que la detección oportuna del foco de infección es un pilar importante en control de esta infección. **Objetivo:** Caracterizar epidemiológica y molecularmente *Clostridioides difficile* como agente etiológico de infecciones nosocomiales. **Material y Método:** Estudio observacional de corte transversal prospectivo, muestreo no probabilístico de casos consecutivos. Se analizaron muestras de heces de pacientes hospitalizados focalizando en áreas de internaciones prolongadas con presentación de síndrome diarreico cumpliendo criterios de inclusión con sospecha de *Clostridioides difficile*, remitidas al Laboratorio Central de Salud Pública por instituciones de salud en el periodo 2015-2017. Se utilizaron métodos moleculares de Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de las toxinas tcdA y tcdB, toxinas binarias; y de subtipificación molecular Electroforesis de Campo Pulsado (PFGE) para la detección de *clusters*. **Resultados:** Se incluyeron 471 muestras. La prevalencia de *Clostridioides difficile* toxigénico fue 34% (158/471). En el 96% (152/158) de las muestras se detectaron las toxinas A y B; 3% (5/158) solo se detectó la toxina B y 0.6% (1/158) solo toxinas A. Se detectó 3 cepas con toxinas tcd y mutaciones tcdC. El rango etario de mayor presentación de casos fue de 60 a 79 años. Respecto al uso de antimicrobianos en casos positivos, la utilización fue 38% de betalactámicos, 22% de fluoroquinolonas, 18% de clindamicina. Se analizaron 26 cepas del total de positivos por PFGE, detectando 5 *clusters* en una institución de salud con 100% de relación genética conformados por cepas de las mismas o diferentes áreas de internación. **Conclusión:** Se detectó una prevalencia importante de *Clostridioides difficile* toxigénico y una alta presencia de *clusters* lo que sugiere la presencia de brotes intrahospitalarios por este patógeno en instituciones de salud del país. Las medidas de control con la detección oportuna, vigilancia activa, aislamiento de contacto y restricción en el uso de antibióticos en pacientes mayores con factores de riesgo son relevantes.

Proyecto del Fondo de Convergencia Estructural del Mercosur (FOCEM) "Investigación, Educación y Biotecnología Aplicadas a la Salud"



JU276

Evasion of the macrophages immune responses by *Listeria monocytogenes* serotypes associated to human infection

Carolina Abigail Paduro¹, Leandro Carreño², Roberto Mauricio Vidal¹. ⁽¹⁾ Microbiología y Micología, Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Programa de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL

Introduction: *Listeria monocytogenes* (LM) is as a foodborne pathogen, which in the last years has been considered as an emerging pathogen due to many outbreaks in Chile and worldwide. LM is divided on 13 serotypes, from which 4b, 1/2a and 1/2b are the most frequently isolated in sporadic cases and outbreaks and have also been related to the LM presence in food, displaying a clear clonal relation. Due to the high morbidity and mortality rate that LM produces on susceptible individuals, such as pregnant women, immunocompromised people and the elderly, understanding its mechanisms of immune evasion is highly relevant. LM invades non-phagocytic cells by using virulence factors such as internalins, but also survives degradation inside phagocytic cells, by interfering with autophagy. **Aim:** To determine the LM survival capacity and the ability to interfere with autophagy in murine macrophages of the most prevalent serotypes of LM Chilean isolates. **Methodology:** We identified the most prevalent serotypes of LM in Chilean food and clinical isolates between the years 2008-2017 and determined their clonal relationship by PCR and pulse field gel electrophoresis (PFGE). Survival capacity in Raw 264.7 murine macrophages of selected serotypes was determined by bacterial plating after infection, and autophagy was measured by LC3 immunofluorescence and Western Blot. **Results:** We found a higher frequency of LM isolates from serotype 4b in both clinical and food samples, correlated with a significant increase of its capacity to survive macrophage killing, compared to less prevalent serotypes. Interestingly, LM serotype 4b also induces a significant evasion of macrophage autophagy.

Funded by FONDECYT 1161161 and 1160336 and Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy P09/016-F



JU277

Una aproximación mediante espectroscopía de infrarrojo para el estudio de las interacciones entre *Helicobacter pylori* y *Candida albicans*

Sixta Liliana Palencia¹, María Elizabeth Berrio², Manuel Palencia³, Apolinaria García^{1, (1)} Microbiología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL ⁽²⁾ Mindtech Research Group (Mindtech-RG), Mindtech s.a.s., Cali, CO ⁽³⁾ Química, Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle, Cali, CL

Las interacciones entre microorganismos (MO) pueden definirse como la acción mediante la cual un MO puede tener efecto sobre otro. Estas pueden ser de diversa naturaleza (biológica, fisicoquímica, bioquímica), intra- e interespecíficas, positivas o negativas y, en el caso de MOs patógenos, pueden ocasionar deficiencias en el tratamiento, promover infecciones secundarias, contribuir a la prevalencia de enfermedades o generar el enmascaramiento de síntomas que dificulten su diagnóstico. Mediante espectroscopía infrarroja (FT-IR) es posible obtener información a nivel molecular que puede emplearse para la descripción de las interacciones entre distintas poblaciones de MOs objeto de estudio; sin embargo, debido a la complejidad de los espectros de sistemas biológicos se hace necesario establecer el marco de análisis base para el análisis de la información obtenida. En el caso particular de *Candida albicans* y *Helicobacter pylori*, los datos referentes a las distintas interacciones entre estos MOs son escasos actualmente, estando muy poco entendidas. El objetivo de este estudio fue avanzar en la identificación y descripción de las diferentes interacciones que pueden existir entre *H. pylori* y *C. albicans* mediante el análisis de perturbaciones espectrales bajo condiciones controladas (APECC) con el fin de definir los principales criterios a considerar en el análisis. Para lo anterior, la información espectral de poblaciones individuales de *H. pylori* y *C. albicans*, así como sus mezclas, se inmovilizaron sobre superficies modificadas de celulosa y se analizaron por triplicado mediante FT-IR. Los perfiles espectrales característicos tanto en el rango total del espectro obtenido como de sub-rangos se analizaron mediante FEDS (espectroscopía derivativa realzada funcionalmente) empleándose el índice de similitud espectral (ISE) como criterio de comparación. Las señales características identificadas se asociaron con grupos típicos de sistemas biológicos -OH, -C=O, C-H, y -NH, entre otros. Mediante la superposición espectral y correlación directa no fue posible alcanzar una significativa diferenciación espectral (ISE < 50%), mientras que mediante el análisis de sub-rangos por FEDS valores de ISE > 50% fueron obtenidos. Se concluye que el APECC-FEDS de los espectros FT-IR es una promisoriosa herramienta para el monitoreo de las interacciones entre estos MOs a través de cambios espectrales.

JU278

Rotavirus A infections in community childhood diarrhea from the Brazilian semiarid region during post-vaccination era

Pankov Rafaela Chemello¹, Gondim Rafaella Nogueira², Prata Mara Gondim³, Medeiros Pedro Henrique Quintela⁴, Veras Herlice Nascimento⁴, Santos Ana Karolina Silva⁴, Alexandre Havt⁵, Da Silva Marcelle Figueira Marques⁶, Fumian Tulio Machado⁶, Miagostovich Marize Pereira⁶, Leite José Paulo Gagliardi⁶, Lima Aldo Ângelo Moreira¹. ⁽¹⁾ Clinical Medical, Faculty of Medicine, Federal University of Ceara, Fortaleza, BR ⁽²⁾ Clinical Medicine, Faculty of Medicine, Federal University of Ceara, Fortaleza, BR ⁽³⁾ Farmacology, Faculty of Medicine, Federal University of Ceara, Fortaleza, BR ⁽⁴⁾ Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Federal University of Ceara, Fortaleza, BR ⁽⁵⁾ Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Federal University of Ceara, Fortaleza, BR ⁽⁶⁾ Virology, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, BR

Background: Group A rotaviruses (RVA) is one of the leading causes of acute gastroenteritis (AGE) worldwide. The monovalent vaccine (Rotarix® - RV1) has been providing great protection against RVA infections in Brazil since 2006.

Objective: This study aimed to investigate clinics, genetic diversity and coinfection patterns of RVA infections in children from 2-36 months old with or without diarrhea from the Brazilian semiarid region during post-vaccination era.

Method: Fecal samples were collected from each child, along with socioeconomic/clinical conditions by standardized questionnaire. A total of 291 viral RNA samples were extracted and analyzed by RT-qPCR for RVA confirmatory diagnosis. Amplification of VP6, VP7 and VP4 genes were performed by RT-PCR. Sequencing of VP7 and VP4 regions and phylogenetic analysis were conducted. **Results:** RVA infection was detected in 10.65% of the study population and was significantly associated with diarrhea, fever and children aging 2-12 months, while RVA absence was associated with children aging 24.1-36 months and complete vaccination schedule. Genotype G1P[8] was the most prevalent (57%), while unusual genotypes like G1P[4], G2P[8], G3P[9] were also detected. G1 and P[8] positive samples showed high similarities of nucleotides and amino acids sequences with RV1 strain. In addition, RVA coinfections were observed in high frequency and enteroaggregative *E. coli* was the most prevalent copathogen. **Conclusion:** The findings here presented suggest potential RVA burden in younger children due to vaccine shedding in non-hospitalized children from Brazilian semiarid region.

Supported by the National Fund for Scientific and Technological Development (FNDCT; Finep no. 0460.08), the Excellence Program of Research (PROEP-CNPq/IOC), and the General Coordination of Laboratories/Secretary of Health Surveillance, Ministry of Health.

JU279

***Staphylococcus aureus* metilino-resistente susceptible a oxacilina (OS-MRSA) portador del SCCmecV procedente de infecciones en seres humanos**

Lorena Victoria Pardo¹, Guillermina Giudice¹, María Inés Mota¹, Claudia Gutiérrez¹, Adriana Varela², Paula Aguerrebere³, Gabriela Algorta¹, Antonio Galiana⁴, Gustavo Varela¹. ⁽¹⁾ Montevideo, Medicine School, Universidad de la República, Montevideo, UY ⁽²⁾ Montevideo, Laboratorio de Microbiología, Centro hospitalario Pereira Rossell, Montevideo, UY ⁽³⁾ Bacteriología y Virología, Medicina, Universidad de la República, MONTEVIDEO, UY ⁽⁴⁾ Montevideo, Laboratorio de Microbiología, Hospital Maciel, Montevideo, UY

Introducción: *Staphylococcus aureus* es causa frecuente de infecciones humanas. El estudio de la susceptibilidad *in vitro* a los betalactámicos es útil para seleccionar un tratamiento antimicrobiano adecuado. La resistencia a metilina (MRSA) se define cuando la concentración inhibitoria mínima (CIM) para oxacilina es > 2 mg/L, debida en general a los productos de los genes *mecA* o *mecC*. Sin embargo, se han reportado cepas de *S. aureus* sensibles a oxacilina portadoras del gen *mecA* (OS-MRSA). El objetivo fue identificar y establecer las características moleculares de aislamientos OS-MRSA procedentes de infecciones humanas. **Metodología:** Se estudiaron 44 aislamientos de *S. aureus* categorizados por VITEK2 como metilino-sensibles con CIMs de oxacilina < 2 mg/L y detección de cefoxitina negativo. Se buscó la presencia del gen *mecA* por PCR. Se definió OS-MRSA a aquellos cultivos de *S. aureus* con CIM de oxacilina ≤ 2 mg/L y detección de cefoxitina negativo por VITEK2 con detección del gen *mecA*. A dichos aislamientos se les realizó: estudios de susceptibilidad a oxacilina y cefoxitina por método de Kirby Bauer y por elipsograma, prueba de látex para PBP2a, tipo de elemento SCCmec (según Oliveira y Kondo). Las cepas OS-MRSA se compararon por PFGE-*SmaI*. Se incluyeron 44 aislamientos de 40 pacientes. La mayoría de las muestras eran de piel y tejidos blandos (36/44). **Resultados:** Se identificaron como OS-MRSA 19 de las 44 cepas (12 con CIM para oxacilina de 2 mg/L por VITEK2). Por disco difusión las 19 cepas mostraron halos de inhibición para cefoxitina < 21 mm. Excepto uno, todos los aislamientos OS-MRSA presentaron prueba de látex PBP2a positiva. Por elipsograma 12 aislamientos presentaron CIM para cefoxitina de 6 mg/L y 18 mostraron CIM para oxacilina ≤ 2 mg/L. Portaron el elemento SCCmecV 18 de 19 aislamientos. Por PFGE 18/19 aislamientos tuvieron más de 85% de similitud. **Discusión:** Se registró en nuestro país la circulación de cepas OS-MRSA con perfil de PFGE indistinguible y SCCmec tipo V. Este hallazgo tiene implicaciones en las estrategias utilizadas por los laboratorios para la detección de MRSA y por ende en el tratamiento, ya que se podrían clasificar erróneamente como MSSA.

Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC). Universidad de la República.

Genotypic and phenotypic study of *Fusarium* spp. isolated from fusariosis in Sao Paulo State, Brazil

Mario Henrique Paziani¹, Almeida Margarete Teresa Gottardo ², Melhem Marcia De Souza C³, Marcia Regina Von Zeska Kress⁴. ⁽¹⁾ Biociências Aplicadas à Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - FCFRP, Universidade de São Paulo ⁽²⁾ Microbiologia, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, BR ⁽³⁾ Micologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, BR ⁽⁴⁾ Clinical Analysis, Toxicology and Food Science, FCFRP, University of São Paulo, Ribeirão Preto, BR

The filamentous fungi *Fusarium* spp. are common in environment and cause infections in both plants and animals. Members of the species complexes *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. moliniforme*, *F. fujikuroi* and *F. dimerum* have emerged as potential pathogens to humans. The incidence of fusariosis is high in immunocompromised patients and it is difficult to treat. In clinical practice, azoles and polyenes are used to treat fungal infections, however some *Fusarium* species are often resistant to antifungal therapy. *Fusarium* species usually form biofilms in ophthalmic lenses and also in hospital water pipes, promoting keratitis and systemic mycoses. Biofilm is related to the pathogenicity and virulence of this microorganism. In this study, the molecular identification of strains isolated from different anatomical sites was performed. In addition, the antifungal susceptibility and biofilm were evaluated. A total of 45 strains were isolated from onychomycosis (75%), dermatomycoses (20.5%) and peritoneal fluid mycoses (4.5%). Among all clinical isolates, 38 (84%) belong to *F. solani* complex (28 *F. keratoplasticum*, 8 *F. solani* and 2 *F. falciforme*), 6 (13%) to *F. oxysporum* complex (4 *F. palmarum*, 2 *F. vasinfectum*) and 1 (3%) to *F. fujikuroi* complex (*F. proliferatum*). 55% of the clinical isolates of *F. solani* complex have shown higher biofilm formation in contrast to other clinical isolates. All clinical isolates were sensitive to amphotericin B (Geometric Mean-Minimal Inhibitory Concentration 1.0 µg mL⁻¹) and Ciclopirox olamine (GM-MIC 16 µg mL⁻¹). On the other hand, all clinical isolates of *F. solani* complex and *F. fujikuroi* complex have shown resistance to itraconazole (GM-MIC >32 µg mL⁻¹) and terbinafine (GM-MIC >128 µg mL⁻¹). Furthermore, 33% of the clinical isolates of *F. oxysporum* complex were resistant to itraconazole (GM-MIC >32 µg mL⁻¹). In conclusion, *F. solani* complex is the most prevalent. In this species complex, many of the clinical isolates have shown high capacity to form biofilm and resistance to itraconazole and terbinafine. The complexes *F. oxysporum* and *F. fujikuroi* were less prevalent and the clinical isolates have shown low capacity to form biofilm.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2017/25300-8)

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

JU281

Selective antiprotozoal activity of a series of benzoylthioureas against *Trypanosoma cruzi*

Patrícia Pereira⁴, Bruna Fernandes⁴, Vitória Santos⁴, Marcelle Bispo³, Fernando Macedo Jr³, Eliandro Tavares⁴, Lucy Yamauchi⁴, Phílino Pinge-Filho², Tiago Brito¹, Sueli Ogatta⁴. ⁽¹⁾ Departamento de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, BR ⁽²⁾ Departamento de Ciências Patológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, BR ⁽³⁾ Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, BR ⁽⁴⁾ Departamento de Microbiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, BR

Background: Chagas disease (CD), caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, is a vector-borne neglected tropical disease affecting millions of people worldwide. CD is mainly associated with endemic regions of Latin America. However, because of the population migration trends, there is a growing recognition of CD in nonendemic countries of North America and Europe. Currently available drugs (nifurtimox and benznidazole) for the specific treatment of CD have significant activity in acute and short-term chronic infections, but limited efficacy during the chronic phase. Moreover, the side effects associated with their use can lead to discontinuation of the treatment. Therefore, new and more efficacious compounds for the treatment of CD are urgently needed. **Methods and Results:** Here, a series of nineteen benzoylthioureas were synthesized by two-step reaction of benzoyl-chlorides with different anilines. All compounds were purified by recrystallization and were obtained in moderate to high yields (53-99%). The antiprotozoal effect of benzoylthioureas was evaluated by incubating the compounds (1-100 µg/mL) with epimastigote (vector replicative, non-infective form) and trypomastigote (mammalian non-replicative, infective form) forms of the parasite. The minimum concentration of the compounds that causes 50% (IC₅₀) inhibition of epimastigotes growth or trypomastigotes viability compared to the untreated controls were determined after 72h (epimastigotes) and 24h-incubation (trypomastigotes) at 37°C. All compounds inhibited the growth of *T. cruzi* epimastigote forms, with IC₅₀ values ranging from 2.00 to 336.00 µg/mL. The most active compounds RTB 2, RTB 62 and RTB 110 exhibited IC₅₀ values of 5.37, 2.00 and 11.61 µg/mL and 14.62, 1.40 and 12.87 µg/mL for epimastigote and trypomastigote forms, respectively. The toxicity of the three compounds (CC₅₀) for mammalian was evaluated on LLC-MK2 cells by using MTT assay. Based on CC₅₀ (68.56, 79.69, 57.84 µg/mL for RTB2, RTB62, RTB110, respectively) and IC₅₀, a selective index values of 4.68, 56.92 and 4.60 were detected for the treatment of trypomastigote forms, indicating that these compounds were more selective towards the parasite. **Conclusion:** Our results reveal a potent toxic effect of benzoylthioureas against different life cycle forms of *T. cruzi*, indicating their potential for the development of new drugs for controlling Chagas disease.

Development Agency: Fundação Araucária, Capes and CNPq.

JU282

Análise comparativa de três ensaios imunossorológicos: aglutinação em látex, ELISA e teste imunocromatográfico para a detecção de *Escherichia coli* produtora da toxina Shiga

Silva Miriam A¹, Santos Anna Raquel R², Rocha Letícia B², Caetano Bruna A², Thais Mitsunari², Santos Luanda I², Polatto Juliana M², Horton Denise S², Dos Santos Luis F³, Guth Beatriz E⁴, Piazza Roxane M². ⁽¹⁾ Laboratório de Bacteriologia, Instituto Butantan, São Paulo, BR ⁽²⁾ Laboratório de Bacteriologia, Divisão de Desenvolvimento Científico, Instituto Butantan, São Paulo, CL ⁽³⁾ Centro de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, BR ⁽⁴⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, BR

Introdução: Os métodos diagnósticos para infecções por STEC são bastante empregados em laboratórios clínicos em países industrializados, porém é pouco frequente o seu uso em países em desenvolvimento por seu alto custo. Assim, foram desenvolvidos e comparados três ensaios imunossorológicos a fim de detectar as toxinas Stx1 e Stx2 utilizando anticorpos monoclonais (mAb) e/ou policlonais (pAb) produzidos *in house*. **Objetivo:** Avaliar a sensibilidade e especificidade dos métodos imunossorológicos padronizados: Aglutinação em Látex (AL), ELISA (EIA) e Imunocromatográfico (IC) para detecção de *Escherichia coli* produtora da toxina de Shiga. **Métodos:** No presente estudo 223 isolados bacterianos foram testados, dos quais, 98 STEC apresentando vários sorotipos e abrangendo diferentes subtipos de Stx. Os sobrenadantes bacterianos foram obtidos por meio do cultivo bacteriano sequencial em meio LB por 18h (1:100), seguido por mais 4h em caldo *E. coli* (1:10) contendo ciprofloxacino (5 ng/mL) e então, lisados com 20% triton X-100 (EIA) ou reagente de extração de proteína bacteriana (AL) ou 200 µg/mL de sulfato de polimixina B (IC). As microplacas de ELISA foram revestidas com pAb de coelho-IgG Stx1 ou Stx2 e a presença das toxinas foi detectada em sobrenadante bacteriano utilizando mAbs Stx1 ou Stx2. Para o ensaio de AL as partículas de látex foram previamente sensibilizadas com mAb Stx1 e Stx2 (1:1) e a presença das toxinas foi observada pela nítida aglutinação das partículas. Para o teste IC o pAb Stx1 ou Stx2 foi conjugado ao ouro coloidal e a membrana de nitrocelulose foi impregnada com pAb anti-IgG de coelho (linha controle) e mAb Stx1 ou Stx2 (linha teste). **Resultados e Conclusões:** O ensaio AL (mAb Stx1 e mAb stx2 em conjunto) apresentou 99% de sensibilidade e 95% de especificidade. Individualmente, os anticorpos anti-Stx1 apresentaram uma sensibilidade 100% e 98% e uma especificidade de 98% e 97% nos ensaios de EIA e IC, respectivamente. Já os anticorpos anti-Stx2 apresentaram uma sensibilidade de 92% em ambos os ensaios e uma especificidade de 100% e 98% nos ensaios de EIA e IC, respectivamente. A análise comparativa desses métodos nos permite concluir que, dispomos de ferramentas robustas para o diagnóstico das infecções por STEC.

FAPESP



JU283

Identificación de proteínas inmunorreactivas en la espora de *Clostridium difficile* R20291

Marjorie Pizarro-Guajardo¹, María Cristina Ravanal², Daniela Paez³, Eduardo Callegari³, Daniel Paredes-Sabja¹. ⁽¹⁾ Host-Microbiota Interactions and Clostridia Research Group, Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL ⁽²⁾ Laboratorio de Bioquímica, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL ⁽³⁾ SD-BRIN PROTEOMICS FACILITY, University of South Dakota, Vermillion, US

Clostridium difficile es el agente etológico de la infección de mayor incidencia intrahospitalaria a nivel mundial, cuyo principal factor de riesgo es el consumo de antibióticos. Este patógeno intestinal gatilla episodios de diarrea causados por la producción de toxinas (TcdA y TcdB). Durante la infección, se producen esporas, que son resistentes a los antibióticos y son diseminadas al ambiente. El 30% de los pacientes que sufren la infección por *C. difficile* (ICD) sufre episodios de recurrencia, ya que al ser tratados con antibióticos, las esporas adheridas en la mucosa intestinal permanecen viables y al restituirse las condiciones adecuadas para su germinación y proliferación, vuelve a iniciarse un ciclo infeccioso. Una terapia enfocada a remover las esporas del hospedero podría reducir la probabilidad de recurrencia. Sin embargo, los blancos terapéuticos para evitar la adherencia de la espora al hospedero se desconocen. En este estudio, se identificaron las proteínas inmunorreactivas de la espora cepa R20291, de relevancia clínica. El análisis de las proteínas extraídas de las esporas revela que las proteínas presentes en los spot inmunorreactivos corresponden a proteínas de la cubierta CotE, CotA y CotCB, proteína de exosporium CdeC, y una metiltransferasa citosólica. Estas proteínas conforman un grupo de candidatos para desarrollar una terapia de inmunización activa o pasiva con el fin de disminuir la tasa de recurrencia de ICD.

FONDECYT Regular 1151025

Identificación molecular, perfil de sensibilidad antifúngica y expresión de factores de patogenicidad en levaduras del complejo *Candida parapsilosis* aisladas de hemocultivos

Virginia M Podesta¹, Susana Amigot^{1,2}, Paula Funes¹, Alicia Luque¹, Elena M Tosello¹, Gladys Posse³, Marisa Biasoli¹.

⁽¹⁾ Micología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, AR ⁽²⁾ Microbiología, CEMAR ⁽³⁾ Micología, Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas, Buenos Aires, AR

En 2005 Tavanti y col, describieron dos nuevas especies, *Candida metapsilosis* y *Candida orthopsilosis*, que, junto con *Candida parapsilosis sensu stricto* formaban el complejo *Candida parapsilosis*. La prevalencia de las levaduras del complejo se ha incrementado en los últimos 20 años, siendo hoy, la segunda causa de candidemia en Latinoamérica. El objetivo de nuestro trabajo fue identificar molecularmente cepas pertenecientes al complejo *Candida parapsilosis* aisladas de hemocultivos en nuestro medio, relacionándolas con su patogenicidad y susceptibilidad a agentes antifúngicos. Las levaduras fueron identificadas por MALDI-TOF y por una PCR específica para el gen SADH y su posterior digestión con la enzima de restricción *BanI*. Se determinó la expresión de las enzimas extracelulares fosfolipasas y proteinasas utilizando un medio con yema de huevo y con albúmina sérica bovina como sustratos respectivamente. La sensibilidad antifúngica se determinó con el sistema VITEK2 frente a los siguientes antifúngicos: caspofungina, voriconazol, anfotericina B y fluconazol. De un total de 41 cepas, 38 fueron identificadas como *C. parapsilosis sensu stricto* y 3 como *C. metapsilosis* por ambos métodos. El 66% (27/41) de las cepas expresaron fosfolipasas: 25/38 cepas de *C. parapsilosis sensu stricto* y 2/3 de las *C. metapsilosis*. El 76% (31/41) de las levaduras estudiadas expresaron proteinasas: 28/38 *C. parapsilosis sensu stricto* y todas las cepas de *C. metapsilosis*. Todas las cepas fueron sensibles a voriconazol, anfotericina B y fluconazol obteniéndose CIMs de $\leq 0,12$ mg/l, 0,5 mg/l y ≤ 1 mg/l en todos los casos respectivamente. Para caspofungina todas las cepas resultaron sensibles aunque, se pudo observar que *C. parapsilosis sensu stricto* presentó valores de CIM entre 0,5 y 1 mg/l, mayores que los obtenidos para *C. metapsilosis* (CIMs $\leq 0,25$ mg/l). Ambos métodos moleculares fueron concordantes para la identificación de las especies del complejo. No se observaron diferencias en la expresión de las enzimas, los resultados obtenidos concuerdan con la bibliografía, donde las levaduras del complejo *C. parapsilosis* son menos patógenas que *Candida albicans* la cual presenta una actividad de proteinasas y fosfolipasas del 100%. No se encontraron cepas resistentes a los antifúngicos probados.

Infecção do trato urinário comunitária associada a *Enterobacter cloacae* e *Klebsiella aerogenes*: características demográficas e suscetibilidade antimicrobiana

Borges Amanda MP², Ferreira João FG², Sousa Mireille AB¹, Farias Luiz M.², **Magalhães Paula P²**. ⁽¹⁾ Setor de Microbiologia e Parasitologia, Hermes Pardini, Belo Horizonte, BR ⁽²⁾ Departamento de Microbiologia, ICB, UFMG, Belo Horizonte, BR

O gênero *Enterobacter*, criado em 1960, é composto por bastonetes Gram negativos anaeróbios facultativos, móveis e capsulados. O gênero tem sofrido alterações taxonômicas frequentes, sendo a mais recente delas, a realocação da espécie *Enterobacter aerogenes* no gênero *Klebsiella*, passando a ser denominada *Klebsiella aerogenes*. *Enterobacter* (incluindo-se aqui *K. aerogenes*) está incluído no grupo ESKAPE, que abriga microrganismos reconhecidos como um desafio para a área de saúde, muito prevalentes e associados a dificuldades no tratamento, devido à alta capacidade de expressar resistência antimicrobiana. *Enterobacter cloacae* e *K. aerogenes* estão frequentemente associadas à etiopatogenia de infecções dos tratos respiratório e urinário, bem como bacteremia. A infecção do trato urinário (ITU) é uma das doenças de natureza infecciosa mais prevalentes em seres humanos. O envolvimento das espécies tanto em infecções relacionadas à assistência à saúde como em infecções comunitárias, inclusive ITU, é crescente. Este estudo analisou a associação entre *E. cloacae* e *K. aerogenes* e ITU urinário comunitária e o perfil de suscetibilidade antimicrobiana das amostras. Foram incluídos 507 pacientes diagnosticados com ITU associada às duas espécies no Hermes Pardini, Belo Horizonte, Brazil, no período de novembro/2014 a março/2015. *E. cloacae* e *K. aerogenes* representaram 54,64% e 45,36% das amostras, respectivamente. Observou-se grande predomínio de pacientes do sexo feminino, 78,70%. O perfil de faixa etária demonstrou que a imensa maioria dos pacientes tem mais de 15 anos de idade (92,53%), com a seguinte distribuição: 16-30 anos = 23,81%, 31-60 anos = 35,27% e > 60 anos = 33,45%. Todas as amostras expressaram resistência à ampicilina e suscetibilidade à polimixina B. Detectou-se frequência elevada de resistência a cefalosporinas de 1.^a (98,44%) e 2.^a (97,47%) gerações e alta taxa de suscetibilidade a carbapenêmicos (0,95%). De forma geral, os dados gerados corroboram a literatura. O gene *kpc*, que codifica uma carbapenemase responsável pela resistência bacteriana a antimicrobianos carbapenêmicos, pesquisado por PCR, está presente em apenas 1,18% das amostras, sendo 0,39% em *K. aerogenes* (2 amostras) e 0,79% em *E. cloacae* (4 amostras).

CNPq, FAPEMIG, CAPES e PRPq/UFMG.

Aspectos epidemiológicos da tuberculose resistente no Brasil

Karina Andrade De Prince¹, Carlos Eduardo Mendes Dangelis², Ana Laura Rocha Martins¹, Cassio Barbosa Oliveira³, João Marcus Oliveira Andrade³, João Vitor Neves Durães³, Reinilson Santos Silveira³, Marcos Vinícius Macedo De Oliveira¹, Ana Paula Alessandretti³, Luçandra Ramos Espírito Santo⁴. ⁽¹⁾ Medicina, Faculdades Integradas Pitágoras de Montes Claros, Faculdades Integradas Pitágoras de Montes Claros, FIP-MOC, Montes Claros, BR ⁽²⁾ Fisiopatologia, Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES, Montes Claros, BR ⁽³⁾ Medicina, Faculdades Integradas Pitágoras de Montes Claros, FIP-MOC, Montes Claros, BR ⁽⁴⁾ Saúde mental e Coletiva, Faculdades Integradas Pitágoras de Montes Claros, Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES, Montes Claros, BR

Introdução: A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*. A resistência dessa bactéria aos medicamentos antimicrobianos tem contribuído para aumentar a proporção de óbitos e recidivas da doença. Assim, o objetivo do presente artigo foi analisar os aspectos epidemiológicos da tuberculose resistentes no Brasil, no período de 2012 a 2016. **Método:** Trata-se de um estudo de investigação, retrospectivo, transversal, de caráter descritivo e quantitativo. Teve como universo de pesquisa a base de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). **Resultados:** Foram notificados 361.359 casos de tuberculose no Brasil, no período avaliado. Desses 2483 (0,7%), foram casos de resistência a drogas, enquanto 621 (25%) apresentavam resistência a drogas de primeira linha, 909 (36,6%) casos apresentavam resistência a isoniazida, 268 (10,8%) eram resistentes a rifampicina e, 684 (27,5%) eram resistentes a isoniazida e rifampicina, caracterizando assim casos de tuberculose resistentes a múltiplos medicamentos (TB-MR). O número de casos resistentes no Brasil, variou de 134 a 850, com média 497. Observou-se um aumento expressivo no número de casos resistentes entre 2012 e 2015 (111%) e, um decréscimo de 84,2% em 2016. Em relação a distribuição dos casos de acordo com as regiões brasileiras, verifica-se um maior número de notificações na região Sudeste (n.1776/71,5%) e, menor nas regiões Norte (63/2,5%) e Centro-Oeste (65/2,6%). Em relação ao dados sociodemográficos dos pacientes, nota-se o predomínio da doença no sexo masculino (74,4 %), na faixa etária entre 20-59 anos (86,4%), em indivíduos de baixa escolaridade (82,5%), das raças branca (40,7%) e parda (36,1%). Analisando os dados clínicos, verificou-se maior número de casos em paciente alcoólatras (24,3%), usuários de drogas ilícitas (20,8%), e portadores da Aids (15,5%). Foi verificado através desse estudo que a maioria dos casos de Tuberculose resistente eram casos novos (65,01%) e destes 55,7% evoluíram para cura. Apesar disso, os óbitos totais em decorrência da tuberculose representaram 2,2% dos casos. **Conclusão:** A tuberculose se mantém como uma doença de alta incidência/prevalência em nosso país e, que apesar dos investimentos na saúde pública o percentual de casos de resistência a drogas permanece elevado, trazendo importantes repercussões clínicas e epidemiológicas.

JU287

Correlação do perfil de sensibilidade a antimicrobianos com a formação de biofilme em *Klebsiella pneumoniae* isoladas de infecções do trato urinário no sul do Brasil

Vanessa Radin¹, Halicki Priscila B¹, Ramis Ivy B¹, Silva Pedro A¹, Andrea Von Groll¹. ⁽¹⁾ Núcleo de Pesquisa em Microbiologia Médica, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Rio Grande, RS., BR

Klebsiella pneumoniae é um patógeno gram-negativo responsável por causar infecções nosocomiais bem como adquiridas na comunidade. A capacidade de *K. pneumoniae* adquirir resistência a múltiplos antibióticos tem dificultado o seu tratamento proporcionando uma crescente incidência desse agente patogênico, especialmente a nível hospitalar mas também impactando em frequentes infecções de origem comunitária, como as do trato urinário. Esses microrganismos possuem a capacidade de formar biofilme em superfícies bióticas e abióticas o que aumenta sua resistência intrínseca aos antimicrobianos (ATMs). No entanto, não é consenso se a sua capacidade de formar biofilme pode estar relacionada a resistência clínica adquirida aos ATMs. O objetivo desse trabalho foi correlacionar o perfil de sensibilidade aos ATMs com a capacidade de formação de biofilme em isolados clínicos de *K. pneumoniae*. Foram estudados 27 isolados clínicos de *K. pneumoniae* provenientes de amostras de urina de pacientes com infecção do trato urinário internados no Hospital Universitário Dr Miguel Riet Correa Jr, em Rio Grande/RS, Brasil. A identificação dos isolados e o perfil de sensibilidade aos ATMs foram determinados pelo aparelho automatizado BD Phoenix. Os testes de sensibilidade foram realizados para os ATMs das seguintes classes: aminoglicosídeos, carbapenêmicos, cefalosporinas, fluoroquinolonas, nitrofuranos, penicilinas, polimixinas e sulfonamidas. A indução da formação de biofilme foi realizada através do método de aderência a microplacas de poliestireno. A correlação entre o perfil de sensibilidade (sensível ou resistente) com a capacidade de formar biofilme (formador ou não formador) foi determinada pelo teste χ^2 realizado no programa SPSS versão 17.0 e a associação foi considerada significativa com $p \leq 0,05$. Foi encontrada uma correlação significativa entre o perfil de resistência a Norfloxacin, Piperacilina/Tazobactam e Sulfametoxazol/Trimetropim e a capacidade de formação de biofilme. Considerando que esses ATMs são frequentemente utilizados em infecções do trato urinário, a associação encontrada pode ser um indicativo que a formação de biofilme favorece ao desenvolvimento e/ou seleção de *K. pneumoniae* resistentes. No entanto, mais estudos devem ser realizados para determinar os mecanismos que levam a essa associação. Esses achados demonstram a importância de se considerar a capacidade de formação de biofilme para o aperfeiçoamento no controle e tratamento de infecções causadas por *K. pneumoniae*.

Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Enterobactérias produtoras de Beta-lactamases de espectro ampliado em uroculturas de pacientes ambulatoriais

Luçandra Ramos Espirito Santo¹, Geziella Aurea Aparecida Damasceno Souza², Karina Andrade De Prince³, Carlos Eduardo Mendes Dangelis⁴, Lúcia Maria Garcia⁵, Denise Cardoso Oliveira⁶, Daniella Mendes Alves⁶, Gonçalves Jaqueline Teixeira Teles Mateus Aug⁷. ⁽¹⁾ Programa de pós graduação em Ciências da Saúde, Faculdades Integradas Pitágoras de Montes Claros, Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES, Montes Claros, BR ⁽²⁾ Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, BR ⁽³⁾ Medicina, Faculdades Integradas Pitágoras de Montes Claros, Montes Claros, BR ⁽⁴⁾ Fisiopatologia, Faculdades Integradas Pitágoras de Montes Claros, Universidade Estadual de Montes Claros-UNIMONTES, Montes Claros, BR ⁽⁵⁾ Hospital Universitário da Unimontes, Universidade Estadual de Montes Claros-UNIMONTES, Montes Claros, BR ⁽⁶⁾ Microbiologia, Laboratório Siper S.A, Montes Claros, BR ⁽⁷⁾ Medicina, Faculdades Integradas Pitágoras de Montes Claros FIP-MOC, MONTES CLAROS, BR

Introdução: O principal mecanismo de resistência emergente entre as enterobactérias é a produção de β -lactamases de espectro ampliado (ESBL), enzimas capazes de hidrolisar os antibióticos da classe dos beta-lactâmicos, que são amplamente utilizados no tratamento de diversos tipos de infecção e a resistência aos mesmos torna-se um problema grave de saúde pública. Assim, esse estudo teve por objetivo avaliar a prevalência de enterobactérias produtoras de ESBL isoladas de uroculturas de pacientes ambulatoriais. **Método:** Trata-se de um estudo retrospectivo, descritivo, transversal e quantitativo, no qual foram analisados 6248 registros de urocultura de pacientes ambulatoriais no período de outubro de 2016 a setembro de 2017. A detecção das enterobactérias produtoras de ESBL foi realizada segundo as recomendações do *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI). Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com parecer 2.344.456/2017. **Resultados:** Das 6248 uroculturas analisadas durante o período de estudo, 805 (12,9%) foram positivas para enterobactérias. Dentre as enterobactérias isoladas, 35 (4,3%) apresentaram teste positivo para produção de ESBL. A maioria das cepas ESBL foram isoladas de uroculturas de pacientes do sexo feminino (54,3%) e com idade acima de 60 anos (60%). As bactérias ESBL mais frequentemente isoladas foram a *Escherichia coli* (68,6%), seguida por *Klebsiella pneumoniae* (25,7%), *Morganella morganii* (2,8%) e *Enterobacter sp* (2,8%). O estudo demonstrou elevada resistência das cepas ESBL aos antimicrobianos: cefepime, ácido nalidíxico, ciprofloxacina, norfloxacina e sulfametoxazol trimetropin. No entanto, os isolados de *Escherichia coli* ESBL apresentaram sensibilidade acima de 90% para os antibióticos imipenem, meropenem, amicacina e nitrofurantoína. Os isolados de *Klebsiella pneumoniae* ESBL apresentaram sensibilidade de 100% para os antibióticos imipenem, meropenem e amicacina. **Conclusão:** A prevalência de enterobactérias ESBL positivas em isolados de origem comunitária, apesar de baixa, demonstra a colonização de pacientes fora do ambiente hospitalar e a complexidade em estabelecer a origem dessa resistência, sendo necessárias medidas mais efetivas para detecção, e tratamento adequado dos pacientes acometidos, afim de, evitar a disseminação desses patógenos na população em geral.

Financiamento Próprio.

JU289

Colonización nasofaríngea por *Haemophilus influenzae* no tipable en niños ecuatorianos: ¿un patógeno emergente?

Regalado L Daniela A^{1,2}, Rivera-Olivero Ismar A^{1,7}, García Bereguian Miguel A^{2,3}, Leandro Tana^{1,2}, Daniel Garzón^{1,2,4}, Amanda Panepento⁵, Isabel Hernandez^{1,6}, De Waard Jacobus H^{1,7}, Enrique Terán^{1,2}. ⁽¹⁾ Colegio de Ciencias de la Salud, Universidad San Francisco de Quito, Quito, EC ⁽²⁾ Instituto de Microbiología, Universidad San Francisco de Quito, Quito, EC ⁽³⁾ School of Biological Sciences and Engineering, Yachay Tech ⁽⁴⁾ INSPI, Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública del Ecuador, Quito, EC ⁽⁵⁾ Rollings School of Public Health, Emory University, Atlanta, US ⁽⁶⁾ Facultad de Enfermería, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, EC ⁽⁷⁾ Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina, Universidad Central de Venezuela

Introducción: *Haemophilus influenzae* es un patógeno relevante en niños que produce infecciones como otitis, conjuntivitis, sinusitis y neumonía. Las vacunas contra *H. influenzae* tipo b no evitan infecciones provocadas por *Haemophilus influenzae* no tipable (*Hint*), y posterior a la introducción de estas vacunas, *Hint* ha incrementado su prevalencia. El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de la colonización nasofaríngea con *H. influenzae* y los serotipos circulantes en Ecuador. **Métodos:** Se obtuvieron hisopados nasofaríngeos de 220 niños sanos de entre 3 meses y 10 años de edad, desde enero hasta junio 2018, en las provincias de Imbabura, Guayas y Esmeraldas. La identificación del microorganismo se realizó a través de métodos microbiológicos estándar, y la serotipificación mediante PCR para tipificación de la cápsula bacteriana. Todos los niños estaban vacunados contra *H. influenzae* tipo b y *S. pneumoniae* (vacuna conjugada 10 valente). **Resultados:** De los 220 niños estudiados, 100 fueron indígenas de Imbabura, 78 mestizos de Guayas y 42 afroecuatorianos de Esmeraldas, con una portación de *H. influenzae* de 29%, 13% y 86% respectivamente. De los 75 portadores, uno solo fue *H. influenzae* tipo b y el resto fueron *Hint*; adicionalmente, el 80% estaba co-colonizado con *S. pneumoniae*. En los mestizos y afroecuatorianos se evidenció una mayor prevalencia de *Hint* en niños entre 1 a 3 años, mientras que en los indígenas el mayor porcentaje de portación fue en niños de 7 a 9 años. **Conclusiones:** La población investigada de tres grupos étnicos diferentes del Ecuador presentó un alto porcentaje de colonización por *Hint*, la cual, durante los tres primeros años de vida, puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de infecciones respiratorias, especialmente otitis. Este hallazgo revela la necesidad de realizar la búsqueda y vigilancia de este microorganismo para poder tomar medidas de control y prevención oportuna, mitigando el impacto de este patógeno emergente en la población.

Financiamiento: Collaboration Grant 2018 de la USFQ (HUBI 11195) y una beca irrestricta de Pfizer Inc. (HUBI 5540).

JU290

Comparative study of virulence markers in clinical isolates of *Cladophialophora carrionii* and *Fonsecaea pedrosoi*

Olga C Rojas¹, María G Moreno-Treviño¹, Gloria M González², Erick A Castillo¹, Alexandra M Montoya².⁽¹⁾ Ciencias Básicas, Ciencias de la Salud, Universidad de Monterrey, San Pedro Garza García, MX ⁽²⁾ Microbiología, Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, MX

Chromoblastomycosis is a chronic and progressive subcutaneous mycosis, endemic to tropical and subtropical climates. Little is known about the pathogenic mechanisms or virulence factors involved in the onset of infection by these agents. Observable phenotypic characteristics have been associated to virulence in other fungi, like proteases in *Candida albicans*, melanization in *Sporothrix* spp., and thermotolerance in several species. The aim of this study was to identify such putative virulence factors in chromoblastomycosis agents. For this, 29 *Cladophialophora carrionii* and 11 *Fonsecaea pedrosoi* clinical isolates were used to determine their (1) thermotolerance, (2) various hydrolytic activities, and (3) melanization pathway. All isolates tested grew at 30°C and 37°C. Only 3 *F. pedrosoi* isolates were able to grow slowly at 40°C. Regarding their hydrolytic capabilities, all strains of *F. pedrosoi* were positive for phospholipase activity and 75% showed esterase activity. *C. carrionii* had no phospholipase nor esterase activity. Overall, 90% of all isolates tested were positive for urea hydrolysis, and 10% showed hemolysin activity. Both strains were negative for DNase and gelatinase. Melanization pathway and its effect in growth was determined by using tricyclazole as pathway inhibitor. Our data shows the inhibition of melanin synthesis has an effect on *F. pedrosoi* and *C. carrionii*, mainly associated to diminished growth *in vitro*, anomalies in pigmentation, and a lack of conidiophores. Overall, our results were consistent for most isolates, with the exception of a significant difference found on the phospholipase and esterase activities of each species evaluated. Further, we detected growth at higher temperatures for *F. pedrosoi*, although the number of isolates for this species does not allow to make conclusions on the thermotolerance of this fungus. *F. pedrosoi* is associated with a more aggressive disease and a greater tissue persistence when compared to *C. carrionii*. The differential enzymatic production reported here may be linked to the particular clinical manifestations of *F. pedrosoi*.

We thank the University of Monterrey for providing the necessary funds for this project.

JU291

Genotipificación de *Trypanosoma cruzi* por PCR tiempo real pre y post tratamiento con nifurtimox

Tamara Rozas¹, Daniela Carrasco¹, Cristián Fuentealba¹, Justo Lorenzo Bermejo², Werner Apt³, Inés Zulantay³. ⁽¹⁾ Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Institute of Medical Biometry and Informatics, Universidad de Heidelberg, Heidelberg, DE ⁽³⁾ Laboratorio de Parasitología Básico Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL

Los métodos de genotipificación que se realizan en la actualidad para *Trypanosoma cruzi* son laboriosos y requieren previa amplificación del parásito. El objetivo general de este estudio fue genotipificar *T. cruzi* directamente en muestras de sangre de pacientes con enfermedad de Chagas crónica mediante PCR tiempo real. La extracción de ADN fue realizada en un volumen de 200µL de sangre, usando QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen), con un volumen final de elución de 100µL. Previo a la genotipificación, se determinó la carga parasitaria mediante ensayos de qPCR con el sistema de detección SYBR Green en equipo Mx3000PTM. Once casos pre y post-terapia con nifurtimox (8 años de seguimiento promedio). Fueron seleccionadas muestras pre-terapia que tuvieran cargas sobre 4 parásitos equivalentes/mL y que en post-terapia *T. cruzi* no fuera detectado. Como controles de reacción de *T. cruzi* se utilizaron cepas de referencia de los DTUs más prevalentes en la población chilena: Dm28c (DTU TcI), Y (DTU TcII), 92.80 (DTU TcV) y *Trypanosoma rangeli*. De los 11 genotipificados en pre-terapia, se obtuvieron 2 casos con TcI (18.2%), 2 con TcII (18.2%), 6 con mezcla TcI-TcII (54.5%) y 1 con TcV (9,1%), con cargas entre 4,67 y 171.100 par-eq/mL. Es posible concluir que los DTUs I, II y V han sido sensibles al tratamiento con NFX. Un gran número de casos está siendo evaluado, no obstante, la sensibilidad de este método es dependiente de la carga parasitaria.

FONDECYT 1161485 y EULAC-Health 16/T02-0108

Determinación *in vitro* de la endosimbiosis entre *Helicobacter pylori* J99 y *Candida albicans* ATCC 90028 como respuesta frente al estrés ácido

Kimberly Sánchez-Alonzo¹, Samuel Vega¹, Apolinaria García¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL

Introducción: *Helicobacter pylori* es una bacteria que infecta más del 50% de la población mundial. Este patógeno subsiste en el ambiente ácido del estómago asociándose a numerosas afecciones en este sitio anatómico en el humano. Diversos estudios revelan los mecanismos de *H. pylori* para sobrevivir al pH gástrico extremadamente ácido y como afecta esto a la terapia de erradicación. En cuanto a los mecanismos de transmisión de *H. pylori*. Hasta el momento no están totalmente dilucidados; sin embargo, se sabe que puede establecer relaciones con organismos eucariotas y que éstos pueden actuar como posibles reservorios para el patógeno. Recientemente levaduras del género *Candida* han sido reportadas como portadoras y posibles vehículos de transmisión de *H. pylori*; sin embargo, se desconocen los factores que gatillarían la entrada de la bacteria a la levadura. Por lo mencionado el objetivo general de este trabajo fue determinar la incorporación *in vitro* de *Helicobacter pylori* interior de *Candida albicans* en condiciones de estrés de pH ácido y asociarlo a endosimbiosis. **Metodología:** Se co-cultivó *H. pylori* y *C. albicans* a pH 3, 4 y 7. Posteriormente, para observar si hubo internalización, se realizó microscopía óptica cada 2 horas por 72 horas e inmunofluorescencia. Con el fin de confirmar lo observado por microscopía se amplificó el ADN 16S de *H. pylori* en el ADN total extraído de levaduras. **Resultados:** Se visualizó incorporación de *H. pylori* en *C. albicans* a todos los pH estudiados; sin embargo, el porcentaje de ingreso varío según los pH, observándose un mayor ingreso en pH ácido 3 y 4 que en el pH neutro 7. Se corroboró estadísticamente que *H. pylori* con *C. albicans* presenta mayor sobrevivencia, teniendo aumento de colonias por unidad de tiempo en los pH 3 y 4. **Conclusión:** En base a los resultados obtenidos, el pH ácido actúa como factor de estrés favoreciendo el ingreso de *H. pylori* en *C. albicans*.

JU293

Biofilm formation of vaginal *Lactobacillus* under different culture conditions and the influence of mucin

Dos Santos Camilla Itapary¹, Monteiro Cristina De Andrade^{1,2}, Galvão Stanley S Lima^{1,3}, Fernandes Elizabeth Soares⁴, Valério Monteiro Neto^{1,5}. ⁽¹⁾ Microbiology, Clinical microbiology, CEUMA, São Luís, BR ⁽²⁾ Biology, IFMA, São Luís, BR ⁽³⁾ Pharmacy, Pitágoras, São Luís, BR ⁽⁴⁾ Immunology, CEUMA, São Luís, BR ⁽⁵⁾ Pharmacy, Universidade Federal do Maranhão - UFMA, São Luís, BR

Biofilm formation can be a beneficial property of *Lactobacillus* strains to the female genital tract, protecting the host against invasion by pathogenic microorganisms and promoting long-term permanence on the vaginal mucosa. The aim of this study was to verify whether vaginal *Lactobacillus* strains are able to form biofilm in different culture media and whether mucin can enhance *Lactobacillus* capacity to form biofilm. Biofilm formation assays were performed in sterile 96-well polystyrene plates, coated or not with mucin, using three different media: BHI, RPMI and MRS. Plates were incubated anaerobically at 35°C for 24 hours. The intensity of biofilm formation was assessed by spectrophotometry after crystal violet staining. Strains were classified as weak, moderate and strong biofilm formers. All 12 vaginal strains formed weak biofilm in RPMI medium with or without mucin. Only strains *L. gasseri* LV192 and LV22 formed moderate biofilm in the absence of mucin in BHI medium. However, most bacterial strains formed biofilm with greater amount of biomass in MRS medium and the presence of mucin enhanced biofilm formation. Strains *L. gasseri* LV192, *L. gasseri* LV22, *L. paracasei*/*L. casei* LV4, *L. vaginalis* LV21 have formed moderate biofilm in MRS medium in the presence of mucin and *L. vaginalis* LV191 in MRS medium without mucin. In conclusion, biofilm formation was significantly influenced by cultivation of vaginal *Lactobacillus* in MRS medium, which stimulated it principally on mucin pre-coated plates.

Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão - FAPEMA

Universidade CEUMA



JU294

Genetic diversity of norovirus infections, co-infections, and undernutrition in children from Brazilian semiarid region

Gondim Rafhaella Nogueira³, Santos Ana Karolina Silva¹, Pankov Rafaela Chemello¹, Prata Mara Gondim², Medeiros Pedro Henrique Quintela¹, Veras Herlice Nascimento¹, Magalhaes Lyvia Carneiro³, Alexandre Havt², Fumiam Túlio Machado⁴, Miagostovich Marize Pereira⁴, Leite José Paulo Gagliardi⁴, Lima Aldo Ângelo Moreira². ⁽¹⁾ Pathology, Medicine, University Federal of Ceará, Fortaleza, BR ⁽²⁾ Pharmacology, Medicine, University Federal of Ceará, Fortaleza, BR ⁽³⁾ Medical Science, Medicine, University Federal of Ceará, Fortaleza, BR ⁽⁴⁾ Virology, Fiocruz Foundation, Rio de Janeiro, BR

Background: Norovirus (NoV) infections are known to have high morbidity and mortality rates and are, therefore, a major health problem globally. However, the impacts of NoV on child development remain poorly described. **Objective:** We evaluated the distribution of NoV genotypes in children from a low-income Brazilian semiarid region, in correlation with their clinical symptoms, nutritional status, and co-pathogens. **Methods:** The test population included children aged 2-36 months from six cities of the Brazilian semiarid region. Fecal samples were collected from each child, along with the information regarding their socio-economic/clinical conditions using a standardized questionnaire. Detection and quantification of NoV were performed by reverse-transcription quantitative polymerase chain reaction, followed by molecular and phylogenetic analyses. **Results:** The NoV detection rate was 45.2%, and its presence was associated with lower z-scores for weight-for-age ($P = 0.03$), weight-for-height ($P = 0.03$), and body mass index-for-age ($P = 0.03$). In addition, NoV infection was associated with more frequent respiratory illnesses ($P < 0.01$). GII.P7 (polymerase) and GI.3 (capsid) were the most frequent NoV genotypes and the analysis of the ORF1-2 junction identified recombinant NoV strains in 80% of the sequenced samples. Regarding co-infections, enteroaggregative *Escherichia coli* was the major predictor for diarrhea in NoV-positive samples ($P < 0.02$). Moreover, *Shigella* spp. was also associated with NoV-positive diagnosis ($P = 0.02$). **Conclusion:** This study highlights the genetic variability of NoV, underlines the associated with co-infections and undernutrition in infants from low-income Brazilian semiarid region.



JU295

Monitoring and analysis microbiological features of multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* in a nosocomial unit in Rio de Janeiro metropolitan area

Mota Higor F¹, Gusmão Letícia N M¹, Eliane Cristine Silva¹, Cecilia Maria Ferreira Da Silva¹, Faria Yuri V¹, Brito Wagner O¹, Cabral Fellipe O¹, **Santos Cíntia S**¹, Monica Cristina Souza¹, Raphael Hirata Jr¹, Ana Luiza Mattos-Guaraldi¹, Cassius Souza¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR

Corynebacterium striatum has been associated with an increasing number of cases of healthcare-associated infections (HAI), representing an important issue, as they increase mortality and morbidity rates and prolong hospitalizations, resulting, thus, in economic and social damages. Virulence factors such as resistance to antimicrobial agents, ability to adhere to diverse surfaces and to yield biofilm, *slime*, hydrolytic and proteolytic enzymes may contribute to bacterial pathogenicity. We aimed to analyze, retrospectively and prospectively, the epidemiological, microbiological and virulence aspects of *C. striatum* strains from the Hospital of the University of the State of Rio de Janeiro - HUPE / UERJ, identified during the period of August/2009 to December/2016. At first we confirmed the efficacy (100% compatibility with 16SrRNA and rpoB gene sequencing) of the MALDI-TOF technique and the screening scheme proposed by the LDCIC/UERJ for *C. striatum* identification. Eighty nine *C. striatum* strains were sent from HUPE/UERJ to LDCIC for identification, with the highest number of isolates in 2011/2012 (48.31%). The general ICU and UCIPG section had the highest percentages of isolated *C. striatum* strains (17.98% and 13.48%). Most of the samples were isolated from the respiratory tract (51.69%) and blood (16.85%). Seventy two samples were submitted to the disc diffusion antimicrobial susceptibility test and 90.3% had a multidrug resistance (MDR) profile. Vancomycin was the only antimicrobial agent with 100% bacterial sensitivity. The *ermX*, *aphA* and *cmX* resistance genes were investigated by conventional PCR in four MDR samples and two MDS samples. All MDR samples showed amplicons for all genes whereas MDS samples were negative for all genes. All tested samples has showed slime production in the Congo Red Medium and yielded biofilm on the polyurethane catheter and polystyrene surfaces, except 2401 BR-RJ/2012-MDR strain. The results indicate that MDR and MDS *C. striatum* biofilm producers were responsible for severe infections, including infections in patients using invasive medical devices, at HUPE/UERJ. Our data emphasize that *C. striatum* should be take into account as a pathogen related to health-care associated infections (HAI) in Brazil and efforts should be made to monitoring and elaborate strategies for the prevention, control and treatment of this corynebacteriosis.

CAPES, FAPERJ, CNPq, SR2-UERJ, HUPE-UERJ, UFRJ.

Incidência de infecções e colonizações causadas por enterobactérias produtoras de carbapenemases (EPC) em um hospital público do interior de Minas Gerais

Juliana de Fátima Santos¹, Melo Nathalya Isabel De¹. ⁽¹⁾ Farmácia, Farmácia, Faculdade Patos de Minas, Patos de Minas, BR

Introdução: A resistência bacteriana se tornou um grande problema de saúde pública, já que dificulta a antibioticoterapia e piora o prognóstico dos pacientes. Dentre os mecanismos de resistência destaca-se a produção de enzimas que degradam antibióticos, que é o mecanismo mais importante das bactérias gram-negativas frequentemente associadas a infecções hospitalares. Neste contexto, o tratamento de infecções causadas por enterobactérias produtoras de carbapenemases (EPC) constitui um grande desafio. **Objetivo:** Este trabalho teve como objetivo analisar o perfil dos pacientes que apresentavam colonização ou infecção causadas por EPC. **Metodologia:** Trata-se de um estudo retrospectivo descritivo. Foram avaliados os resultados positivos de testes moleculares das culturas de espécimes clínicos e de vigilância que apresentaram crescimento de microrganismos resistentes carbapenêmicos, de janeiro de 2012 a dezembro de 2017 e feito um levantamento de dados como sexo e idade dos pacientes, gênero e espécie das enterobactérias isoladas e prognóstico do paciente. **Resultados:** Foram incluídos 73 pacientes sendo que 55% apresentavam processo infeccioso causado por EPC e 45% apresentavam-se colonizados. Dos pacientes com infecção, 26 (65%) eram do sexo masculino, com idade média de 51 anos e 14 pacientes (35%) eram do sexo feminino com idade média de 66 anos. Vinte e quatro pacientes (64%) tiveram alta, 14 (35%) evoluíram para o óbito e 2 pacientes (5%) eram ambulatoriais. Dos pacientes colonizados, 23 (70%) eram do sexo masculino com idade média de 54 anos e 10 pacientes (30%) eram do sexo feminino com idade média de 65 anos. Vinte e um pacientes colonizados (64%) tiveram alta e 12 (36%) evoluíram para o óbito. *Klebsiella pneumoniae* predominou como causadora de infecções (28) e colonizações (25), seguida de *Enterobacter cloacae* com 10 infecções e 8 colonizações. Também foram isoladas *Escherichia coli* e *Serratia marcescens*. **Conclusão:** As infecções causadas por EPC são um problema de saúde pública, por isso, seu diagnóstico e tratamento devem ser padronizados na instituição e sempre que possível, acompanhado pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH). O uso racional de antimicrobianos é uma ferramenta importante no sentido de tentar minimizar o desenvolvimento de resistência.

JU297

MALDI-TOF MS como abordagem alternativa para determinação dos tipos capsulares de *Streptococcus agalactiae*

Ana Carolina Silva¹, Danielle Alvim¹, Ana Flávia Ferreira¹, Ana Caroline Botelho¹, Sergio Fracalanza¹, Lúcia Teixeira¹, Tatiana Pinto¹. ⁽¹⁾ Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR

Streptococcus agalactiae (Group B *Streptococcus*) pode atuar como agente colonizador ou infeccioso em humanos, animais bovinos e caprinos. Em humanos, causa manifestações clínicas, como pneumonia e meningite, principalmente em gestantes, neonatos e pacientes imunocomprometidos. Dentre os fatores de virulência essenciais desta espécie pode-se destacar a cápsula polissacarídica, que inibe a fagocitose e a ativação do sistema complemento. Além disso, a cápsula também representa o alvo para classificação das amostras de GBS em dez tipos capsulares (Ia, Ib, II a IX), sendo os sorotipos Ia, II, III e V os mais comuns de forma global. A determinação dos sorotipos é importante para fins epidemiológicos, de estudo de patogenicidade e de avaliação da cápsula como futuro alvo vacinal. No entanto, raramente é realizada em laboratórios clínicos, pois as abordagens disponíveis para este propósito, incluindo reações sorológicas ou de amplificação do *locus* capsular por PCR, são laboriosas e/ou onerosas. Porém, tecnologias baseadas em espectrometria de massas, como MALDI-TOF MS, têm ganhado espaço em laboratórios clínicos do mundo todo, incluindo aqueles em países em desenvolvimento. Neste estudo, uma abordagem baseada em MALDI-TOF MS foi avaliada como método alternativo para diferenciação de amostras de GBS de acordo com tipo capsular. Foram analisadas 108 amostras de GBS obtidas de diferentes fontes clínicas humanas e animais no Brasil e pertencentes aos sorotipos Ia, II, III ou V. As amostras haviam sido previamente caracterizadas quanto ao sorotipo por sorologia e/ou PCR. Amostras de referência de cada um desses tipos capsulares também foram incluídas. As amostras foram submetidas a um protocolo de extração de proteínas, utilizando ácido fórmico e acetonitrila, e a leitura em equipamento BrukerMicroflex LT de acordo com as instruções do fabricante. Os espectros gerados foram exportados e analisados no software BioNumerics v7.6. O número total de biomarcadores detectados variou de acordo com o sorotipo, de 88 no sorotipo Ia a 130 no sorotipo V. Além disso, foi possível determinar biomarcadores específicos dos sorotipos Ia (pico de 6944 *m/z*) e V (7965 *m/z*), enquanto os sorotipos II e III não apresentaram picos tipo-específicos entre as amostras analisadas.

FAPERJ, CNPq



JU298

Synergistic interaction between fluconazole and *n*-butanol fraction from *Terminalia catappa* against *Candida* spp.

Aline Michelle Silva¹, Rocha Carlos Henrique L¹, Pereira Eduardo Willian A¹, Santos Julliana R A², Rocha Flaviane MG¹, Monteiro Cristina A¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia Aplicada, CEUMA, Universidade Ceuma, Sao Luis, BR ⁽²⁾ Laboratório de Microbiologia Ambiental, CEUMA, Universidade Ceuma, Sao Luis, BR

Terminalia catappa is a plant very employed in folk medicine to treat several diseases. Studies have been reported its antimicrobial activity validating its use against several microorganisms, among them, yeasts of the genus *Candida*. Treatment of these infections is limited, with plant extracts and synergistic combinations among drugs considered promising alternatives. In this context, the present study evaluated *in vitro* combination between the *n*-butanol fraction of *Terminalia catappa* (BFTc) and fluconazole (FCZ) against *Candida* spp. For this, the antifungal activity of BFTc was evaluated against reference and clinical isolates of *C. albicans* and *C. glabrata* by microdilution method to establish the minimum inhibitory concentration (MIC). Checkerboard method was used to establish the fractional inhibitory concentration (FIC) to classify the interaction between the substances as synergism, antagonism or indifference. The interaction curve was done. The BFTc MIC ranged from 125 to 500 µg/mL for *C. albicans*, from 7 to 250 µg/mL for *C. glabrata* and has the value of 250 µg/mL for *C. krusei*. The checkerboard test showed that the interaction between the substances was synergistic, average FICs range from 0.1 to 0.3. The interaction curve showed that the concentrations of fluconazole necessary to inhibit the growth of the isolates were decreasing when combined as BFTc. All concentrations evaluated were synergistic. Altogether, the results reinforce the potential of BFTc in combination with FLC as a promising alternative for the treatment of fungal infections caused by *Candida* spp.

Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão FAPEMA

MRSA em pacientes ambulatoriais vivendo com HIV/aids no nordeste do Brasil

Cynthia Soares¹, Araujo Paulo Sergio², Maciel M^a Amélia Vieira³. ⁽¹⁾ Pernambuco, Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco ⁽²⁾ Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR ⁽³⁾ Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR

Colonização por *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) tem emergido e despertado grande preocupação, devido a sua distribuição na epidemiologia hospitalar, estando relacionado com exposição e tempo de internação, assim como o uso de dispositivos invasivos. No entanto, a distribuição de MRSA em indivíduos fora do ambiente hospitalar tem aumentado progressivamente nas últimas décadas e esta tendência tem sido também observada em pessoas vivendo com HIV/aids (PVHA), parecendo inclusive ser maior do que a encontrada na população geral. Diante disso investigamos a prevalência de MRSA em pessoas vivendo com HIV/aids (PVHA) em seguimento ambulatorial de hospital terciário do estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. **Métodos:** Foram coletados swabs nasais de 500 PVHA e realizados testes fenotípicos e moleculares para detecção de linhagens de MRSA através da técnica de Screening de oxacilina e técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). **Resultados:** *S aureus* foi isolado de swab nasal em 31,4% (IC 95%: 27,3 a 35,5) dos indivíduos, sendo 14% (IC 95%: 8,5 a 19,5) MRSA, confirmado pela presença do gene *mecA*. A maioria dos indivíduos onde houve resgate de *S aureus*, tinha média de idade de 41,5 anos e estavam em tratamento com antirretroviral (93,6%). A maioria apresentava contagem de células CD4 >200 (92%) e carga viral ≤100 cópias (79,1%). O uso de antimicrobianos nos últimos 12 meses foi encontrado em 21% dos indivíduos e 24,2% relataram uso de drogas ilícitas ao menos uma vez na vida. Os dados relacionados à infecção pelo HIV e outras variáveis relacionadas a colonização por MRSA foram coletados de prontuários e de um questionário aplicado a cada paciente. Apesar de não significativas as associações com HIV/aids e não uso de TARV apontam para uma maior chance de resistência a metilina. **Conclusões:** A prevalência de colonização nasal por MSSA (86%) e MRSA (14%) em PVHA foi mais elevada quando comparada com outros estudos nesta população, no entanto, não conseguimos estabelecer fatores associados ao risco.

Não teve financiamento

JU300

Cuantificación de grupos bacterianos en muestras fecales de pacientes con y sin carcinoma del recto

Rosa Liliana Solis Castro^{1,2}, Gabriela Freire Alberca², Mario Julio Avila Campos². ⁽¹⁾ Biología y Bioquímica, Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Tumbes, Tumbes, PE ⁽²⁾ Microbiología, Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, BR

El cáncer de recto es considerado un grave problema de Salud Pública en el Brasil y en el mundo debido a su aumento. Sumado a esto, los niveles de morbilidad y mortalidad son elevados. Esta investigación tuvo como objetivo analizar cuantitativamente la presencia de grupos microbianos, como *Escherichia coli*, filos *Bacteroidetes* y *Firmicutes*, *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., grupo *Bacteroides fragilis* y *Clostridium* cluster I, en muestras fecales de pacientes con y sin cáncer de recto. Fueron colectadas heces de 30 pacientes diagnosticados con cáncer de recto (CR), y de 18 individuos sanos (IS) sin pólipos y/o tumor, inscritos en el Instituto del Cáncer del Estado de São Paulo, SP, Brasil. El DNA total bacteriano fue extraído y la detección cuantitativa fue realizada con el sistema SYBR Green con iniciadores especies-específicos. El cálculo del número de copias por gramo de heces se determinó usando la fórmula de corrección descrita por Metzler-Zebelli et al., (2013) y el análisis estadístico por t-test ($P \leq 0,05$). Los números de copias obtenidos para *E. coli* y el filo *Bacteroidetes* mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con cáncer y sanos (*E. coli*, $P < 0,001$ y *Bacteroidetes*, $P = 0,004$). También, elevado número de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* fue observado en individuos sin cáncer. El filum *Bacteroidetes* presentó mayor nivel en relación al filum *Firmicutes* ($5,15 \times 10^7$ vs 5×10^3 número de copias por gramo de heces, respectivamente) en los pacientes con cáncer. *E. coli* fue observado en menor número por gramo de heces que los otros grupos bacterianos evaluados, sin embargo, en pacientes con cáncer estuvo presente en elevado número. Así, son necesarios mayores estudios para determinar el rol de esas bacterias, particularmente *E. coli* y *Bacteroidetes* en el carcinoma de recto.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Processo 2015/23666-0).

JU301

Bacterias asociadas a lesiones gástricas, aisladas de la mucosa del tejido gástrico

Claudia Troncoso^{1,4}, Nicol Burgos², Daniel Villarroel², Edmundo Hofmann^{5,6}, Eddy Rios^{5,6}, Armando Sierralta^{5,6}, Mónica Pavez^{2,3}, Leticia Barrientos^{2,3}. ⁽¹⁾ Programa de Doctorado en Ciencias, Mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, CL ⁽²⁾ Laboratorio de Biología Molecular Aplicada, Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, CL ⁽³⁾ Universidad de La Frontera, CL ⁽⁴⁾ Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Temuco, CL ⁽⁵⁾ Unidad de Gastroenterología, Hospital Hernán Henríquez Aravena, Temuco, CL ⁽⁶⁾ Unidad de Gastroenterología, Clínica Alemana de Temuco, Temuco, CL

El epitelio gástrico a pesar de su condición extremadamente ácida, puede ser colonizado por diversas bacterias, entre las más destacadas y estudiadas se encuentra *Helicobacter pylori*, por su estrecha asociación a cáncer gástrico, sin embargo publicaciones recientes sugieren que otras bacterias que forman parte de la microbiota gástrica pueden influir en el desarrollo de lesiones gástricas. Considerando estos antecedentes, se realizó un estudio observacional, de corte transversal basado en identificación de bacterias aisladas de muestras de tejido gástrico, obtenidas a través de endoscopia digestiva alta, realizada a pacientes atendidos en los dos centros más importantes de atención de salud público y privado de la región de La Araucanía. Se estudiaron 90 muestras de tejido, las que fueron cultivadas en medios enriquecidos para microorganismos fastidiosos, bajo condiciones de microaerofilia. Las bacterias aisladas fueron identificadas por caracterización fenotípica, molecular y MALDI-TOF. Se aislaron 47 especies cultivables, identificando 14 especies diferentes. Las más predominantes fueron *Helicobacter pylori* 16,7% (n=15), *Neisseria subflava* 14,4% (n=13), *Neisseria mucosa* 4,4% (n=4) y otras especies de *Neisseria* 8,8% (n=8). En menor grado se aisló *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus anginosus*, *Stenotrophomona maltophilia*, *Rothia* sp., *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, *Corynebacterium glucuronolyticum* y *Enterobacter sakazakii*, cada uno alcanzando 1,1% (n=1) respectivamente. *Helicobacter pylori* y diferentes especies de *Neisseria*, principalmente *N. mucosa*, *N. perflava* y *N. subflava* fueron predominantes en los casos con alteraciones gástricas, incluyendo metaplasia intestinal asociada a *N. subclava*, mientras que otras 5 especies, *Corynebacterium glucuronolyticum*, *Rothia* sp., *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus anginosus* y *Stenotrophomona maltophilia* fueron identificadas solo en individuos sanos, sugiriendo que bacterias no *Helicobacter pylori* pueden presentar un papel crucial en el desarrollo de enfermedades gástricas tales como gastritis crónica y metaplasias, por lo que deberían ser consideradas en los estudios microbiológicos de las lesiones gástricas.

Proyecto FONIS SA16I0197 y Beca doctoral CONICYT Folio 21171513.

JU302

Genes de virulencia y fenotipo de resistencia antimicrobiana en cepas de *Staphylococcus aureus* MR adquirido en la comunidad y asociados a atención en salud, aisladas de pacientes de un centro de salud privado, Santiago, Chile

Camilo Campusano¹, María Teresa Ulloa¹, Lorena Porte², Carmen Varela³, Camila Sanhueza¹, Germán Hermosilla¹. ⁽¹⁾ Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽²⁾ Laboratorio Clínico, Facultad de Medicina Clínica Alemana, Clínica Alemana Santiago. Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ Laboratorio Clínico, Clínica Alemana Santiago, Santiago, CL

Introducción. Las cepas de *S. aureus* metilino resistente adquirido en la comunidad (SAMR-AC) se diferencian de *S. aureus* metilino resistente Asociadas a Atención en Salud (SAMR-IAAS), principalmente por presencia de la toxina PV y menor resistencia antimicrobiana. Sin embargo, en los últimos años estas poblaciones, presentan variaciones. En nuestro medio, existe poca información relacionada con la comparación de características moleculares y de susceptibilidad entre SAMR-AC y SAMR-IAAS. El **objetivo** de este estudio es comparar la prevalencia de genes de virulencia y fenotipos de resistencia antimicrobiana en cepas de SAMR-AC y SAMR-IAAS aisladas de pacientes atendidos en un centro de salud de la RM. **Material y Métodos.** Se estudiaron 31 SAMR-AC y 18 SAMR-IAAS de pacientes atendidos en la Clínica Alemana de Santiago. 2013-17. La identificación de las cepas se realizó mediante Vitek MS. El genotipo de resistencia *mecA* y la detección de los factores de virulencia Cap, lukS-PV, α -toxina, δ -toxina, PSM α y ACME se realizó mediante PCR. La clonalidad mediante SpA *typing* y el fenotipo de resistencia a cefoxitina, sulfatrimetoprim, ciprofloxacina, eritromicina y clindamicina mediante VITEK 2 y difusión en agar. **Resultados.** SAMR-AC presentaron 21 tipos Spa, siendo Spa t008 (16%) el más prevalente, en cambio SAMR-IAAS presentó 8 tipos Spa, siendo Spa t105 (28%) el más prevalente. Las cepas SAMR-AC presentaron tipo capsular 5 y 8 (61,9%), y (26%) respectivamente, en cambio las SAMR-IAAS tipo capsular 5 (100%). Las cepas SAMR-AC/SAMR-IAAS presentaron 90,3% y 0% lukS-PV respectivamente. α -toxina, δ -toxina y PSM α en todas las cepas. ACME se detectó solo en SAMR-AC en un 9,7%. La resistencia a cefoxitina y sulfatrimetoprim fue 100% y 0% en ambos grupos respectivamente. Ciprofloxacina 12,9%/94,4%; eritromicina 6,5%/94,4%; clindamicina 3,2%/ 94,4% en SAMR-AC/SAMR-IAAS respectivamente. **Conclusiones.** Este estudio evidencia que la presencia de PV sigue siendo un marcador de SAMR-AC, en cambio los genes de citotoxinas proinflamatorias se detectaron en ambos grupos de cepas. Las cepas SAMR-AC son más sensibles a los antimicrobianos, sin embargo, aparecen algunas cepas resistentes, situación que se debe considerar en el tratamiento de estas infecciones.



JU303

Comportamiento de un test inmunocromatográfico comercial para el diagnóstico de leptospirosis

Tamara Iglesias¹, Paulina Meny¹, Clara Menéndez¹, Natalia Ashfield¹, Jair Quintero¹, Felipe Schelotto¹, Gabriel Gustavo Varela Pensado¹. ⁽¹⁾ Bacteriología y Virología, Medicina, Universidad de la República, MONTEVIDEO, UY

La leptospirosis es un problema de salud pública a nivel mundial. Se trata de una enfermedad zoonótica causada por cualquiera de los miembros patógenos del género *Leptospira* que afecta a la población humana tanto en ambientes urbanos como rurales. En Uruguay ocurren aproximadamente entre 500 y 1.000 casos por año (prevalencia estimada 15-20/100.000 habitantes), comprometiendo sobre todo trabajadores rurales, jóvenes. Las manifestaciones clínicas son variadas y pueden confundirse con otras enfermedades como dengue, gripe, hepatitis, meningitis, etc. Es importante realizar el diagnóstico etiológico correcto al inicio de los síntomas para identificar y tratar adecuadamente casos graves y también para actuar correctamente en situaciones de brotes. Las técnicas bacteriológicas clásicas como cultivo y microaglutinación (MAT) brindan un diagnóstico seguro, pero retrospectivo. Requieren tiempo de ejecución y experiencia para interpretar los resultados, impidiendo ofrecer un diagnóstico rápido y temprano. Actualmente se han desarrollado tests comerciales inmunocromatográficos (IC) basados en reacciones Antígeno-Anticuerpo, que permiten la detección en forma rápida de anticuerpos IgM o IgG. El objetivo fue evaluar el comportamiento diagnóstico de un test IC comercial que detecta IgM e IgG para *Leptospira interrogans*. Se estudiaron por el test 60 sueros de pacientes obtenidos en etapa temprana: 30 con infección aguda definida por el resultado de MAT (-/+, 1era y 2da muestra, respectivamente) y 30 sin infección por MAT (-/-, 1era y 2da muestra, respectivamente). El test resultó altamente específico para la detección de IgM (97%) y aunque tuvo una baja sensibilidad global (47%), permitió anticipar el resultado de MAT en 23% de los sujetos con leptospirosis aguda confirmada. En ninguno de los sueros analizados se obtuvo resultado positivo para IgG. En suma, se trata de un procedimiento sencillo, rápido, útil para aplicar en el primer nivel de atención sanitaria. Es necesario analizar una segunda muestra (10-15 días) cuando el resultado de la primera es negativo. Debemos valorar la falla del test para la detección de IgG anti-*Leptospira*.

Comisión Sectorial de Investigación Científica

Detección serológica de fiebre recurrente causada por especies de *Borrelia* en México

Edwin Vázquez-Guerrero¹, Adan-Bante Norma P², Mónica C Mercado-Urbe³, Lourdes M Villa-Tanaca¹, Job E Lopez⁴, José A Ibarra-García¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, MX ⁽²⁾ Departamento de Microbiología, Unidad Regional Sur, Universidad de Sonora, Navojoa, Sonora, MX ⁽³⁾ Departamento de Infectología Pediátrica, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, MX ⁽⁴⁾ Department of Pediatrics, Section of Tropical Medicine, Baylor College of Medicine, Houston, TX, US

Introducción: La fiebre recurrente transmitida por garrapatas (FRTG) y piojos (FRTP) es causada por diversas especies del género *Borrelia*. Tiene una tasa de mortalidad del 4 al 10%(FRTG) o del 10 al 40% (FRTP), cuando no es tratada, y del 2 al 5% con tratamiento temprano. Al momento no hay pruebas comerciales para su diagnóstico. La detección de GlpQ, homólogo de la glicerofosfodiester fosfodiesterasa Q, se ha usado como método diagnóstico en los EUA ya que está ausente en *B. burgdorferi*. **Objetivo:** Utilizar a la proteína antigénica recombinante GlpQ (rGlpQ) para el diagnóstico de FRTG y FRTP por Western blot en pacientes con Fiebre Recurrente en México. **Tipo y diseño de estudio:** Transversal descriptivo y retrospectivo. **Métodos:** Se usó la cepa de *E. coli* BL21 pET-19b-10xHis-rGlpQ para la sobre-expresión de la proteína recombinante. Esta se purificó por cromatografía de afinidad. Para el Western blot (WB) se usaron sueros control negativo y positivo para detectar a rGlpQ purificada, extractos de *E. coli* como testigo negativo y de *B. turicatae* como control positivo. En el estudio se incluyeron pacientes de 0 a 99 años con fiebre de origen desconocido (FOD), posible FRTG o FRTP y con exposición a vectores. Las muestras se probaron para WB anti-rGlpQ en suero y tinción de Giemsa para la búsqueda de espiroquetas en sangre. **Resultados:** La sobre-expresión y purificación de rGlpQ, la validación y estandarización del WB se realizaron exitosamente. Se han procesado al momento 148 muestras de pacientes con definición de caso sospechoso de FRTG y FRTP, con factores de riesgo: 66 son hombres (44,5%), 82 mujeres (55,5%). Por su lugar de origen: 2 de Jalisco (1,4%), 1 de la CDMX (0,7%) y 145 de Sonora (97,9%). Se ha identificado hasta el momento un caso confirmado para FRTG teniendo un perfil positivo para rGlpQ y que se corroboró con extracto crudo de *Borrelia turicatae*. **Conclusiones:** Este es el primer caso reportado de un paciente con FRTG que confirma la presencia de esta enfermedad en México. El análisis de más muestras clínicas ayudará a describir las zonas endémicas y su prevalencia.

Especial agradecimiento a la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas (COFAA), del Instituto Politécnico Nacional.

Este proyecto recibió financiamiento parcial del proyecto SIP del IPN y del CONACYT.

JU305

Cryptic species of *Aspergillus* isolated from the lung of cystic fibrosis patient

Braga Vanessa Fávaro², Ludmilla Tonani², Roberto Martinez¹, **Marcia Regina Von Zeska Kress**². ⁽¹⁾Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, BR ⁽²⁾ Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, BR

Aspergillus species are ubiquitous fungus to which humans are daily exposed. They cause a wide range of infections, from cutaneous to disseminated, but also chronic infections and allergies. Cystic fibrosis (CF) is a genetic disease in which the patient carries a mutation in the CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) gene, which encodes a chloride channel involved in electronic exchanges through the plasma membrane of epithelial cell types. Consequently, a defective lung mucociliary clearance occurs, producing thick and sticky bronchial mucus, suitable for entrap airborne bacteria and fungi. *A. fumigatus* is so far the major agent involved in colonization of the airways of CF patients. However, the molecular identification of cryptic species of *Aspergillus* is not in the routine laboratory, making the etiological determination imprecise. The precise identification is important once species can differ in antifungal susceptibility and consequently in the patient treatment. Here is reported the isolation of *Aspergillus* spp. from sputum of CF patient. Molecular identification was performed, as well the combined biofilm matrix measurements with biomass and viability assays in susceptibility assessments of antifungals, antifungal susceptibility of fungal conidia and virulence assessment in the model system *Galleria mellonella*. Three sputum samples were collected at different time points from the same CF patient, and only one isolate was identified from each sample. *Aspergillus parasiticus*, *A. fumigatus* and *A. tamarii* were isolated and molecularly identified by DNA sequencing (Internal transcribed spacer and calmoduline gene) and restriction fragment length polymorphism methods. *A. parasiticus* and *A. tamarii* are sibling or cryptic *Aspergillus* species belonging to *Flavi* section, while *A. fumigatus* belongs to *Fumigati* section. Except for *A. parasiticus*, which showed high amphotericin B MIC (4 µg ml⁻¹), the clinical isolates were sensitive to amphotericin B, itraconazole, voriconazole and posaconazole. Additionally, the biofilm biomass of each clinical isolates was less sensitive to the antifungal drugs. *A. parasiticus* has shown greater biofilm biomass formation and high killing of *G. mellonella*. Thus, the species identified in the lung of this patient have different features, regarding sensitivity to antifungals, biofilm and virulence. Therefore, the correct species identification will aid in the correct management of the case.

FAPESP 2017/25300-8

Estimativa da sensibilidade das culturas de vigilância para *Acinetobacter* spp. resistente a carbapenêmicos em Centro de Terapia Intensiva de hospital universitário, no sul do Brasil

Roesch Eliane Würdig¹, Luciano Selbach², Santos Rodrigo Pires³, Kuplich Nádia Mora³, Konkewicz Loriane Rita³, Silva Cristofer Farias³, Kuchenbecker Ricardo Souza². ⁽¹⁾ Unidade de Microbiologia - Serviço de Diagnóstico Laboratorial, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, BR ⁽²⁾ Departamento de Epidemiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR ⁽³⁾ Comissão de Controle de Infecção Hospitalar, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, BR

Introdução: Entre as medidas de prevenção e controle de infecção hospitalar, a realização de culturas de vigilância para detecção de pacientes portadores de *Acinetobacter* spp. resistente a carbapenêmicos (ACMR) apresenta limitações quanto à sensibilidade do método e determinação do melhor sítio anatômico a ser pesquisado. Nosso estudo teve como objetivos estimar a sensibilidade das culturas e identificar os sítios anatômicos mais indicados para rastreamento.

Métodos: Estudo conduzido no período de junho de 2009 a maio de 2012, em Centro de Terapia Intensiva (CTI) de hospital universitário terciário, localizado no sul do Brasil. Foram incluídos todos os pacientes adultos consecutivos admitidos no CTI, submetidos pelo menos, a um rastreamento semanal para ACMR. As amostras foram coletadas através de *swabs*, dos sítios anatômicos orofaríngeos, pele e região perianal. No caso de pacientes em ventilação mecânica, o sítio orofaríngeo era substituído pelo aspirado traqueal e se houvesse ferida operatória e/ou cateter, era coletado um *swab* de cada um destes sítios. Para estimativa da sensibilidade foram selecionados os pacientes que, além de submetidos pelo menos a um rastreamento semanal, apresentaram uma cultura positiva para ACMR proveniente de amostra clínica recente, obtida até 10 dias antes ou até 7 dias depois da coleta dos *swabs* para rastreamento. Também foi estimada a prevalência de ACMR no CTI durante o período. **Resultados:** A prevalência de ACMR foi de 9,5% (163/1706 pacientes). Foram realizados 14.638 rastreamentos ao total, dos quais 192 foram positivos (1,3%). Os sítios que apresentaram maior sensibilidade foram: aspirado traqueal (41,5%), orofaríngeo (40%) e ferida operatória (37,5%). A sensibilidade total do método foi de 60%, considerando o rastreamento de múltiplos sítios. Considerando a abordagem de diferentes combinações de sítios, as mais sensíveis foram: aspirado traqueal+ferida operatória (46,7%), orofaríngeo+pele+região perianal (45,7%) ou aspirado traqueal+pele+região perianal (45,7%) e orofaríngeo+ferida operatória (41,5%). **Conclusão:** Tratando-se do rastreamento de um único sítio, a maior sensibilidade foi observada em sítios de trato respiratório (aspirado traqueal e orofaríngeo). Já pela abordagem combinada de sítios, o método apresentou maior sensibilidade quando aspirado traqueal+ferida operatória ou um sítio de trato respiratório (orofaríngeo ou aspirado traqueal)+pele+região perianal foram considerados.

JU307

Genes de virulencia de *Escherichia coli* detectados en muestras diarreicas de niños de la región Lambayeque – Perú

Antero Enrique Yacarini-Martínez¹, Emma Arriaga-Deza^{2,3}, Rosa Alvarado-Pineda⁴, Jorge Fupuy-Chung¹. ⁽¹⁾ Departamento de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina, Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, Chiclayo, PE ⁽²⁾ Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina Humana, Universidad De San Martín de Porres, Chiclayo, PE ⁽³⁾ Dirección de Investigación, Hospital Regional Lambayeque, Chiclayo, PE ⁽⁴⁾ Área De Enteropatógenos, Laboratorio Referencial De Salud Pública Lambayeque, Chiclayo, PE

Introducción Las enfermedades diarreicas constituyen un problema de salud pública mundial, causando morbilidad y mortalidad en niños menores de cinco años. Entre los agentes etiológicos que producen un cuadro diarreico importante se encuentra *Escherichia coli*. En el Perú, se han estudiado previamente a las *Escherichia coli* diarreogénicas (DEC) haciendo uso de diversos métodos diagnósticos; sin embargo, no se ha profundizado de manera sistemática sobre los seis grupos actualmente reconocidos por la literatura científica microbiológica. En la región Lambayeque hay estudios sobre esta problemática de salud, quedando un vacío de información acerca de la frecuencia con que los diferentes patotipos de *Escherichia coli* producen estos cuadros. **Metodología** En este trabajo descriptivo, transversal, de una sola cohorte, se analizaron muestras diarreicas de niños menores de cinco años colectadas desde enero 2014 a marzo 2015; el objetivo principal fue detectar por PCR Múltiplex, genes asociados a factores de virulencia de *Escherichia coli* aisladas de estas muestras. Se usaron primers específicos para genes de los seis patotipos causantes de diarreas infantiles: gen *daaD* (DAEC), gen *aggR* (EAEC), gen *eaeA* (EPEC), gene *stx* (STEC), gen *ipaH* (EIEC) y gen *st* (ETEC). **Resultados** Se detectó la presencia de genes de virulencia en el 37.74% de las 106 cepas analizadas. El grupo etario más afectado con la presencia de estos genes fue el comprendido entre 1-2 años, 48.6%. El gen *daaD* del patotipo DAEC presentó mayor distribución 16.98%. **Conclusiones** Este estudio demuestra una prevalencia del patotipo DAEC de *Escherichia coli* en muestras diarreicas pediátricas de la Región Lambayeque, el cual tiene una asociación con episodios diarreicos, dándole una mayor relevancia al estudio. Además, brinda un enfoque epidemiológico molecular que ayuda a una mejor identificación de variantes y patotipos de *Escherichia coli* y así aportar al estudio clínico para un mejor tratamiento frente a diarreas pediátricas y futuras investigaciones. Declaración de conflicto de interés: El presente trabajo es producto de una tesis para obtener el Grado de Maestro en Ciencias con Mención en Microbiología.

Colaboradores: Dra. Graciela Albino y Blgo. David Duran

Financiamiento: Investigación Autofinanciada por los autores.

Relação entre hanseníase e micoses superficiais: prevalência, identificação fúngica e suscetibilidade a antifúngicos

Daiane Heidrich^{1,2}, Rodrigo Vettorato^{2,3}, Eidt Letícia Maria⁴, Pagani Danielle M⁵, Ribeiro Amanda C⁶, Gerson Vettorato³, Amaro Taís G³, De Abreu Helenita K⁶, Tavares Priscila L², Hellwig Alessandra H.S.², Sousa Betina SA⁶, Pezzi Eduarda H⁶, Scroferneker Maria Lúcia^{2,6}. ⁽¹⁾ Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade do Vale do Taquari, Lajeado, BR ⁽²⁾ Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR ⁽³⁾ Serviço de Dermatologia, Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, BR ⁽⁴⁾ Secretaria de Saúde do Estado do Rio Grande do Sul, Ambulatório de Dermatologia Sanitária de Porto Alegre, Porto Alegre, BR ⁽⁵⁾ Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR ⁽⁶⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia do ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR

Pacientes com hanseníase, doença crônica causada por *Mycobacterium leprae*, apresentam diversas lesões na pele que podem ser provenientes da infecção bacteriana ou originadas indiretamente, pelo aumento do risco de lesionar-se devido à perda de sensibilidade nas extremidades - consequência da doença. Essas lesões podem servir de porta de entrada para outros microrganismos, como fungos. Além disso, os antibióticos administrados durante o tratamento da hanseníase e o corticoide utilizado durante as reações hansênicas, podem predispor a infecções ou a evolução de doenças fúngicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar as micoses superficiais em pacientes com hanseníase em relação à prevalência das espécies fúngicas causadoras das micoses e a suscetibilidade a antifúngicos. Para isso, foi realizado um estudo transversal com pacientes que atendidos entre maio e outubro de 2017 no Serviço de Hanseníase do Ambulatório de Dermatologia Sanitária na cidade de Porto Alegre, Brasil. As amostras coletadas foram encaminhadas para exames micológicos direto (EMD) e cultural (EMC) no Posto G do Hospital Santa Clara de Porto Alegre, foram identificadas por sequenciamento de região especificada para cada gênero de fungo e traçado perfil de sensibilidade a antifúngicos clínicos utilizando protocolos M38-A2 e M27-A3 do *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Foram avaliados 91 pacientes com hanseníase e 37 apresentaram suspeita de micose. Destes, 23 tiveram EMD positivos e 14 culturas do EMC foram identificadas, sendo oito dermatófitos (sete *Trichophyton interdigitale* e um *Epidermophyton floccosum*), dois isolados de *Fusarium keratoplasticum*, dois *Acremonium* sp., um *Candida albicans* e um *Arthrinium arundinis*. Três pacientes apresentavam garra, causada pela hanseníase, no local da micose, indicando relação das duas doenças (3/5 pacientes com garra). Terbinafina apresentou as menores concentrações inibitórias mínimas (CIMs) para os isolados de dermatófitos (0,0078-0,06µg/mL), enquanto que CIMs de fluconazol foram as maiores (4->64µg/mL). *Fusarium keratoplasticum* e *Acremonium* sp. apresentam CIMs maiores de todos os antifúngicos do que dermatófitos. Este é a segunda onicomiose causada por *Arthrinium arundinis* da literatura e apresentou baixa sensibilidade aos antifúngicos. Itraconazol apresentou CIMs maiores para dermatófitos isolados de pacientes com hanseníase (0,25-1µg/mL) do que sem a doença citados na literatura, indicando relação de suscetibilidade a antifúngicos entre micose e hanseníase.

Conselho Nacional Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

JU309

Estandarización de un método fluorescente cuantitativo para la determinación de actividad antibacteriana sobre *E. coli* utilizando el sustrato Resazurina

Cathia Coronel¹, Miriam Rolón¹, Ma. Celeste Vega¹.

(1) Laboratorio de Microbiología, Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica (CEDIC), Asunción, PY

Escherichia coli es una bacteria presente frecuentemente en el intestino distal de los organismos de sangre caliente y así como existen cepas inocuas, también son causantes de graves intoxicaciones alimentarias y se encuentran entre los microorganismos responsables de producir infecciones intrahospitalarias frecuentes. La búsqueda de nuevos agentes antibacterianos es una tarea constante y a contra reloj en la microbiología a causa del gran aumento de la resistencia bacteriana ante los tratamientos antibióticos. La Resazurina es un sustrato ampliamente utilizado en ensayos biológicos como indicador colorimétrico de la energía metabólica de la célula mediante la detección del cambio de color del sustrato, de su forma oxidada (azul) a su forma reducida (rosa), la cual también produce una señal fluorescente en respuesta a esa actividad. Basados en la problemática anteriormente expuesta y la capacidad fluorescente del sustrato nos planteamos como objetivo estandarizar un método de screening farmacológico cuantitativo y en microplaca que permita evaluar potenciales compuestos antibacterianos de forma rápida, eficaz y reproducible. Se utilizó la cepa de referencia ATCC de *E. coli* 25922 y la medición de la fluorescencia se realizó a 590nm de excitación y 530nm de emisión. Se analizaron las correlaciones entre diferentes UFC/mL de inóculo inicial en relación con diferentes concentraciones del sustrato Resazurina a lo largo del tiempo. También se analizaron diferentes tiempos de incubación y su relación con el sustrato a lo largo del tiempo. Las mejores condiciones para la estandarización del método la encontramos en un rango de inóculo inicial de entre $1,25 \times 10^3$ y $6,25 \times 10^4$ de UFC/mL incubados durante 4 horas a 37°C y utilizando para el revelado una concentración de Resazurina de 0,06mM. Para la validación del ensayo se utilizaron los fármacos de referencia Meropenem y Rifampina y los resultados obtenidos fueron similares a los reportados en la literatura con los métodos estándar, lo que demuestra que el ensayo fluorimétrico con resazurina es una buena herramienta para el tamizaje farmacológico de nuevos compuestos con potencial actividad antibacteriana.

Proyecto PINV15-61 - Programa Paraguayo para el Desarrollo de la Ciencia y Tecnología - Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (PROCIENCIA - CONACYT)

JU310

Avaliação antimicrobiana do extrato de *Schinus terebinthifolius* frente a microorganismos hospitalares relacionados ao biofilme dental

Caldas Joanny Karolliny Motta¹, Stefane Santos¹, Silva Kayane Barbosa¹, Chagas Luanna Dominick Machado¹, Oliveira Antonella Campos², Souza Beatriz Jesus², Oliveira Isamar Dantas³, Souza Isana Carla Leal⁴, Almeida Patricia De Oliveira Santos⁵, Daniela Droppa-Almeida⁶, Gaspar Livia Maria Amorim Costa⁶.

(1) Ciências Biomédicas, Graduando, Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, BR

(2) Ciências Biomédicas, Biomédica, Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, BR

(3) Ciências da Saúde, Mestre, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, SE, BR

(4) Saúde e Ambiente, Mestre, Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, BR

(5) Agricultura e Biodiversidade, Mestre, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, SE, BR

(6) Biotecnologia Industrial, Doutora, Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, BR

Introdução: A pneumonia nosocomial é a segunda infecção hospitalar mais comum e causa frequente de morte entre as infecções adquiridas nesse ambiente, sendo em grande parte associada ao uso de ventilação mecânica (VM). Os fatores de risco para seu desenvolvimento envolvem a desnutrição, a VM, o uso de sondas nasogástricas, broncoscopia, dentre outros procedimentos invasivos. Seus principais fatores etiológicos incluem microrganismos colonizadores e oportunistas da cavidade oral, em especial as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* que segundo estudos são as mais isoladas em biofilme dental, dentre outros patógenos responsáveis por esta infecção, sendo que o biofilme dentário pode fornecer melhores condições para a colonização temporária da cavidade oral por esses microrganismos. Diante desse fato, o uso de fitoterápicos vem crescendo cada vez mais, dentre esses fitoterápicos, encontra-se *Schinus Terebinthifolius*, popularmente conhecida no Brasil como aroeira. Estudos evidenciam que o extrato de aroeira possui potencial antimicrobiano. O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito antimicrobiano do extrato de *Schinus terebinthifolius* frente as linhagens ATCC e multirresistentes dos microrganismos potencialmente patogênicos para o trato respiratório inferior, relacionados às patologias da cavidade oral e biofilme dentário. **Metodologia:** Para isto, foram produzidos extratos hidroalcoólicos a partir do caule da aroeira, sendo colocados em banho ultrassônico por 3 horas (C1, C2, C3), para avaliação do potencial antimicrobiano através da concentração inibitória mínima. **Resultados:** Os extratos do caule apresentaram resultados para *Staphylococcus aureus* ATCC a partir das concentrações 3,125 mg/mL para C3. Para a espécie multirresistente foram 3,125 mg/mL para C1 e C2, e 6,25 mg/mL para C3. Concomitante a isso, para a espécie *Pseudomonas aeruginosa* ATCC as concentrações microbianas foram 12,5 mg/mL para C1 e C3, e para C2 6,25 mg/mL. Para a linhagem multirresistente, houve inibição em C1 e C3 com 50 mg/mL e para C2, 100 mg/mL. **Conclusão:** Baseado nestes resultados, comprova-se que o extrato hidroalcoólico do caule da aroeira possui atividade antimicrobiana, o que contribui para embasar pesquisas que visam a descoberta de formas alternativas de tratamento para infecções causadas por esses patógenos.



JU311

Visualization of a multispecies pathogen biofilm over a collagen scaffold

Camila Cardenas¹, Mario Vera¹, Tomás Egaña¹. ⁽¹⁾ Instituto de Ingeniería Biológica y Médica, Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile, CL.

Introduction: Chronic wounds are those that cannot heal due to impairment of the tissue regeneration process. This medical problem affects 6.7 million people and costs over 50 billion dollars for the US health system. In our current knowledge, these wounds fail to heal because of the persistent infection caused by a multispecies pathogenic biofilm that drives chronic inflammation, evades host's immune response, induces hypoxia, causes loss of the skin barrier function and tissue degradation by enzymes. In several studies, strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* bacteria have been found on clinical isolates from different wounds such as diabetic foot and pressure ulcers. In order to evaluate novel antimicrobial strategies, investigation calls for an in vitro robust model of biofilm formation that resembles the diversity and antibiotic tolerance that biofilms exhibit in chronic wounds. **Objective:** Characterize the complex combination of *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* forming biofilm over a scaffold, using different staining techniques. **Materials and methods:** Bacteria were seeded at equal proportions over an artificial skin scaffold, and allowed to form biofilm in minimal culture media, during 24 hours or 7 days. The use of fluorescent conjugated lectins, immunofluorescence, and lipophilic cell tracers was evaluated as a staining technique for pathogen visualization. **Results:** Combination of the three pathogens form a complex biofilm over the scaffold fibers, with higher biofilm formation capacity and different structural features compared to the respective monospecies biofilms. Conjugated lectins stained all bacteria present in the multispecies biofilm, while cell tracers allowed to distinguish each pathogen and track them until the 7 days of biofilm formation process. **Conclusions:** Combination of these three pathogens can form a complex biofilm over an artificial skin scaffold, which is more robust than the respective monospecies biofilms, and it is possible to visualize each pathogen using cell tracers.

Beca Conicyt Doctorado, FONDECYT 1161007, CORFO Línea-2. 2015-2017, FONDECYT 1160917.

JU312

Integrones de clase 1 en aislamientos clínicos de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium provenientes de la vigilancia de enfermedad diarreica aguda en Colombia

Jose Miguel Villarreal Ascencio¹, Nancy Flórez Delgado^{1,2}, Elizabeth Noelia Ubillus Borja^{2,1}, Paula Díaz Guevara², Lucy Angeline Montañó², Magdalena Wiesner Reyes². ⁽¹⁾ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Antonio Nariño, Bogotá, CO. ⁽²⁾ Grupo de Microbiología, Dirección de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, CO.

Introducción Los integrones, son plataformas de captura y diseminación de genes, presentes en enterobacterias resistente a antibióticos. La vigilancia nacional por laboratorio de Enfermedad Diarreica Aguda en Colombia entre 1997-2016, mostró que *Salmonella* Typhimurium es el principal serovar con 54% de los aislamientos multirresistentes. Este estudio busca identificar la presencia y clase de integrones en este serovar. **Materiales y métodos** Se seleccionaron 171 aislamientos de *Salmonella* Typhimurium con siete perfiles de resistencia con diferentes combinaciones a las familias de tetraciclinas, betalactámicos, anfenícolos, aminoglucósidos e inhibidores de la vía del folato, recuperados de materia fecal. Se determinó la presencia y estructura de integrones de clase 1 y 2 mediante: amplificación por PCR de los genes de las integrasas, genes accesorios, la región variable y secuenciación de la región variable. La relación entre estos aislamientos se analizó por PFGE. **Resultados** El 74% (n=127) de los aislamientos fueron positivos para el gen de la integrasa de clase 1 (IntI1), en todos los perfiles de resistencia, de los cuales, 27 son integrones incompletos y 100 integrones completos con 37 patrones únicos de PFGE. Se observaron seis perfiles de integrones, el tipo 1 fue el predominante en 88% de los aislamientos y contiene los genes dhfr7, aac y blaOXA-2. Los 5 perfiles restantes contienen integrones entre 600 a 5000 pb. El 26% (n=44) de los aislamientos fueron negativos para IntI1. No se observó una relación clonal entre los aislamientos con diferentes perfiles de resistencia. No se identificaron integrones de clase 2 en los aislamientos seleccionados. **Conclusión** Los resultados muestran que la resistencia observada a inhibidores de la vía del folato, betalactámicos y aminoglucósidos en los aislamientos seleccionados de *Salmonella* Typhimurium en Colombia, puede estar asociada a la presencia de un integrón de clase 1 predominante. La variabilidad genética observada sugiere que el integrón se está diseminando horizontalmente. Es necesario complementar este estudio con la identificación de plásmidos conjugativos y MLST para evaluar una relación clonal.

Financiado por el proyecto Colciencias SIGP 210471250745 y por el Instituto Nacional de Salud de Colombia.

JU313

Identificação de isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* por espectrometria de massa MALDI-TOF

Fernandes Izaura Lucielly¹, Junior José Adelson², Ana Lima², Sivoneide Silva², Tiago Napoleão², Maria Oliveira², Patricia Paiva². ⁽¹⁾ Estudante, Universidade de Pernambuco, Universidade de Pernambuco, Garanhuns, BR. ⁽²⁾ Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR.

Dentre os patógenos responsáveis por causar infecções hospitalares destaca-se *Pseudomonas aeruginosa*, espécie que possui suscetibilidade diminuída a condições ambientais adversas. A sua identificação e de outros micro-organismos em hospitais e laboratórios de análises clínicas, normalmente, é realizada por métodos fenotípicos, que apesar de serem clássicos e confiáveis, apresenta como desvantagem o tempo para obtenção de resultados (24-48h). Uma técnica que vem sendo aplicada para diagnósticos clínicos, é a Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS). Esse método de identificação é rápido, preciso e de baixo custo. O presente estudo teve como objetivo comparar o desempenho do MALDI-TOF MS com o método automatizado Vitek®2 Compact (bioMérieux). A identificação dos isolados (oito), provenientes de diferentes setores de um hospital do Recife Pernambuco-BR, foi obtida pelo método automatizado VitekCompact (bioMérieux). Para a identificação por MALDI-TOF MS, foi realizada a extração dos peptídeos seguindo o protocolo de identificação da técnica. Posteriormente, as amostras e a matriz (ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico, acetonitrila, ácido trifluoroacético) foram aplicadas na placa de MALDI para cristalização. A aquisição dos espectros de massa foi realizada pelo Programa Flex ControlVersion 3.0 em Espectrômetro de Massa MALDI-TOF Autoflex III. Os espectros obtidos foram comparados com o Banco de Dados MALDI BiotyperVersion 3.1. Os testes fenotípicos realizados pelo sistema automatizado indicaram que todos os isolados são da espécie *P. aeruginosa*. A identificação fenotípica foi confirmada pela técnica MALDI-TOF MS, apresentando valores de Score entre 2.300 e 3000, indicando que os micro-organismos identificados apresentam alto índice de compatibilidade ao nível de espécie. *P. aeruginosa* está associada com uma elevada taxa de mortalidade, incluída na lista de patógenos que representam ameaça à saúde pública. A identificação precisa e de curta duração é fundamental na escolha terapêutica adequada diminuindo, assim, o uso indiscriminado de antimicrobianos e proporcionando um tratamento eficaz. Desse modo, a técnica MALDI-TOF MS tem o potencial de substituir ou complementar técnicas convencionais de identificação microbiana, reduzindo o tempo para obtenção de resultados. Apesar do custo significativo do instrumento, os gastos operacionais e reagentes são menores que os de outros métodos convencionais, tornando esta tecnologia uma importante ferramenta para a rotina clínica.

JU314

Variación de las tasas de resistencia antimicrobiana de *Helicobacter pylori* en un período de diez años en el Eje Cafetero - Colombia

Ingrid J Bedoya¹, José I Moncayo¹, Jorge J Santacruz¹, Yina M Guaca¹, Leonardo Beltran¹, Arturo Brenda L², Luis J Castañeda³, **Adalucy Alvarez-Aldana**⁴. ⁽¹⁾ Microbiología, Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, CO. ⁽²⁾ Ciencias Clínicas, Ciencias de la Salud, Universidad de Manizales, Manizales, CO. ⁽³⁾ Endoscopia, Centro de Especialistas de Risaralda, Pereira, CO. ⁽⁴⁾ Programa de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Libre, Pereira, CO.

Introducción: *Helicobacter pylori* es un bacilo Gram negativo asociado a enfermedad gastroduodenal. Diversos estudios han demostrado que la resistencia antimicrobiana perjudica significativamente la eficacia en la erradicación de la infección por *H. pylori*. La resistencia en *H. pylori* se determina por la concentración mínima inhibitoria y uno de los métodos es el epsilómetro (E-test). La resistencia a claritromicina es el resultado de mutaciones en el ADNr 23S, y la resistencia a levofloxacina es consecuencia de mutaciones en la ADN girasa. Para el año 2009 se publicó el primer estudio sobre la susceptibilidad in vitro a los antimicrobianos metronidazol, amoxicilina, tetraciclina y claritromicina en los aislamientos de *H. pylori* de la zona cafetera, en donde se reportó resistencia a claritromicina (3,8%) y metronidazol (83%). Las mutaciones asociadas a la resistencia a claritromicina en los aislamientos fueron A2143G y A2142G. **Objetivo:** Determinar la resistencia antimicrobiana de *H. pylori* en aislados de pacientes dispépticos del Eje Cafetero y las mutaciones asociadas. **Metodología:** La susceptibilidad antimicrobiana fue realizado por E-test para metronidazol, claritromicina, amoxicilina, tetraciclina, levofloxacina y rifampicina en 61 aislamientos de *H. pylori*. Los aislamientos resistentes a claritromicina y levofloxacina se les realizó secuenciación de un segmento de los genes del ADNr 23S y la ADN girasa para detectar las principales mutaciones asociadas a resistencia. **Resultados:** En los 61 aislamientos se presentó resistencia a metronidazol (77%), claritromicina (8%), levofloxacina (25%) y rifampicina (13%). En los aislamientos resistentes a claritromicina, se detectó la mutación A2143G. En los aislamientos resistentes a levofloxacina, se detectaron mutaciones individuales (N87I/V89D/Y90C/D91G/D91N), dobles (V89A/Y90A) y triples (V89A/Y90C/D91M). **Conclusiones:** Con respecto al primer estudio realizado en el Eje Cafetero se presentó un aumento en la resistencia a claritromicina y por primera vez se reportan en la zona aislamientos resistentes a levofloxacina y rifampicina. La resistencia a metronidazol se conserva sin mayores modificaciones, de la misma manera que la resistencia a amoxicilina y tetraciclina que aún es nula. En la mayoría de los aislamientos resistentes a claritromicina o levofloxacina se detectaron las mutaciones comunmente reportadas, aunque no en todos los casos se estableció la mutación asociada a la resistencia.

Universidad Tecnológica de Pereira

Universidad Libre

JU315

Determinação da taxa de crescimento de *Sporothrix* spp. quando exposto ao ferro em ensaio de redução com XTT

Abreu Helenita K¹, Hellwig Alessandra Helena S², Oliveira Henrique T¹, Sousa Betina SA¹, Pezzi Eduarda H¹, Tavares Priscila L², Ribeiro Amanda C¹, Simone Merkel³, Daiane Heidrich², Zanette Régis A³, Maria Lúcia Scroferneker⁴. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Fungos Patogênicos, Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, BR. ⁽³⁾ Departamento de Farmacologia, Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, BR.

A esporotricose é uma doença infecciosa crônica de humanos e de animais associada à implantação traumática do fungo *Sporothrix* spp. É classificada como a micose subcutânea mais comum na América Latina. O tratamento preconizado mais frequente é o itraconazol, porém há diversos relatos de resistência ou recidiva da infecção, necessitando outras abordagens terapêuticas. Para diversos processos celulares e biológicos são necessários diferentes elementos, como é o caso do ferro, sendo assim é possível encontrar estudos que associam o ferro com a patogenicidade de diversos fungos. O deferassirox pode vir a ser um aliado no tratamento da esporotricose, visto que é um quelante de ferro, nutriente necessário para desenvolvimento de alguns microrganismos. Para avaliar a taxa de crescimento de *Sporothrix* spp. quando exposto ao ferro, foi realizado um ensaio de redução com 2, 3- bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide (XTT). Foram utilizados 5 isolados de *Sporothrix schenckii* e 5 isolados de *S. brasiliensis*. Todas as cepas utilizadas no estudo, previamente identificadas por métodos moleculares, foram cultivadas em tubos contendo meio ágar batata dextrose para a indução de formação de conídios, por sete dias à 35 °C. Em triplicata, foi realizada a diluição de suspensões contendo 10³ conídios/ml em 1 ml do meio RPMI 1640 contendo 128 µg/ml de deferassirox ou ferro (FeCl₃) nas concentrações de 0,0625% e 0,125%, que foram incubados à 35 °C sob agitação. Como controle negativo, foi usado RPMI puro. Nos tempos 0, 24, 48, 72 e 96 horas, foi realizada a centrifugação dos tubos a 14000 rpm por 5 minutos. Em cada tubo, o sobrenadante foi removido e ao pellet 1 ml de PBS contendo 1 mg de XTT e 0,17 mg de menadiona foi adicionado. Os tubos foram incubados a 35 °C por 1 hora e a absorbância foi medida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 405 nm. Foi possível verificar que, quando exposto ao deferassirox, ocorreu um menor crescimento de *Sporothrix* spp. em comparação ao RPMI puro. Por outro lado, os grupos contendo ambas as concentrações de FeCl₃ (0,0625% e 0,125%) apresentaram um maior crescimento quando comparados ao RPMI puro.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Impacto sobre la resistencia bacteriana intrahospitalaria de un plan de manejo de antibióticos en cinco hospitales del Departamento del Atlántico (Colombia) entre los años 2015-2017

Orison Hernández Gamez¹, Oscar Camacho Romero², Henry González Torres³. ⁽¹⁾ Grupo de Investigación en Farmacia Asistencial y Farmacología, Facultad de Química y Farmacia, Universidad del Atlántico, Barranquilla, CO. ⁽²⁾ Grupo de Investigación Administración & Gestión Farmacéutica, Facultad de Química y Farmacia, Universidad del Atlántico, Barranquilla, CO. ⁽³⁾ Departamento de Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Simón Bolívar, Barranquilla, CO.

Introducción. La resistencia bacteriana intrahospitalaria se ha convertido en un problema de salud pública que ha disparado las alarmas a nivel internacional. La educación en el manejo de los antibióticos es fundamental, ya que los médicos son los responsables del uso correcto dentro de la institución. El objetivo del presente estudio fue evaluar el impacto del plan de manejo de antibióticos en relación a la disminución del consumo y las tasas de resistencia en hospitales del Departamento del Atlántico. **Metodología.** Se incluyeron cinco hospitales de mediana y alta complejidad, se revisaron los reportes microbiológicos de los antibiogramas y los porcentajes de resistencia del año anterior a la implementación del plan de manejo, estos mismos datos fueron evaluados después de la implementación del plan. Obteniendo los datos del mes_01 hasta el mes_12 para el periodo_01 (pre-programa) y del mes_01 al mes_12 del periodo_02 (post-programa). Los datos fueron agrupados por frecuencia absoluta y frecuencia relativa, y para hacer las comparaciones entre periodos se utilizó una prueba de contraste de medias, siendo esta t-student ó U-Wilcoxon, dependiendo si los datos tenían una distribución paramétrica o no paramétrica, respectivamente. **Resultados.** En las 5 instituciones se aislaron un total de 75 microorganismos, todos en ambos periodos. Los más representativos fueron *Escherichia coli* (27%), *Klebsiella pneumoniae* (13%), *Pseudomonas aeruginosa* (13%), *Staphylococcus aureus* (8%), *Proteus mirabilis* (4%) y *Enterobacter cloacae* (4%). Se realizaron pruebas de resistencia frente a 43 antibióticos. Aquellos que presentaron el mayor porcentaje de resistencia para el Periodo_01 fueron *E. coli* (25,61%), *P. aeruginosa* (17,73%), *K. pneumoniae* (13,78%), *E. cloacae* (6,65%) y *S aureus* (5,97%) para el Periodo 02 *E. coli* (29,05%), *P. aeruginosa* (16,17%), *K. pneumoniae* (13,24%), *S aureus* (6,40%) y *E. cloacae* (5,47%). Al comparar los porcentajes de resistencia, se encontró que fueron significativamente menores los del Periodo_02 (p -valor < 0,05). **Conclusión.** El plan de manejo de los antibióticos en las instituciones participantes tuvo un impacto favorable, debido a la disminución de la resistencia bacteriana observada.



JU317

Widespread of highly similar *Yersinia enterocolitica* strains in Brazil

Martins Bruna TF, Grossi Juliana L¹, Yamatogi Ricardo S1, **Luís Augusto Nero**¹. ⁽¹⁾ Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, BR.

Yersinia enterocolitica is widely distributed in the world, and pigs are considered as the main reservoirs of pathogenic strains for humans. Enterocolitis caused by *Y. enterocolitica* is a gastrointestinal disease acquired by the oral-fecal route, which is often associated with consumption of pork products. Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) technique is the gold standard for epidemiological investigations, allowing the tracking of specific pathogenic strains involved in food poisoning outbreaks. This study aimed to characterize the genetic profiles and the distribution of *Y. enterocolitica* obtained from different sources and Brazilian states. *Y. enterocolitica* isolates (n = 75) from slaughtered pigs, environment and human clinical samples were obtained from previous studies and FIOCRUZ culture collection, and subjected to PCRs reactions targeting 16s rRNA, *inv* and *ail* for species confirmation. Isolates confirmed as *Y. enterocolitica* were subjected to PFGE (using XbaI) and the obtained genetic profiles were compared using the software BioNumerics, based on Dice coefficient with 5% of tolerance and similarity higher than 80%. PFGE showed a high similarity (90 to 100%) amongst isolates from different sources and states, and 5 major clusters were formed: Cluster I presented 14 isolates and 2 pulsetypes, being all from Minas Gerais; Cluster II presented 14 isolates with multiples pulsetypes, different states and sources; Cluster III presented 11 isolates from 6 states; Cluster IV presented 31 isolates from Minas Gerais, São Paulo and Paraná, all obtained from pigs; Cluster V presented 5 isolates from pigs and environment. It was possible to identify isolates obtained from clinical samples from different states with identical genetic profiles to isolates obtained from pigs, also from different states. The study demonstrated the high similarity amongst *Y. enterocolitica* isolates obtained from different sources and states, and the wide distribution of specific pulsetypes. Isolates from clinical samples presented high percentage of similarity with isolates from pigs, indicating their relevance as the original sources of pathogenic strains for humans.

FIOCRUZ, FAPEMIG, CAPES, CNPq, FUNARBE

JU318

Qualidade higiênico-sanitária de leite cru e queijos comercializados em municípios da região médio norte de Mato Grosso - Brasil

Pena Renata HR¹, Filipe Freitas¹, Castro Bruno G De¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Doenças Infecciosas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop, BR.

Produtos como leite e queijo não pasteurizados produzidos e comercializados por pequenos produtores é uma realidade no Brasil mesmo com proibições e/ou normas constantes na legislação, levando em muitos casos à produção de alimentos sem condições higiênicas. Logo este trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade higiênico-sanitária destes alimentos. Foram analisados leites e queijos produzidos artesanalmente e sem pasteurização provenientes de municípios da região médio norte de Mato Grosso adquiridos em feiras livres ou diretamente dos produtores. Todos foram submetidos ao Teste de Número Mais Provável (NMP) para detecção de coliformes totais e termotolerantes, isolamento em Ágar EMB e posterior identificação com testes bioquímicos para *Escherichia coli*. Foram analisadas 21 amostras de leite e 35 de queijo. A legislação brasileira não possui limite de tolerância para leite cru, logo os valores adotados para análise se basearam na legislação do leite pasteurizado. Das 21 amostras de leite 17 (80,95%) apresentaram níveis de NMP/mL para coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação (4 NMP/mL). No que diz respeito aos coliformes totais 18 (85,71%) apresentavam um número igual ou maior que 1600 NMP/mL. Entre as 21 amostras avaliadas 17 (80,95%) apresentaram crescimento de *Escherichia coli*. Dentre os queijos analisados dois passaram por processo de cozimento sendo então classificados como queijo tipo Muçarela, os demais correspondiam a queijos Minas Frescal (QMF). Os queijos muçarela apresentaram-se dentro dos padrões para coliformes termotolerantes e totais (até 1000 NMP/g). Dentre as 33 amostras de QMF 23 (69,70%) apresentaram valores superiores ao permitido para coliformes termotolerantes (500 NMP/g) porém, 100% deles apresentaram número de coliformes totais igual ou maior que 1600 NMP/g. Das 35 amostras de queijos analisadas, 31 (88,57%) apresentaram crescimento de *Escherichia coli*. A quantidade de coliformes totais e termotolerantes em alimentos indicam as condições higiênico-sanitárias na produção ou pós produção, já a *Escherichia coli* indica contaminação fecal em alimentos in natura. A pesquisa mostrou que 80,95% dos leites e 65,71% dos queijos apresentam condições higiênico-sanitária abaixo dos níveis aceitáveis para o consumo humano. Devem portanto ser considerados possíveis fontes de agentes patogênicos entéricos para a população consumidora destes alimentos.

Sob auspícios da CAPES.

JU319

Incidência de fumonisinas totais em híbridos de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) cultivados em diferentes ambientes

Barbosa Mariana P¹, Queiroz Valéria AV², Da Silva Dagma D³, Da Conceição Renata RP⁴, Miguel Rafael A², Junior Osmerio P⁵, Dion Paulo E⁵. ⁽¹⁾ Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de São João del-Rei, Sete Lagoas, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Segurança Alimentar, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Fitopatologia, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽⁵⁾ Melhoramento Genético, Dow Agrosciences Industrial Ltda, Jardinópolis, BR.

As fumonisinas constituem um grupo de micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Fusarium* que podem acarretar edemas pulmonares em suínos, leucoencefalomalácia em equinos e câncer de esôfago e defeito no tubo neural em humanos. O sorgo, cultivado no Brasil principalmente para alimentação animal, tem sido também desejável na alimentação humana por ser isento de glúten e rico em compostos bioativos que podem promover a saúde humana. Adicionalmente, há relatos de que a incidência de fumonisinas é menor no sorgo comparado ao milho. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a incidência de fumonisinas totais em 33 amostras de sorgo provenientes de 11 híbridos cultivados em três diferentes ambientes: Conceição das Alagoas (A1), Indianópolis (A2) e Jardinópolis (A3), municípios do Estado de Minas Gerais, Brasil. Os grãos foram homogeneizados, secos em estufa (65°C/ 96 h), moídos e armazenados a -18 °C até análise. As fumonisinas totais foram extraídas em solução metanol:água (80/20), purificadas em colunas de imunoafinidade FumoniTest® e quantificadas em Fluorímetro (VICAM) série 4. O teor de fumonisinas variou entre 0,043 µg g⁻¹ (híbrido 1G244 em A1) e 1,315 µg g⁻¹ (híbrido DBK550 em A2), com média geral de 0,479 µg g⁻¹. Houve efeito da interação híbrido vs ambiente. No ambiente A3, não houve diferença significativa nos teores de fumonisinas entre os híbridos, os quais variaram de 0,210 a 0,760 µg g⁻¹. Em A1 e A2, os teores variaram entre 0,043-0,875 e 0,215-1,315 µg g⁻¹, respectivamente. O híbrido 1G100 apresentou o maior teor em A1 (0,875 µg g⁻¹) e o menor teor em A2 (0,215 µg g⁻¹). Embora todas as amostras estivessem contaminadas, os teores de fumonisinas foram inferiores aos encontrados na literatura para o milho no Brasil, os quais variaram entre 1,63 e 25,69 µg g⁻¹ segundo revisão de literatura. Dessa forma, os resultados obtidos corroboram com relatos de que o uso do sorgo na alimentação poderá gerar impacto na segurança alimentar.

Embrapa Milho e Sorgo

JU320

Respuesta diferencial a nivel fenotípico y transcripcional de cepas de *Listeria monocytogenes* cultivadas en frío y expuestas a cobre

Ana M Quesille-Villalobos¹, Angel Parra¹, Patricia Gallardo¹, Magaly Toro¹, Fabian Agüero¹, Angélica Reyes-Jara¹.
⁽¹⁾ Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Listeria monocytogenes (Lm) es un patógeno transmitido por los alimentos y causante de listeriosis. Lm es una bacteria ubicua, psicrótrofa y resistente a sanitizantes. Hoy, el uso de cobre como antimicrobiano constituye una nueva estrategia de control. Sin embargo, los mecanismos moleculares de Lm para enfrentar la combinación de cobre (Cu) y frío aún no están claros. **El objetivo** fue evaluar el efecto de la exposición a Cu/8°C sobre la proliferación y la respuesta transcripcional de Lm. Se evaluó el efecto combinado de diferentes concentraciones de Cu a 8°C sobre la proliferación de 6 cepas de Lm. Desde un análisis de microarreglos de la cepa List2-2, fueron seleccionados 17 genes que responden a Cu/8°C. Estos genes fueron usados para evaluar la conservación de la respuesta transcripcional en las cepas APA13-2 y AL152-2A por qPCR a Cu/8°C. Además, se realizó la comparación de los 3 genomas en base a sus categorías funcionales (COG). El análisis estadístico se realizó con el software-R. Las cepas de Lm presentaron diferentes capacidades de proliferación en Cu/8°C, cuantificadas según DO600nm máxima y velocidad de proliferación. La cepa List2-2 presentó mayor tolerancia a Cu/8°C. A nivel de expresión, de los 17 genes seleccionados en List2-2, 3 no se detectaron en APA13-2 y AL152-2A, 6 genes presentaron cambios significativos en su expresión en respuesta a Cu/8°C, conservando la dirección del cambio observado en List2-2. Los 8 genes restantes solo cambiaron en List2-2. Los genes de homeostasis de cobre fueron sobreexpresados en las 3 cepas, este cambio se mantuvo por 24h. Sin embargo, en List2-2 los niveles de expresión fueron significativamente mayor a las 6 y 24h de exposición al metal respecto a las otras dos cepas. Además, fue posible determinar diferencias entre sus genomas, identificando un mayor número de genes asociadas al transporte y metabolismo de carbohidratos en List2-2 (COG: G). Se concluye que los niveles de expresión de los genes evaluados tienen un bajo grado de conservación entre cepas de Lm. Las particularidades en List 2-2 podrían ser las responsables del mejor desempeño frente a la combinación de Cu y 8°C que presentó esta cepa.

FONDECYT 1171575

JU321

Efeito da irradiação por feixes de elétrons no queijo Minas Frescal artificialmente contaminado com *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) O157:H7

Medeiros Raquel N¹, Ramos Gustavo PA¹, Silva Bianca MF¹, Domingues Josiane R¹, Gonzalez Alice GM¹. ⁽¹⁾ Departamento de Bromatologia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, BR.

Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 é um patógeno associado à surtos de doença de origem alimentar, sendo o bovino seu principal reservatório. Caracterizado como alimento perecível, o queijo Minas frescal (QMF) apresenta grande potencial de risco de transmissão de patógenos de importância em saúde coletiva, entre eles EHEC O157:H7. O aperfeiçoamento de novas tecnologias para conservação de alimentos tem sido amplamente pesquisado, sendo a irradiação uma das opções mais convenientes. Este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da irradiação por feixes de elétrons sobre o comportamento de EHEC O157:H7 em QMF artificialmente contaminado, armazenado a 4°C, e a estabilidade da fração lipídica do QMF. Três amostras de QMF, artificialmente contaminado com 10⁵ células de EHEC O157:H7 por grama, foram irradiadas nas doses de 1,0, 1,5 e 2,0 KGy. Como controle, foram utilizadas amostras de QMF não contaminadas irradiadas e não irradiadas. A estabilidade da fração lipídica foi avaliada através da análise da concentração de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS), a partir das amostras de QMF irradiadas (1,0, 1,5 e 2,0 KGy) e uma amostra de QMF não irradiada. Os testes foram realizados em triplicata. As amostras de QMF irradiadas apresentaram valores para coliformes totais e termotolerantes em acordo com as legislações. As amostras de QMF artificialmente contaminadas e irradiadas apresentaram extensão da vida útil em até dez dias, a 4°C. O número de unidades formadoras de colônia (UFC) de EHEC O157:H7 foi reduzido em 2 log nas amostras irradiadas com 1,0 KGy, enquanto as doses de 1,5 e 2,0 KGy eliminaram EHEC O157:H7 das amostras de QMF. Todos os queijos irradiados apresentaram aumento no valor TBA (ácido tiobarbitúrico) ao longo dos 40 dias de armazenamento a 4 °C, porém a amostra não irradiada apresentou a maior concentração de TBA, indicando que embora a irradiação possa contribuir para a degradação da fração lipídica, outros fatores do alimento devem ser levados em conta. A irradiação por feixes de elétrons no queijo Minas frescal se mostrou uma ferramenta viável e uma boa alternativa para garantir a segurança e a qualidade deste alimento, sendo eficaz no controle de EHEC O157:H7.

Listeria monocytogenes, estudio de su prevalencia en alimentos en la Región Metropolitana, Chile

Paula Ramos¹, Luis Lopez², Marcelo Ulloa³, Hector Fuenzalida⁴, Maricel Vidal⁴. ⁽¹⁾ Accion Sanitaria, Control Sanitario Alimentos, SEREMI de Salud RM, Santiago, CL. ⁽²⁾ Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química, Ciencias Químicas y Farmaceuticas, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Nutrición, DIPOL, Ministerio de Salud, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Laboratorio de Salud Pública Ambiental y Laboral, SEREMI de Salud RM, Santiago, CL.

Introducción. Listeria monocytogenes es un patógeno que ha sido reportado como causante de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en las últimas cuatro décadas a nivel mundial, en donde Chile no ha sido la excepción. Su importancia radica en la gravedad de los cuadros clínicos que genera. **Objetivos.** Analizar la información disponible respecto de la presencia de L. monocytogenes en alimentos comercializados en la Región Metropolitana durante los años 2013, 2014 y 2015, utilizando los datos aportados por el Programa de Vigilancia Nacional de Patógenos del Ministerio de Salud y el Programa de Vigilancia Regional de la Seremi de Salud. **Metodología.** Mediante la elaboración de tablas de datos con información de ambos programas de vigilancia, se obtuvo: 1.- La frecuencia de presentación de L. monocytogenes por tipo de alimento y 2.- La frecuencia de hallazgo del patógeno según si correspondía a una muestra colectada en lugar de expendio o de elaboración. Además, se revisó y discutió la actual normativa existente en el país y la internacional respecto de los programas de vigilancia para L. monocytogenes en alimentos. **Resultados.** Los grupos de alimentos que presentaron mayor porcentaje de hallazgo del patógeno fueron Comidas y Platos preparados, Carne y productos cárneos y Pescados y productos de la pesca. 2.- Se observó mayor porcentaje de muestras positivas en lugares de elaboración en contraste con lugares de expendio. **Conclusión.** Se propone considerar algunas recomendaciones internacionales respecto de la frecuencia de la toma de muestra en ciertos alimentos, dependiendo del riesgo asociado a la contaminación con L. monocytogenes.

Ministerio de Salud, SEREMI de Salud Región Metropolitana, Chile.



JU323

Cultivares de oliveira (*Olea europaea* L.) de diferentes origens e sua relação com a diversidade fenotípica de rizobactérias promotoras de crescimento

Ramos Polianna Paula¹, Silva Nara Pedrezzini¹, Rogério Melloni¹. ⁽¹⁾ Laboratório Cequam, Campus Prof. José Rodrigues Seabra, Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, BR

A busca pelos produtos provenientes da oliveira (*Olea europaea* L.) vem aumentando em todo mundo e o Brasil encontra-se entre os maiores consumidores e importadores desses produtos, o que incentiva, ainda mais, estudos relacionados ao seu cultivo. No Brasil, os estados que mais se destacam na produção de oliveira são Minas Gerais e Rio Grande do Sul, onde vêm sendo desenvolvidos estudos e pesquisas com diferentes cultivares oriundas de outros países. A utilização de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP) no processo de cultivo de oliveira pode ser uma alternativa natural ao uso de insumos diversos. Essas rizobactérias são capazes de produzir hormônio indutor de enraizamento, como o ácido indolacético (AIA), possuem capacidade de promover o crescimento das plantas atuando como biofertilizantes, atuam na fixação e incorporação de nitrogênio, no controle de pragas e patógenos, entre outros. Em vista disso, o objetivo do presente trabalho é estudar o efeito de cultivares de oliveira de diferentes origens na densidade e diversidade fenotípica-cultural de RPCP. Para isso, amostras de rizosfera de 11 cultivares de oliveira, pertencentes a países como Itália, Espanha, Brasil, Egito, Grécia e Síria, do banco de germoplasma da EPAMIG, Maria da Fé-MG, Brasil, foram utilizadas para isolamento em meios de cultura específicos, sendo NFb para *Azospirillum* spp, JNFb para *Herbaspirillum* spp. e LGI para *Azospirillum amazonense*, seguido de caracterização fenotípica-cultural em meio batata, com relação a cor, consistência e diâmetro. As cultivares de oliveira apresentaram efeito significativo nas RPCP isoladas dos meios de cultura JNFb e NFb, com destaque para as cultivares Alto D'oro (Espanha), Maria da Fé (Brasil), Frantoio (Itália), Koroneiki (Grécia) e Tafahi (Egito), nos respectivos meios. Apresentando valores entre log 5,93 a 7,13 de rizobactérias g/ solo seco. No entanto, os isolados apresentaram alta similaridade (entre 93% a 100%), com diversidade de Shannon & Weaver variando entre 0,42 a 0,47 nos diferentes meios de cultura. Pôde-se concluir que houve efeito das cultivares na quantidade de rizobactérias, porém, essas mostraram alta semelhança entre si.

Universidade Federal de Itajubá



JU324

Identificación parcial de bacterias nativas con potencial uso como agentes de control biológico para hongos fitopatógenos

Josinna Barahona¹, Bárbara Oliva¹, **Claudia Reinoso**¹, Javier Nuñez², Miguel Castro¹.⁽¹⁾ Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás, Santiago, CL. ⁽²⁾ Escuela de Agronomía, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás, Santiago, CL.

Las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos generan anualmente grandes pérdidas económicas al sector agrícola. Entre los más agresivos se encuentran: *Botrytis cinerea* que afecta principalmente a vides; *Monilinia fructicola* a carozos; y *Phytophthora cinnamomi* que causa serios daños a la producción de nogales y paltos. Las estrategias de control existentes se basan en el uso de fungicidas químicos, que son potencialmente tóxicos y de corta vida útil dada la constante aparición de nuevas cepas resistentes. Actualmente, existe un creciente interés por el uso de controladores biológicos como alternativas o complemento a la aplicación de productos químicos para el manejo de enfermedades en cultivos. Por esta razón, el objetivo de nuestro trabajo es la búsqueda e identificación de bacterias nativas que presenten actividad antifúngica estable contra los hongos *B. cinerea*, *M. fructicola* y *P. cinnamomi*. Muestras de suelo, tejidos vegetales y agua procedente de campos infectados con estos patógenos, fueron sembradas en placas con agar nutritivo e incubadas a 30°C por 24 horas, al cabo de las cuales se obtuvieron 40 aislados bacterianos. De ellos cinco mostraron actividad antifúngica estable in vitro contra al menos uno de los fitopatógenos de interés. La actividad antifúngica se detectó mediante ensayos de inhibición del crecimiento fúngico en placas con agar nutritivo en presencia de las bacterias evaluadas. Mediante el uso de técnicas microbiológicas y moleculares se determinó que tres aislados pertenecen al género *Bacillus*. Posteriormente, se utilizarán estos microorganismos como principio activo de un biofungicida para el control eficiente de los fitopatógenos señalados anteriormente.

JU325

Atividade antimicrobiana de bactérias lácticas isoladas do mel de abelhas sociais

Reis Nayara Alves¹, Sodré Geni Da Silva², Carvalho Carlos Alfredo Lopes De², Norma Suely Evangelista Barreto², Celso Gabriel Vinderola³, Fabricio Chagas Sobrinho². ⁽¹⁾ Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Biologia, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BR. ⁽²⁾ Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BR. ⁽³⁾ Facultad de Ingenieria Quimica, Universidad Nacional del Litoral, Buenos Aires, AR.

Dentre os diversos substratos onde podem ser isoladas bactérias probióticas, as abelhas e os produtos da colmeia tem demonstrado grande potencial devido a presença de bactérias lácticas com capacidade para produzir substâncias antimicrobianas. A procura de novos antimicrobianos em produtos naturais e nichos ecológicos não explorados pode ser uma alternativa ideal ao uso de antibióticos devido a emergência cada vez maior de bactérias patog nicas resistentes. Assim esta pesquisa teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de bactérias lácticas isoladas do mel das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris*. A atividade antagonista das bactérias lácticas contra os micro-organismos indicadores *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Listeria monocytogenes* CERELA, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 e *Salmonella Enteritidis* foi observada utilizando o método de "spot" em  gar. De um total de 27 isolados de bactérias lácticas isoladas do mel de abelhas sociais, 20 isolados inibiram o crescimento de *E. faecalis* e *S. Enteritidis*, 18 isolados inibiram *E. coli*, 17 isolados inibiram *S. aureus* e apenas dois isolados inibiram o crescimento de *L. monocytogenes*. O tamanho do halo de inibi o variou entre 10,58 - 45,50 mm; 12,87- 43,99 mm; 12,31 - 46,89 mm; 23,13 - 44,28 mm e 14,47 – 36,98 mm de di metro, respectivamente. A atividade inibitória verificada se deve a produ o de substâncias antimicrobianas que teriam se difundido pelo ágar e impedido o crescimento dos micro-organismos indicadores. Bactérias do ácido láctico podem produzir compostos metabólicos antimicrobianos, tais como ácidos org nicos, bacteriocinas, diacetil e peróxido de hidrogênio. Os resultados mostraram a possibilidade de utilizar as bactérias lácticas isoladas de abelhas sociais como probiótico, uma vez que podem reduzir o risco de doenças infecciosas.

Coordena o de Aperfei amento de Pessoal de Nível Superior - CAPES

JU326

Ocorrência do gene *stx2* em cepas de *Escherichia coli* isoladas de preparação purê de batatas destinada a pacientes internados em um hospital universitário na cidade do Rio de Janeiro, Brasil

Chaves Carolina Relvas^{1,2}, Gomes Ohana Cardoso¹, Andrade João Ramos C¹, Queiroz Mara Lúcia Penna¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Campus Campos Guarus, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense, Campos dos Goytacazes, BR.

Alimentos prontos para consumo estão implicados na veiculação de microrganismos com potencial patogênico. A *Escherichia coli*, pertence à microbiota intestinal dos seres humanos e animais é importante indicador de contaminação fecal recente e de condições insatisfatórias de higiene no preparo dos alimentos. O subgrupo das *E. coli* diarreio gênicas, possui atributos de virulência que possibilitam o envolvimento na etiologia de doenças gastrointestinais causadas por água e alimentos. As *E. coli* produtoras de toxina Shiga (STEC) merecem destaque por serem importantes patógenos alimentares emergentes, associados a surtos e a casos isolados, que podem compreender desde diarréias não complicadas à colite hemorrágica e síndrome urêmica-hemolítica (HUS). O objetivo deste estudo foi investigar a ocorrência de genes de virulência relacionados à STEC e determinar o grupo filogenético em cepas de *E. coli* previamente isoladas da preparação de purê de batatas da dieta elaborada na cozinha de um hospital universitário no Rio de Janeiro. A escolha desta guarnição se deveu ao fato de ter boa aceitação pelos pacientes e por ser geralmente prescrita àqueles acometidos por patologias mais severas, bem como aos idosos e às crianças, devido a sua consistência pastosa. A presença dos genes relacionados à STEC, *stx1*, *stx2* e *eae*, e à pesquisa do grupo filogenético, *chuA*, *yjaA* e do fragmento *TspE4C2*, foi determinada por ensaios de PCR (reação em cadeia da polimerase). Os resultados obtidos mostraram que 88,9% (n=8) das cepas isoladas eram STEC pois apresentaram o gene *stx2* isoladamente. Os genes *stx1* e *eae* não foram encontrados. Todas as cepas de *E. coli* (n=9) foram pertencentes ao grupo filogenético A. Estes resultados implicam a preparação de purê de batatas como veículo de disseminação de STEC aos pacientes internados no hospital e o grupo filogenético A, relacionado a cepas comensais, sugere possível contaminação proveniente de condições inadequadas de higiene na manipulação do alimento.

Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ)

Potencial antagonista de bactérias ácido lácticas isoladas no leite de búfalas

Ribeiro Jaqueline Lamounier¹, Poggiani Sabrina Santos², Morais Dannyele Landuyt², Lima Filho Elidio Barbosa¹, Fernandes Paulo Vinicius Neves¹, Ferreira Márcia De Aguiar¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Análises de Leite e Derivados, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, BR. ⁽²⁾ Laboratório Análises de Leite e Derivados, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, BR.

O grupo das bactérias ácido lácticas (BAL) desempenha um importante papel na produção de laticínios, devido à sua capacidade em agregar características organolépticas aos derivados lácteos, prolongar o tempo de prateleira e promover benefícios à saúde humana. Diversas pesquisas comprovam o potencial antimicrobiano de BAL contra microrganismos patogênicos. Considerando tais aspectos, o objetivo da pesquisa foi avaliar a atividade antimicrobiana da microbiota láctica de leite de búfalas frente aos principais microrganismos patogênicos em leite e derivados. 154 microrganismos, provenientes de amostras de leite de búfalas coletadas em duas propriedades localizadas na região Centro-Oeste, do Brasil, foram caracterizados, quanto ao fenótipo, como BAL a partir de desenvolvimento em anaerobiose, em ágar Man Rogosa & Sharpe (MRS) e, por meio dos testes de catalase e coloração de Gram. Para avaliar o potencial antagonista, esses isolados foram submetidos à técnica spot-on-the-lawn, frente às cepas alvo *Listeria monocytogenes* ("Scott A" ATCC 49594), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25293) e *Salmonella Enteritidis* (ATCC 13076). A formação de halos de inibição bem definidos (a partir 1mm) foram registrados como atividade antimicrobiana. Dos 154 isolados, observou-se na microscopia 102 (66,2%) cocos; 49 (31,8%) cocobacilos e três (1,9%) bacilos. A partir da formação de halos de inibição, verificou-se que 117 (75,9%) isolados foram efetivos contra *S. aureus*; 112 (72,7%) contra *L. monocytogenes* "Scott A"; 108 (70,1%) contra *L. monocytogenes* ATCC 7644 e 103 (68,6%) contra *S. Enteritidis*. Deve ser destacado que, 59 (38,3%) isolados manifestaram atividade antagonista contra todos os patógenos. De acordo com os resultados obtidos, constatou-se que esses isolados apresentaram expressivo papel na inibição dos principais patógenos associados ao leite e seus derivados e que, por tanto, o uso dessas BAL poderão ser difundidas no processamento de produtos lácteos com o intuito de torná-los mais seguros ao consumidor e livres de aditivos químicos. Para tanto, deverão ser melhores avaliadas com a realização de análises genotípicas.

JU328

Avaliação da qualidade microbiológica de maçãs (*Malus domestica*) cultivadas sob manejo convencional e orgânicas comercializadas na cidade de Goiânia - Goiás, Brasil

Morais Gabrielly Gonzaga¹, Luciana Casaletti¹, **Maitan Valéria Ribeiro¹**. ⁽¹⁾ Escola de Engenharia, Engenharia de Alimentos, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, BR.

A maçã é uma fruta muito apreciada em qualquer faixa etária, possuindo diversos benefícios à saúde como ação antioxidante e funcional, além de possuir uma série de nutrientes benéficos ao organismo. É cultivada, principalmente, de forma convencional, mas também ocorre na forma orgânica. Devido à preocupação com os riscos à saúde, além dos efeitos indesejáveis ao meio ambiente, a utilização dos orgânicos tem crescido entre os consumidores, e, portanto, também é crescente o número de fruticultores que estão interessados na produção orgânica de maçã. Embora existam várias pesquisas comparativas entre alimentos orgânicos e convencionais, no que tange a sua qualidade nutricional, são escassos os trabalhos relacionados à segurança microbiológica, razão pela qual foi realizada a presente pesquisa. Utilizando técnicas triviais de laboratórios de microbiologia, 10 amostras de maçã, sendo 5 cultivadas sob manejo convencional e 5 orgânicas foram pesquisadas quanto à coliformes (totais e termotolerantes), pesquisa de *Salmonella* sp/25g e contagem de bolores e leveduras. Os dados foram verificados quanto à sua conformidade de acordo com a legislação vigente. Os resultados mostraram uma variação na contagem de coliformes totais e termotolerantes variando de <3,0 a $1,1 \times 10^3$ (NMP/g), como ausência de *Salmonella* sp/25 g tanto para o cultivo convencional como para o cultivo orgânico, apresentando uma amostra, em cada tipo de cultivo, fora do padrão da legislação vigente. Embora a legislação não contemple para a contagem de bolores e leveduras esta foi realizada, visto que os fungos são considerados potencialmente deteriorantes de frutas. Neste caso, observou-se que as contagens variaram entre $2,0 \times 10^2$ a $2,9 \times 10^3$ (UFC/g) para as amostras de cultivo convencional e $1,5 \times 10^3$ a $3,3 \times 10^4$ (UFC/g) nas amostras orgânicas. Neste último caso, já esperado, visto que a adubação é realizada com matéria orgânica que contém uma quantidade muito grande de micro-organismos, comparada aos fertilizantes químicos. Portanto, sugere-se um maior rigor na sanitização de frutas, visto que os fungos são os micro-organismos que mais contribuem na deterioração, diminuindo o shelf-life do produto.

FAPEG - Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Goiás

JU329

Bacteriófagos de Salmonella con amplio rango hospedero ¿Son una mejor herramienta para el biocontrol?

Dácil Rivera^{1,2}, María Jesús Serrano³, Fernando Dueñas³, Rodolfo Tardone³, Aziz Ramy K.⁴, Christopher Hamilton-West⁵, Andrea Moreno-Switt³. ⁽¹⁾ Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Andres Bello. ⁽²⁾ Microbiología de alimentos, Química y Farmacias, Universidad de Chile, Santiago, CL ⁽³⁾ Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andres Bello, Santiago, CL ⁽⁴⁾ Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Pharmacy, Cairo University, Cairo, EG. ⁽⁵⁾ Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Los bacteriófagos (fagos) han sido muy utilizados como agentes de biocontrol en diferentes alimentos. La principal limitante de su uso para el biocontrol es la aparición de resistencia bacteriana contra ellos. Los fagos de amplio rango de hospedero podrían retrasar la aparición de mutantes resistentes (MR) a su acción, ya que seleccionan una frecuencia más baja de MR o porque pueden superar fácilmente la resistencia bacteriana. El propósito de este estudio fue comparar la frecuencia de MR de Salmonella Infantis (SI) y sus cambios fenotípicos en respuesta a dos fagos del género Felixovirus, uno de amplio rango-hospedero (vb_SI_SF20-2) y otro de estrecho rango-hospedero (vb_SI_QUI-1). Ambos fueron secuenciados previamente y se caracterizaron por rango-hospedero y TEM. Se llevaron a cabo dos ensayos independientes a 37°C con agitación y MOI de 0,01. El ensayo A (EA) contenía SI (OD600 =1) y el fago vb_SI_SF20-2, y el ensayo B (EB) SI (OD600 = 1) y el fago vb_SI-QUI-1. Se utilizaron tres controles 3 (TSB, TSB-fago, SI-TSB). Se diseñaron partidores específicos para controlar los ensayos. Se tomaron dos muestras de 100 µL cada hora, durante 12 horas. La primera fue inoculada sobre agar semi-sólido (ASS)+TSA y la otra muestra se diluyó 10 veces, y se inocularon sobre ASS+TSA, las diluciones 10-5 y 10-10. Para ambos ensayos se realizaron dos réplicas independientes. La eficiencia de la formación de placas (EOP) se calculó utilizando SI después de 12 horas de incubación y fagos de tipo silvestre. En ambos ensayos, se observó una frecuencia similar de MR desde la primera hora en las diluciones 5 y 10. La EOP mostró una reducción de 20-50% MR comparada con SI silvestre, en EA y EB, y se presentó un cambio de rango-hospedero del fago tipo silvestre a tiempo inicial y final en EA y EB. La morfología de los fagos en el ensayo EA cambió, se observó un aumento en el tamaño de la placa y disminución de MR a diferencia del EB. Este es un estudio pionero que muestra cambios fenotípicos en fagos con amplio rango-hospedero, lo que es información crucial para diseños racionales de biocontrol.

FONDECYT Regular 1181167

Bioencapsulación de probióticos: una herramienta para la creación de nuevos alimentos funcionales

Jorge Rocha¹, Claudio Ahumada¹, Apolinaria García¹. ⁽¹⁾ Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL.

El mercado global de alimentos funcionales está creciendo. Reporto ventas por US\$ 259 billones en el año 2014 y se espera ingresos por US\$ 378 billones en el año 2020. El crecimiento de la investigación probiótica se refleja en el número de publicaciones, 147 en el 2000 y 1476 en el 2014. El uso de bacterias probióticas que proporcionan un beneficio a la salud de las personas, incrementa el interés por parte de la industria de alimentos para integrarlos en su propuesta de valor. *Lactobacillus fermentum* UCO 979-C es una bacteria probiótica anti *Helicobacter pylori*, esta última es el agente causal de diversas patologías gástricas y el principal factor de riesgo para el desarrollo de cáncer gástrico, Esta técnica de bioencapsulado de una bacteria probiótica se define como un probiótico de tercera generación y permite vehicular el tratamiento al órgano diana y dosificar su liberación. En esta investigación se evaluó la viabilidad de la cepa probiótica *Lactobacillus fermentum* UCO-979C encapsulada en una matriz de alginato y carragenina %p/p (datos no mostrados) al 2% peso volumen, encapsulado mediante tecnología de boquillas de vibración en el encapsulador Buchi b-395 pro. Las cápsulas con la cepa probiótica fueron expuestas a 5 tratamientos diferentes 5ml de: agua destilada, NaCl 0,9%p/v, CaCl₂ 0,5M, jugo líquido de naranja comercial y gelatina de naranja comercial, estos fueron almacenados a 4°C y se evaluó la viabilidad de las células de *Lactobacillus fermentum* UCO 979-C los días 0, 5, 15, 30 y 60. Mediante recuento por micro-gota en placas con medio Man Rogosa Sharpe (MRS). Esta investigación ha determinado un alimento en el cual administrar un probiótico de tercera generación para el tratamiento de *Helicobacter pylori*. De acuerdo al consenso de Maastricht 2016 toda persona que sea detectada con *Helicobacter pylori* debe recibir tratamiento. Las posibilidades para la innovación y desarrollo al bioencapsular probióticos sienta nuevas bases en la creación de nuevos alimentos funcionales que sobre su aporte nutricional posean la capacidad de inhibir microorganismos patógenos como *Helicobacter pylori*. El mercado mundial de probióticos crece un 7% anual y se pronostica que alcanzará ventas de US\$50 billones el 2018.

JU331

Pathotype and phylogroup characterization of diarrheogenic *Escherichia coli* from pigs slaughtered in the Minas Gerais States, Brazil

Natália Romanholi¹, Strolow Igor Martins², Mello Bruno Gaspar², De Araújo João Paulo Andrade², De Azevedo Everton Cruz², Martins Bruna Torres², Nero Luis Augusto², Yamatogi Ricardo Seiti². ⁽¹⁾ Medicina Veterinária, Mestrado - medicina veterinária, Universidade Federal de Viçosa. ⁽²⁾ Medicina Veterinária, Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, BR.

The pork production chain generates more than one million Reais each year to the Brazilian economy, ranking the country as one of the main exporters worldwide. Pork products are widely consumed worldwide, but it can carry different biological hazards, like pathogenic strains of *Escherichia coli*, responsible for a variety of symptoms in humans, such as by bloody diarrhea and renal failure. *E. coli* is characterized through different pathotypes based on a variety of virulence factors, being *eae* and *stx* the main virulence related genes in strains isolated from foods. This study aimed the identification of diarrheogenic *E. coli*, specifically Shiga-toxin producer *E. coli* (STEC), Enteropathogenic *E. coli* (EPEC), Enteroaggregative *E. coli* (EAEC) and Enteroinvasive *E. coli* (EAEC) from pig feces. Feces from 120 pigs from a facility in Minas Gerais State, Brazil, were collected using the swab technique. The samples were sown in agar MacConkey, incubated at 37°C for 24h and 5 typical colonies were subjected to biochemical tests to identify *E. coli*. The confirmed isolates in the bacteria were subjected to a multiplex PCR targeting *stx1/stx2*, *eae*, *ipaH* and *aggR* for pathotype identification. The positive isolates of the pathotypes were characterized to Clermont phylogroup identification (B1, B2, A and D) based on a second multiplex PCR targeting *chuA*, *yjaA*, *TspE4C2* and *gadA*. The Diarrheogenic *E. coli* was identified in 12 (10.3%) pigs, and 17 isolates were confirmed by the multiplex PCR, representing 70.6% EPEC (12/17) and 29.4% STEC (5/17). Based on the phylogroup characterization, EPEC isolates were categorized as B1 (3), B2 (6) and A (3) and STEC isolates as B1 (1), B2 (3) and A (1). The study demonstrated the presence of diarrheogenic *E. coli* in the pig feces, and EPEC as the predominant pathotype. Pathogenic strains of *E. coli* belonging to phylogroup B1 and B2 are highly virulent, being a concern in any food chain. The presence of pathogenic *E. coli* in pig feces is worrisome, once it can determine a cross contamination in the slaughtering, resulting in contamination of pork products meant for human consumption.

Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais - FAPEMIG, CAPES, CNPq and FUNARBE

JU332

Prospecção de bactérias do ácido láctico potencialmente probióticas isoladas a partir de leite e queijo artesanal

Rotta Isabela Sguilla¹, Paiva Aline Dias¹, Alves Bianca Aguiar¹, Barbosa Celso Tadeu¹, Pereira Fernanda Moreira¹, Silva Estela Ribeiro¹, Basilio Amanda Queiroz¹, Machado Alessandra Barbosa F¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia. UFTM, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, BR.

Introdução: Probióticos são micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, exercem efeitos benéficos ao hospedeiro. As linhagens probióticas devem ser capazes de sobreviver às condições adversas do trato gastrointestinal, como pH ácido do estômago e presença de sais biliares no intestino. **Objetivos:** Isolar, caracterizar e selecionar bactérias do Ácido Láctico potencialmente probióticas de leite não pasteurizado e queijos artesanais. **Métodos:** Foi realizado o isolamento de bactérias de amostras de leite e queijo artesanal em meio MRS seguida da caracterização morfológica e teste de catalase. Resistência ao pH ácido e a presença de sais biliares, capacidade de inibição do crescimento de bactérias deterioradoras e patogênicas in vitro e o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos amicacina, oxacilina, clindamicina, gentamicina e tetraciclina foram avaliados. **Resultados:** Quatorze bactérias cocos Gram positivos e catalase negativos foram isoladas a partir do leite. Dentre os 22 isolados do queijo, dois isolados cocos Gram positivos e catalase negativos foram selecionados para os testes subsequentes. No teste de inibição do crescimento bacteriano, todos os isolados apresentaram forte inibição sobre os micro-organismos indicadores *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Staphylococcus epidermidis*. No perfil de sensibilidade aos antimicrobianos, todos os isolados de leite e queijo apresentaram resistência a amicacina. Para os outros antimicrobianos, o perfil de sensibilidade dos isolados variou entre sensível, moderadamente resistente e resistente. No que se refere à resistência ao pH ácido, após 120 minutos de exposição em MRS pH 3,5, todos os isolados do leite e queijo apresentaram aumento da população. Em relação à presença de sais biliares, treze isolados do leite e dois do queijo apresentaram resistência após 120 minutos de exposição em MRS contendo 0,3% de sais biliares. **Conclusão:** Os resultados sugerem que as bactérias isoladas do leite e do queijo resistem in vitro às condições adversas do trato gastrointestinal, no que se refere ao baixo pH do estômago e a presença de sais biliares no intestino, e são capazes de inibir micro-organismos potencialmente patogênicos, características essenciais a todas as linhagens utilizadas como probióticos. Experimentos adicionais estão sendo realizados visando melhor caracterização fisiológica e genética desses isolados.



JU333

Caracterización microbiológica y metabolómica de compuestos volátiles asociados con aroma en fermentaciones espontáneas de *Theobroma cacao* en el departamento Santander, Colombia

Claudia Sandoval-Lozano¹, Luis López-Giraldo¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Ingeniería Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, CO.

La fermentación de los granos de cacao es un proceso esencial para el desarrollo de compuestos asociados con el aroma y sabor en el chocolate. No obstante, son pocos los reportes en los que se identifica la microbiota y los compuestos volátiles que ella produce. Por lo tanto, es importante conocer la población microbiana presente en la fermentación del cacao en los municipios con tradición cacaotera del departamento de Santander, Colombia. El objetivo del presente trabajo fue seleccionar cepas de levaduras autóctonas, con capacidad para metabolizar compuestos volátiles que le confieran a los granos de cacao, características sensoriales asociadas a percepciones frutales y florales. Para ello se evaluó la dinámica de la población microbiana (levaduras, bacterias lácticas y acéticas) presente en la fermentación espontánea de granos de cacao y se aislaron levaduras autóctonas para determinar su uso como cultivos iniciadores en procesos de fermentación dirigidos. El seguimiento de la fermentación se realizó tomando muestras de grano de cacao a una profundidad de 30 cm siguiendo un patrón de diagonales cruzadas durante 6 días. Para el recuento de los microorganismos se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-6} por extensión en superficie y se cultivaron en agar sabouraud, MRS y GYC. La identificación de las levaduras se realizó por su morfología y kits bioquímicos. Los compuestos volátiles fueron identificados por microextracción en fase sólida con espacio de cabeza (HS-SPME) acoplada a cromatografía gaseosa con detector de masas. Se encontraron poblaciones de levaduras entre $10^5 - 10^6$ UFC/g, seguidas por la población de bacterias lácticas y acéticas ($10^3 - 10^4$ UFC/g). Los principales géneros de levaduras encontrados fueron *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida krusei*, *Candida apícola*, *Hanseniaspora* sp y *Rhodotorula* sp. Se identificaron hasta el 95% de los compuestos volátiles producidos por las levaduras, los cuales fueron asociados con la aparición de percepciones florales y frutales. Estos resultados muestran una sucesión de la microbiota presente en el proceso de fermentación tradicional del cacao de la región de Santander, influenciada por las condiciones ambientales y climatológicas propias de la región e indican que las levaduras aisladas tienen potencial para ser usadas en procesos de fermentación dirigida.

Alteración morfológica de hifas de *Fusarium* como indicativo del efecto de tratamientos antifúngicos

Scaglioni Priscila Tessmer¹, Sibaja Karen Marimón², Freitas Cristina Hallal³, Garcia Sabrina Oliveira², Eliana Badiale-Furlong². ⁽¹⁾ Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR. ⁽²⁾ Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, BR. ⁽³⁾ Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR.

Los complejos de *Fusarium* son compuestos por distintos linajes/especies filogenéticas, que apenas la morfología no es capaz de distinguir. Sin embargo, el efecto de compuestos con actividad antifúngica en la morfología puede ser indicativo de alteraciones en el metabolismo del hongo, pudiendo desencadenar la producción de sus compuestos tóxicos, las micotoxinas. En este estudio se utilizaron extractos fenólicos de las microalgas *Nannochloropsis* sp. y *Spirulina* sp., así como el fungicida comercial tebuconazol, a fin de inhibir el desarrollo de la cepa CML 3607 perteneciente al complejo *Fusarium graminearum*. Los diferentes principios activos fueron incubados en cajas de Petri con disco de micelio fúngico (diámetro de 0,5 cm) en medio agar papa dextrosa, a 25°C con foto período de 12 h, totalizando 168 h. En el tratamiento control se utilizó agua estéril en lugar de los principios activos. La alteración morfológica del hongo al final del período de incubación fue analizada macro y microscópicamente. Fue utilizado un microscopio confocal Leica SP8. La concentración de ergosterol (componente de membrana celular fúngica) fue determinada a fin de correlacionarse con los efectos observados en la morfología de las hifas. Comparando las características microscópicas de las hifas formadas en la biomasa con los diferentes tratamientos, las formadas en el tratamiento control fueron más anchas y turgentes, demostrando el desarrollo natural del hongo, siendo la concentración de ergosterol igual a 295 $\mu\text{g g}^{-1}$. Los tratamientos con los extractos fenólicos de *Nannochloropsis* sp. y *Spirulina* sp. presentaron hifas más finas, poco turgentes, con paredes celulares más espesas y septos más definidos. Para estos tratamientos la concentración de ergosterol fue igual a 57 y 30 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. La biomasa tratada con tebuconazol presentó hifas finas y cortas, así como también más compactadas, resultando en aproximadamente 4 $\mu\text{g g}^{-1}$ de ergosterol. Estos hechos reflejan los efectos de los fungicidas naturales y sintéticos en el intercambio de materia con el medio. Además, la mayor alteración verificada en el aspecto visual del hongo causada por el tebuconazol puede llevar al hongo a condiciones de estrés, resultando en la producción de sus metabolitos tóxicos como forma de defensa.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (472633/2012).

JU335

Resistência à colistina e beta lactâmicos em enterobactérias isoladas na cadeia produtiva de frango de corte

Cardozo Marita Vedovelli¹, Schocken-Iturrino Ruben Pablo², Borzi Mariana Monezi³, Natália Pereira³, Ávila Fernando Antonio³. ⁽¹⁾ Veterinary Pathology-microbiology, Faculty of Agrarian and Veterinary Sciences-Jaboticabal Campus / SP-Brazil, UNESP, Jaboticabal, BR. ⁽²⁾ Veterinary Pathology-microbiology, Faculty of Agrarian and Veterinary Sciences-Jaboticabal Campus / SP-Brazil, UNESP-Universidade Estadual Paulista-, Jaboticabal/SP, BR. ⁽³⁾ Veterinary Pathology-microbiology, Faculty of Agrarian and Veterinary Sciences, UNESP, Jaboticabal, BR.

A importância da avicultura no Brasil é notória, entretanto, a utilização de antibióticos como promotores de crescimento neste setor pode ser o principal responsável pelo crescente número de enterobactérias resistentes a uma grande diversidade de antimicrobianos. E o maior problema deste fato é que o surgimento de novos recursos terapêuticos não acompanha a evolução dos mecanismos de resistência bacterianas, tornando as infecções causadas por estas estirpes um grave problema de saúde pública. Baseado nisso, o presente trabalho teve como objetivo detectar a presença dos principais e mais atuais fatores de resistência, sendo eles: resistência a betalactâmicos, carbapenêmico e colistina, em enterobactérias isoladas em toda a cadeia produtiva de aves de corte. Foram realizadas as triagens fenotípicas através da utilização de antimicrobianos das 210 amostras analisadas (fezes e carne de frango), e então, realizadas as PCRs para detecção dos genes que conferem as diversas características de resistência a antimicrobianos propostos. Nenhuma das amostras analisadas apresentaram o gene que confere resistência a carbapenêmicos (KPC), entretanto, 60 isolados foram positivos para os outros antimicrobianos testados, sendo 4 positivos para resistência à colistina através do gene blaMCR-1; e em relação a resistência aos betalactâmicos foram 15 positivos para os genes blaLAT-1 a blaLAT-4, blaCMY-2 a blaCMY-7 e blaBIL-1; 46 positivos para blaDHA1 e blaDHA2; 2 positivos para blaFOX1 a blaFOX5b e 5 positivos para blaMIR-1T e blaACT-1. Sendo que esses positivos são amostras de fezes de frango e carne de frango. A próxima etapa desse estudo será avaliar amostras dos humanos que consomem e têm contato com esses animais e então realizar análise de similaridade genética. Os nossos resultados contribuem para o conhecimento dos perfis de genes de resistência mais frequentes desde a produção do frango de corte do estado de São Paulo até o seu consumo, e mostrar a correlação da existência de genes de resistência entre animais e humanos. Tais dados serão fundamentais para aumentar a consciência do risco potencial que essas bactérias representam para a saúde humana, trazendo medidas para redução do uso de antibióticos na produção avícola do país.

CAPES-Coordination of Improvement of Higher Level Personnel

JU336

Caracterización genómica y fenotípica del Salmonella phage_sal3-like, indica que podrían utilizarse en el biocontrol en carne de pollo

María Jesús Serrano¹, Dácil Rivera ¹, Fernando Dueñas¹, Andrea Moreno-Switt¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de enfermedades transmisibles, Ciencias para la vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Los bacteriófagos (fagos) son virus que lisan específicamente bacterias, por lo que son utilizados para controlar bacterias en alimentos. La carne pollo es uno de los alimentos de mayor consumo por lo que asegurar su inocuidad, resulta de gran importancia. Fagos del tipo sal3 han sido secuenciados, pero no han sido aún clasificados taxonómicamente. El objetivo de este trabajo fue identificar y caracterizar la resistencia de un fago sal3, para su uso como biocontrol en carne de pollo. Se secuenció un fago aislado desde Salmonella Enteritidis. Se evaluó la ausencia de genes de virulencia y resistencia. Su estructura fue identificada por medio de microscopía electrónica de transmisión (TEM), a un aumento de 105.000X y 80 kV. Se caracterizó la resistencia de este fago a condiciones ambientales (CA): i) temperatura (60°C, 70°C y -20°C), ii) radiación UV, iii) pH (2,5 y 10) y iv) NaCl (0,1M, 1M, 1,5M). El título inicial del fago fue de 10⁸ UFP/mL. Se expuso durante 20 minutos (min) a las CA mencionadas y se tomaron muestras cada 5 (min), en duplicado. Mediante spot-test se observó el cambio del título. Finalmente, se realizó un desafío de vitalidad en matriz pollo (25g de pollo, 225 de buffer SM y 1% del fago) mantenido a 4°C, se evaluó el título durante 7 días. Este fago tiene un genoma de 47 kb y % GC 46,11. No presenta genes de virulencia y de resistencia. La imagen TEM indica que pertenece al orden Caudoviral, con un tamaño de 100nm de largo y su morfología corresponde a la familia Siphoviridae. La exposición a las distintas temperaturas, tolerancia a NaCl y pH 2,5 no mostraron cambios de título. La exposición a pH 10 aumentó el título a 10¹⁰ UFP/mL entre los 15 y 20 (min). La exposición a UV generó disminución del título a 10⁶ UFP/mL entre los 15 y 20 (min) de exposición. En el ensayo en la matriz, el título disminuyó a 10⁶ UFP/mL hasta el día 4 en que se mantuvo estable hasta el día 7. Estas características genómicas y fenotípicas estables observadas indican sal3-like sería un buen candidato como agente de biocontrol en carne de aves.

FONDECYT Regular 1181167

JU337

Qualidade microbiológica e pesquisa de *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) na cadeia produtiva do leite de vaca

Silva Cíntia Borges¹, Lopes Patricia Kraschinsk¹, Gonzalez Alice Gonçalves¹. ⁽¹⁾ Departamento de Bromatologia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, BR.

O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade microbiológica do leite de vaca na cadeia produtiva de uma cooperativa do Estado do Rio de Janeiro, Brasil, através da contagem de bactérias aeróbias totais (CBT), contagem de coliformes e contagem de estafilococos coagulase positivo (CoPS). Além disso, investigar a presença de STEC e STEC O157:H7 nas amostras de leite e nas fezes do gado bovino. Foram coletadas 100 amostras de leite cru, 10 amostras de leite pasteurizado e 63 amostras de fezes, através de swab retal, do animal ordenhado. Para avaliar a eficiência da pasteurização foram realizados os testes de peroxidase e fosfatase alcalina. A maioria das amostras (68%) de leite cru apresentou CBT maior que 5 log UFC/mL, sendo classificadas, de acordo com a legislação brasileira, com condições microbiológicas insatisfatórias. Das amostras de leite cru, 10% apresentaram contagem de CoPS acima de 5 log UFC/mL, indicando risco potencial de intoxicação estafilocócica, mesmo no leite pasteurizado, pois a enterotoxina uma vez formada no leite cru, não é inativada através do processo térmico de pasteurização. Todas as amostras de leite pasteurizado apresentaram CBT de acordo com a legislação brasileira, no entanto, 80% foram classificadas com condições microbiológicas insatisfatórias por apresentarem coliformes totais e *E. coli* acima dos padrões estabelecidos pela legislação. CoPS esteve presente em 20 % das amostras de leite pasteurizado. Considerando a eficiência do processo de pasteurização, devido à presença da enzima peroxidase ativa e da enzima fosfatase alcalina inativa, os resultados indicam contaminação do leite após pasteurização. O gene *stx* foi detectado em 65% das amostras de leite cru e em 88,9% das amostras fecais. Nenhuma amostra de leite pasteurizado apresentou o gene *stx*. STEC O157:H7 foi isolada de 11,9% das amostras de fezes bovinas *stx*-positivas. Todas as STEC O157:H7 isoladas apresentaram os genes de virulência *stx2c*, *eaey*, *tiry*, *espAy*, *espBy*, *ler*, *iha*, *astA*, *E-hlyA* e *espP*. A qualidade microbiológica dos produtos lácteos está diretamente relacionada à qualidade da matéria-prima, com isso, é necessário a adequação dos produtores rurais quanto à implementação de Boas Práticas Agropecuárias, além da implementação das Boas Práticas de Fabricação pela indústria de laticínios.

Fundação CAPES e FAPERJ.

JU338

Cultivo de Shimeji aproveitando resíduos domiciliares

Trasmonte Pedro A¹, Ponte Amelia CE¹, Machado Kátia MG¹. ⁽¹⁾ Ciências Biológicas, UNISANTOS, Universidade Católica de Santos, Santos, BR.

No Brasil, o consumo de cogumelos in natura é uma prática pouco difundida na sociedade. O cultivo de cogumelos em escala doméstica pode se revelar uma estratégia interessante para difundir a importância nutricional dos cogumelos, ao mesmo tempo que constitui um recurso terapêutico e contribui para a reciclagem de resíduos produzidos cotidianamente nas residências. Este trabalho teve como objetivos formular sistema de cultivo para Shimeji reutilizando resíduos domésticos e verificar a viabilidade de realização das etapas de crescimento e frutificação do fungo na própria residência. O substrato de cultivo foi composto por mistura de 75% de borra de café e 25% de celulose obtida a partir de filtro de café usado e caixas de ovos, enriquecida com gesso (2%), cal (1%) e farelo de trigo (5%), ajustada a umidade para 60% e pH 8, fracionada em 10 porções iguais, acondicionada em sacos plásticos e autoclavada. As amostras foram inoculadas com micélio de *Pleurotus* (spawn) previamente desenvolvido em grãos de trigo e arroz (5 amostras cada) e, na sequência, guardados ao abrigo da luz até sua total colonização. Duas amostras controle foram montadas sob as mesmas condições, inoculadas com spawn de trigo obtido de produtor licenciado. A indução da frutificação foi feita por choque térmico (24 h em geladeira à 5°C), aumento de ventilação e iluminação (12 h). A umidade foi controlada diariamente. Observou-se influência do spawn no desenvolvimento micelial. No 14º e 28º dias de incubação, foi observada total colonização dos sistemas inoculados com spawn de trigo e de arroz, respectivamente. A frutificação foi obtida apenas no sistema inoculado com spawn de trigo: a partir do 52º dia na amostra controle e, nas amostras domésticas, a partir do 63º dia. Ambas com pouquíssimos primórdios. Os resultados evidenciam a possibilidade da reutilização de resíduos domésticos para o cultivo em pequena escala, contudo novos estudos serão realizados visando avaliar a viabilidade do cultivo de Shimeji com outras alternativas de esterilização sem autoclave e melhores formulações de substrato em busca de maior produtividade. A produção e o cuidado caseiro mostram-se importantes ferramentas para o fortalecimento da conexão do homem urbano com a natureza.

UNISANTOS - Universidade Católica de Santos

JU339

Vitamina B12: Un posible mecanismo de defensa utilizado por *Listeria monocytogenes* frente a estrés por cobre y bajas temperaturas

Leonardo Vasquez-Camus¹, Ana María Quesille-Villalobos¹, Patricia Gallardo¹, Patricia Madrid¹, Angélica Reyes-Jara¹. ⁽¹⁾ INTA, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Listeria monocytogenes (Lm) es un patógeno transmitido por alimentos causante de Listeriosis en humanos. Esta bacteria es capaz de proliferar a temperaturas de refrigeración y resistir altas concentraciones de sal y ácidos orgánicos, estrategias usadas por la industria para controlar la proliferación de microorganismos. Las propiedades antibacterianas del cobre son reconocidas y tienen un potencial para ser aplicadas en el control de patógenos. En nuestra investigación, hemos observado que la capacidad anti-Lm del cobre se ve potenciada a bajas temperaturas (8°C). Previamente, mediante ensayos de microarreglos fue posible identificar que algunos genes relacionados a la síntesis de vitamina-B12 se sobreexpresan en Lm expuesta a Cu/8°C. Se ha descrito que la vitamina-B12 actúa como co-factor enzimático y posee un rol antioxidante en otras especies bacterianas. Nuestro objetivo fue evaluar el efecto del cobre sobre la expresión de los genes relacionados a la síntesis de vitamina-B12 en Lm expuesta a 8°C. Mediante análisis *in silico* se identificaron los genes que participan en la biosíntesis de vitamina-B12 en Lm cepa List 2-2 y, por qPCR, se cuantificó la expresión de genes seleccionados después de la exposición a Cu/8°C (control 8°C) durante 1, 6 y 24 horas. En List2-2 se identificaron 19 genes correspondientes a la biosíntesis de vitamina-B12 que conforman el operón-Cob. Entre los genes identificados cobA, cobQ y cobS, codifican para proteínas claves del proceso de la síntesis de vitamina-B12. Además, río arriba del operón-Cob, se identificó eutV un activador transcripcional de los genes del metabolismo de etanolamina, molécula cuya utilización es dependiente de vitamina-B12. A las 6 y 24 horas de exposición a Cu/8°C se observó un aumento significativo en la expresión de los genes cobA, cobQ, cobS y eutV, no obstante la mayor expresión de los genes se detectó a las 6 horas. En conclusión, es posible que la vitamina-B12 posea un rol en la protección de Lm cuando es expuesta a la combinación de frío y cobre, lo cual permitiría al patógeno persistir bajo esta condición de estrés. La siguiente etapa será comprobar el rol de estos genes en la persistencia de Lm a través del diseño de mutantes.

FONDECYT Regular 1171575

JU340

Efectos de la temperatura, rayos ultravioleta y tiempo de exposición sobre la carga microbiana en hojas de coca (*Erythroxylum coca*)

Milenka Velasco¹, Maribel Lopez¹. ⁽¹⁾ Santa Cruz, Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma Gabriel Renè Moreno, BO.

El uso de hoja de coca (*Erythroxylum coca*) supera los 3 millones de habitantes en Bolivia, siendo que tres de cada diez personas utilizan esta hoja considerada milenaria en los países andinos para el acullico tradicional. Estas suelen presentar microorganismos del suelo, de heces de animales provenientes del manipuleo en la cosecha, la elaboración, transporte y almacenamiento hasta su comercialización. Es de esta forma un sustrato favorable para la contaminación por bacterias y hongos. El objetivo del estudio fue la detección e identificación de microorganismos indicadores de las condiciones higiénicas sanitarias y patógenos importantes a nivel alimentario para verificar de qué manera los diferentes tratamientos físicos (temperatura y radiación ultravioleta) reducen la carga microbiana sin afectar la estructura de la hoja, para reducir los posibles riesgos en la transmisión de bacterias patógenas durante su utilización. El muestreo se realizó en dos puestos de mercado (La Ramada y Alto San Pedro) de la ciudad de Santa Cruz. La metodología es la recomendada por I.C.M.S.F. (Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos), aplicando agentes físicos en diferentes tiempos de exposición (diferentes temperaturas T1:40°C, T2: 50°C y T3: 60°C; tiempos de radiación 15' y 20'). Se lograron identificar diversas bacterias (*Serratia rubidaea*, *Ewingella americana*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*) y hongos (*Penicillium notatum*, *Aspergillus niger*, *Fusarium sp.*, *Rhizopus sp.* y *Saccharomyces sp.*) en cantidades que superan las normas de referencia de IBNORCA (NB 32003, NB 32004, NB 32005). En ambos ensayos los tratamientos de temperatura y radiación ultravioleta en combinación con diferentes tiempos de exposición, redujeron la carga inicial de microorganismos entre 96 a 99%. Se evidenció que los tratamientos con UV con 20 minutos de exposición son más óptimos y apropiados para reducir la carga bacteriana preservando el aspecto y la calidad sensorial de la hoja de coca.



JU341

Epidemiología molecular aplicada a la vigilancia de patógenos transmitidos por alimentos en SEREMI Salud de Santiago, Chile

Maricel Vidal¹, Marcelo Ulloa², Karina Rojas¹, Cristina Muñoz¹, Victor Riquelme¹, Guillermina Riveros¹, Daniel Aguirre¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Salud Pública Ambiental y Laboral, Seremi de Salud Región Metropolitana, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Nutrición, División de Políticas Públicas, Ministerio de Salud, Santiago, CL.

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), representan un importante problema de salud pública a nivel mundial. En nuestro país, la vigilancia ambiental de los agentes de ETAs se realiza de acuerdo a lo establecido en el Reglamento Sanitario de los Alimentos. En este sentido, desde hace algunos años el Ministerio de Salud (MINSAL), ha impulsado una vigilancia de alimentos a nivel nacional dirigida a patógenos de importancia. El objetivo de este trabajo fue verificar e implementar metodologías de confirmación a través de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para los patógenos *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp aislados desde alimentos. En el caso de *L. monocytogenes* se consideró un protocolo de PCR múltiple (PCRm) dirigido a la detección de genes de virulencia específicos (*hly*, *prfA*, *inlA*, *inlB*), incluyendo el gen *prs*, común a todas las especies del género *Listeria*. Para *Salmonella* spp. se consideró un protocolo de PCRm para la detección del gen *invA*, común para las especies del género y el gen *spvA*, específico para el serotipo Enteritidis. Los parámetros considerados en la verificación de ambas metodologías de PCR fueron reproducibilidad y especificidad (inclusividad y exclusividad). La inclusividad se verificó a través de cepas de *L. monocytogenes* y *Salmonella* spp. de referencia ATCC y aislamientos positivos de nuestro Laboratorio. La exclusividad fue analizada a través de cepas de especies relacionadas y no relacionadas, de referencia ATCC y aislamientos negativos a *L. monocytogenes* y *Salmonella* spp de nuestro Laboratorio. Para la reproducibilidad de los métodos, se realizaron 3 repeticiones independientes con las mismas cepas (25 para *L. monocytogenes* y 30 para *Salmonella* spp), desarrolladas por 2 analistas distintos. Como resultado se obtuvo para ambas metodologías un 100% de especificidad y reproducibilidad. Durante el desarrollo del Programa Nacional de Vigilancia de patógenos de los años 2016 y 2017, hemos realizado la confirmación de 98 cepas de *Salmonella* spp y 34 de *L. monocytogenes*. La implementación de ambas metodologías nos permitió mejorar nuestros tiempos de respuesta y especificidad y procesar un mayor número de muestras simultáneamente.

Ministerio de Salud, Secretaría Regional Ministerial de Salud RM

JU342

Staphylococcus coagulase negativa presentes em queijo colonial: perfil enterotoxigênico e de resistência à penicilina e meticilina

Vieira Tatiana Regina², Caroline Pissetti², Kroning Isabela Schneid¹, Ausani Thaís De Campos², Lopes Graciela Volz², Marisa Cardoso². ⁽¹⁾ Laboratório de Microbiologia e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR. ⁽²⁾ Medicina Veterinária Preventiva, Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR.

Staphylococcus spp. coagulase negativa (CNS) tem emergido como patógeno oportunista e seu potencial como carreador de genes que codificam enterotoxinas e/ou resistência à antimicrobianos já foi documentado. Apesar disso, sua pesquisa como causador de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) tem sido negligenciada. Sabendo que o queijo é o principal derivado lácteo associado a intoxicações alimentares, que a presença de cepas enterotoxigênicas do gênero Staphylococcus representa um perigo ao consumidor e, que poucos são os estudos relacionados ao risco do consumo de queijo colonial (produto típico do Sul do Brasil), os objetivos deste estudo foram: identificar as espécies de CNS, presentes em queijo colonial inspecionado; pesquisar a presença de genes codificadores de enterotoxinas clássicas (SE), e de resistência à penicilina e à meticilina nas cepas isoladas. Foram analisadas 205 amostras de queijos, adquiridas em Feiras e no Mercado Público de Porto Alegre (Brasil). O isolamento inicial de Staphylococcus spp. seguiu o protocolo ISO 6888-1:1999, adicionado da triagem fenotípica para CNS e identificação genotípica. A pesquisa de SEs foi realizada por amplificação dos genes sea, seb, sec, sed e see. Enquanto a resistência à penicilina foi avaliada a partir da amplificação do gene blaZ e a resistência à meticilina confirmada pela pesquisa do gene mecA. Dentre as 59 colônias fenotipicamente compatíveis com CNS foram identificadas treze espécies, sendo *Micrococcus caseolyticus* (40%) a mais frequente. Das 35 cepas confirmadas genotipicamente como CNS, *S. equorum* e *S. vitulinus* foram predominantes. O gene blaZ foi detectado em cinco cepas de CNS e em uma de *M. caseolyticus*, sendo relativamente mais frequente em *S. hyicus* e *S. epidermidis*. O gene mecA não foi detectado. Oito cepas de CNS amplificaram um ou mais genes para SE, sendo seb o mais frequente (63,6%). Onze cepas apresentaram pelo menos um dos genes investigados tendo como mais frequentes os perfis seb/blaZ (n=4) e blaZ (n=3). Sendo assim, foi possível confirmar a diversidade de CNS nas amostras analisadas, bem como a presença de genes codificadores de enterotoxinas clássicas e de resistência à penicilina. Tais resultados chamam atenção para o possível papel dos CNSs como reservatório desses genes em alimentos.

JU343

Estandarización de método para la detección de bacterias termo-acidófilas (BAT) Alicyclobacillus spp. productoras de guayacol en muestras de azúcar

Katherine Viera¹. ⁽¹⁾ Santa Cruz, Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno, BO.

Las bacterias termo-acidófilas (BAT), presentan esporas y se desarrollan en medios ácidos, producen un compuesto llamado Guayacol; el cual es causante de alteración de las características sensoriales (olor y sabor) de jugos. El género Alicyclobacillus spp, ha sido sujeto a estudio, debido al daño económico que causa a las empresas exportadoras de zumos y otro tipo de bebidas. En Bolivia aún no se encuentra normado el análisis microbiológico de este grupo bacteriano; pero a nivel internacional está presente dentro de los parámetros de análisis de laboratorio, es más; muchas empresas realizan el análisis a la materia prima (azúcar) antes de utilizarla y evitar incurrir en grandes pérdidas económicas. El objetivo del estudio es estandarizar una técnica para identificar Alicyclobacillus spp. BAT y bacterias productoras de guayacol en el laboratorio de Microbiología de la U.A.G.R.M. a partir de muestras de azúcar comercializadas en Santa Cruz de la Sierra. Se realizaron tres muestreos con un total de 15 muestras, utilizando aislamiento en medio selectivo YSG (PH 3.5), con metodología de referencia AJFJA (Japan Fruit Juice Association, 2003). Se identificaron bacterias termo-acidófilas y bacterias productoras de guayacol en dos de los tres muestreos de las especies (A. acidoterrestis y A. acidocalcarius) mediante Test confirmación por el método de temperatura diferencial de crecimiento (45 y 65° C). Se obtuvieron valores entre 6 a 39 UFC/g en el primer muestreo y 1 UFC/g durante el segundo muestreo con un total de 40 % de muestras positivas al crecimiento de bacterias termoacidófilas.

Laboratorio de Microbiología Ambiental de la U.A.G.R.M.



JU344

Qualidade microbiológica da carne de jacaré-açu (*Melanosuchus niger* Spix, 1825) e jacaretinga (*Caiman crocodilus* Linnaeus, 1758), oriundos da Reserva Extrativista Lago do Cuniã, Rondônia, Brasil

Nogueira Wesclen Vilar¹, Vervloet Alex Junior², Pontuschka Rute Bianchini². ⁽¹⁾ Laboratório de Micotoxinas e Ciência de Alimentos - LAMCA, Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Rio Grande - RS, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Análises Físico-químicas - LAFQM, Engenharia de Pesca, Universidade Federal de Rondônia - UNIR, Presidente Médici - RO, BR.

A criação e manejo de crocodilianos, tanto em criadouros quanto em unidades de conservação, é uma realidade em diversas regiões do Brasil, sendo a atividade estabelecida dentro dos padrões legais e regulamentada pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). A obtenção de informações relativas à qualidade da carne de crocodilianos dentro da cadeia produtiva é necessária, uma vez que o uso dessa fonte alimentar de forma legal tem crescido no Brasil. Assim, o presente trabalho objetivou verificar a qualidade sanitária de cinco cortes (cauda, costela, isca, lombo e sobrecoxa) de jacaré-açu e jacaretinga capturados na Resex Lago do Cuniã, sendo avaliados os teores de bactérias psicrotróficas, bolores e leveduras. As amostras foram obtidas no frigorífico da própria Resex. Foi empregado o método de plaqueamento em superfície com os meios Nutrient Agar (psicrotróficos) e Potato Dextrose Agar acidificado (bolores e leveduras). As análises foram feitas em quintuplicata. Como no Brasil não há padrões microbiológicos para bactérias psicrotróficas, considerou-se como referência os limites estabelecidos pela Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos (ICMSF). Já para bolores e leveduras, os padrões utilizados foram o do Código Sanitário do Estado de São Paulo. A população de bactérias psicrotróficas variou de $<1,0$ a $2,82 \log \text{ UFC/g}$ e de $<1,0$ a $3,0 \log \text{ UFC/g}$ para jacaré-açu e jacaretinga, respectivamente. Para bolores e leveduras, de $<1,0$ a $1,90 \log \text{ UFC/g}$ e de $<1,0$ a $2,21 \log \text{ UFC/g}$, respectivamente para jacaré-açu e jacaretinga. A ICMSF recomenda que os psicrotróficos não ultrapassem $7 \log \text{ UFC/g}$, de forma que todas as amostras analisadas estiveram dentro desse padrão. Igualmente para bolores e leveduras todas as amostras apresentaram valores abaixo do limite tolerado ($3 \log \text{ UFC/g}$). Conclui-se, portanto, que os baixos índices de contaminação observados nos cortes estão relacionados à aplicação das Boas Práticas no frigorífico da Cooperativa da Reserva Extrativista Lago do Cuniã.

JU345

Virulence and antibiotic resistance profile of *Salmonella* spp. isolated from mesenteric lymph nodes of pigs slaughtered in Minas Gerais, Brazil

De Azevedo Everton Cruz¹, Romanholi Natália Lourenço¹, De Araújo João Paulo Andrade¹, Martins Bruna T. Furtado¹, Nero Luis Augusto¹, **Yamatogi Ricardo Seiti**¹. ⁽¹⁾ Departamento de Veterinária, Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, BR.

The widespread of antibiotic resistance in bacteria is considered a worldwide challenge for Public Health, being the indiscriminate use of these substances in animal production one of the main reasons for this problem. *Salmonella* is an important foodborne pathogen in the pork production chain, and it is highly susceptible to the development of resistance to different classes of antibiotics, mainly due to the high use of antibiotics in different steps of pig production. This study aimed the characterization of the virulence and antibiotic resistance profiles of *Salmonella* spp. obtained from mesenteric lymph nodes from pigs. Lymph nodes samples from 100 pigs slaughtered in a facility located in Minas Gerais state, Brazil, were obtained and tested for the presence of *Salmonella* spp. according FDA protocol. Suspect isolates were identified by PCR (*invA* and *ompC*); *Salmonella* confirmed isolates were subjected to further PCRs targeting virulence related genes (*pefA*, *spvC*, *sipA*, *sopB*, *sefA*, *spaN*, *pagC*, *rpoS*, *spvB*) and to disk diffusion assay to check the resistance profiles against 12 antibiotics (Amoxicillin 20µg, Ampicillin 10µg, Azithromycin 15µg, Cefaclor 30µg, Cefepime 30µg, Ciprofloxacin 5µg, Cotrimoxazole 25µg, Enrofloxacin 5µg, Florfenicol 30µg, Imipenem 10µg, Neomycin 30µg, Norfloxacin 10µg). *Salmonella* spp. were identified in 14 lymph nodes samples, and 30 isolates were confirmed as *Salmonella* spp. and presented amplification products to *pefA*, *sipA*, *sopB*, *spaN* and *pagC*. Also, isolates presented resistance to amoxicillin (15/30), ampicillin (16/30), azithromycin (2/30), ciprofloxacin (2/30), enrofloxacin (14/30) and florfenicol (13/30); 12 isolates presented resistance to four classes of antibiotics, being characterized as multidrug resistant. The study demonstrated the presence of *Salmonella* spp. in the pork production chain, as well as the virulence and multidrug profiles of the isolates.

Acknowledgment: Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais - FAPEMIG, CAPES, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Cnpq and FUNARBE

JU346

Virulence profile of multidrug resistance strains of *Salmonella* I.4,5,12:i, *S. Panama*, *S. Typhimurium* and *S. Bovismorbificans*

Strelow Igor Martins², Possebon Fábio Sossai¹, Furtado Bruna Torres M², Nero Luis Augusto², **Yamatogi Ricardo Seiti**².

⁽¹⁾ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho - UNESP, Botucatu, BR. ⁽²⁾ Departamento de Veterinária, Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, BR.

Salmonella is important in foodborne diseases outbreaks around the world and the presence of multidrug resistant (MDR) strains is a challenge to Public Health. Different food can disseminate the pathogen, like pork, poultry and vegetables, and infection in humans occur by ingestion of contaminated food and treatment, when necessary, can be difficult due to antibiotics resistance. Characterization of virulence factors helps to understand the disease pathogeny when an infection is established. The aim of this study was to characterize the pathogenic profile of MDR *Salmonella*. A total of 31 strains (resistant to at least 4 classes of antibiotics), serovars S.I.4,5,12:I (n=10), *S. Panama* (n=6), *S. Typhimurium* (n=11) and *S. Bovismorbificans* (n=4), isolated from Botucatu, São Paulo, and previously tested against 15 antibiotics (ampicillin, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, meropenem, aztreonam, amikacin, gentamicin, streptomycin, nalidixic acid, sulfonamides, trimethoprim-sulfamethoxazole, chloramphenicol, and tetracycline). The strains were subject to PCRs targeting virulence genes (*pefA*, *spvC*, *sipA*, *sopB*, *sefA*, *spaN*, *pagC*, *rpoS*, *spvB*). The virulence genes found in MDR *Salmonella* were *pefA* (74,19% of the strains), *spvC* (32.25%), *sipA*; (100%), *sopB* (100%); *rpoS* (61.29%), *spaN* (96.77%), *spvB* (19.35%) and *pagC* (100%). Associating the virulence profile, the isolates were divided in group 1 - those that presented up to 5 virulence genes and group 2 – those that presented 6 or more virulence genes. Group 1 corresponded to 38.70% of the isolates being of the serovars *S. Typhimurium* and *S. I.4,5,12: i*. Group 2 corresponded to 61,30% of the isolates belonging to *S. Panama*, *S. I.4,5,12:i* and *S. Bovismorbificans*. The study demonstrated that MDR *Salmonella* presented important virulence factors that provides the ability to infect a host. Besides, the serovars *S. Panama*, *S. I. 4,5,12: i* and *S. Bovismorbificans* are the group that presented the highest number of virulence genes.

Acknowledgment: Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais - FAPEMIG, CAPES, CNPq and FUNARBE

JU347

Detección de protozoos a partir de ADN en restaurantes escolares de la ciudad de Armenia

Hernández Natalia M. Arango¹, Muñoz Gloria D. Sánchez¹, **Lora Fabiana María Suárez**², Alejandro Zamora¹, Gómez Jorge E. Marín¹. ⁽¹⁾ Grupo de Estudio en Parasitología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Quindío, Armenia, CO. ⁽²⁾ Grupo de Estudio en Parasitología Molecular, Programa de Biología, Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías, Universidad del Quindío, Armenia, CO.

En el 2014, la FAO y la OMS, listan los principales parásitos transmitidos por los alimentos y que causan mayor preocupación en el mundo. Hasta la fecha no se ha reportado para Colombia un estudio sistemático de los parásitos de mayor importancia en salud pública que son transmitidos por alimentos que afectan la población escolar. Se estudiaron cinco protozoos considerados de mayor pertinencia para nuestro país por su frecuencia e impacto en salud en población infantil: Toxoplasma, Giardia, Cryptosporidium, Cyclospora y Blastocystis. Se evaluaron diez restaurantes escolares seleccionados al azar. Se diligenciaron encuestas y se tomaron muestras por triplicado de carne, vegetales, agua hervida, jugo, agua de grifo, superficies vivas (palma de mano) e inertes, para un total de 213 muestras. Se realizaron procesos de concentración y extracción de ADN. La identificación de cada parásito se realizó por PCR convencional. La presencia/ ausencia se correlacionó con variables epidemiológicas usando Ji cuadrado ($P < 0,05$). Se reportó la presencia de ADN de Toxoplasma en carnes (30,7%), Toxoplasma (15,3%), Blastocystis (10,8%) y Cryptosporidium (3,8%) en jugos, agua de grifo, superficies, manipuladores. Este es el primer estudio que se realiza en Colombia donde se encuentra protozoos en jugos, vegetales y superficies vivas.

Agradecimiento: Secretaría de Educación y de Salud Municipal, COLCIENCIAS Contrato 41155

JU348

Desarrollo de herramientas de aseguramiento metrológico para la identificación y cuantificación de *Salmonella* spp. por métodos basados en PCR

Carolina Villamil¹, Martha Nancy Calderón¹, John Emerson Leguizamon².⁽¹⁾ Bogotá D.C, Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C, CO. ⁽²⁾ Grupo de Metrología en Bioanálisis, Subdirección de Metrología Química y Biomedicina, Instituto Nacional de Metrología, Bogotá, CO.

Salmonella spp. es uno de los principales microorganismos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos. Se ha reportado que en Estados Unidos, la salmonelosis causa 400 muertes por año. La detección temprana de este patógeno es muy útil en la industria para evaluar la calidad y la seguridad de los productos alimenticios, evitando que se generen enfermedades transmitidas por alimentos. Las nuevas tecnologías moleculares de detección de microorganismos por medios moleculares como la PCR en tiempo real y digital, permiten una detección específica basada en genes de virulencia, disminuyendo los tiempos de respuesta y garantizando la calidad de los resultados. En el presente trabajo, se han desarrollado dos herramientas metrológicas para la detección de *Salmonella* spp. Por un lado la validación de una metodología por PCR digital para la detección y cuantificación de este patógeno en un intervalo entre 8 - 8000 copias/ μ L, amplificando en modo dúplex para los genes *invA* (requerido para la invasión de la bacteria a células epiteliales) y locus *ttr* (implicado en la respiración de tetracionato) y en modo simplex para el gen *hilA* (regulador transcripcional de la familia *OmpR / ToxR* que activa la expresión de genes del sistema de secreción tipo III necesarios para la invasión). Se evaluaron parámetros como precisión, selectividad, límite de detección y cuantificación. Por otra parte, se optimizó una metodología de cultivo con *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076 y extracción de ADN a gran escala, para la producción de un piloto, candidato a material de referencia a nivel de ADN genómico. Se obtuvo un ADN puro e íntegro, libre de ARN y contaminación con proteínas o sales y con rendimientos de 1330 ng/ μ L el cual ha sido caracterizado a nivel de los estudios de homogeneidad y estabilidad a corto plazo con el método de medición validado en la primera etapa del proyecto. Los resultados de este trabajo permiten que se pueda mejorar la calidad de las mediciones en el área de inocuidad de alimentos en Colombia. Esto generará medidas trazables y más sensibles, permitiendo disminuir los límites y el tiempo de detección de este patógeno y así poder cumplir con los estándares internacionales.

Financiado por División de Investigación de la sede Bogotá Universidad Nacional de Colombia (código 37670), COLCIENCIAS contrato 018-2017 UNAL-Instituto Nacional de Metrología. Agradecimientos al Instituto Nacional de Salud por su asesoría.

JU349

Mycobiota in Chilean traditional chilli used for Merkén production

Jéssica Costa¹, Rodrigo Rodriguez², Sebastián Lopez¹, Paola Battilani³, Nelson Lima², Cledir Santos^{1,(1)} Department of Chemical Sciences and Natural Resources, Universidad de La Frontera, Temuco, CL.⁽²⁾ Micoteca da Universidade do Minho, Biological Engineering Centre, Universidade do Minho, Braga, PT. ⁽³⁾ Facoltà di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Università Cattolica del Sacro Cuore, Milano, IT.

In Chile, *Capsicum annum* L. cv. “Cacho de Cabra” berry fruits are used for the manufacture of a traditional chilli powder known as Merkén. The agricultural practices used by Merkén local producers are empirical and do not consider the mycotoxigenic fungi prevention. Therefore, the main goal of this study was to identify the mycobiota and the possible mycotoxigenic contaminations at different points in the Merkén production chain. Samples of *C. annum* were obtained from local farmers of the South Zone of Chile. Samples were collected: 1) just at the day of ripe fruits harvest; 2) drying process; and 3) at the smoking process. Mycobiota were isolated on Petri plates of Malt Extract Agar (MEA), Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC) and Dichloran Glycerol Agar 18% (DG18). Isolated fungal strains were identified using classical morphology and molecular biology techniques. For the classical taxonomy, macro and micro morphology traits were assessed. For molecular identification, BLAST used β -tubulin (*benA*) and Internal Transcribed Spacer (ITS) sequence were performed for all fungal strains. All sequences were compared with the GenBank database. A total of 192 fungal strains belonging to 9 genera distributed among 206 different species were identified. From these, 61 fungal strains were isolated from the chilli samples at the day of ripe fruits harvest (25 *Penicillium*, 14 *Fusarium*, 9 *Alternaria*, 7 *Aspergillus* and 6 others species). In addition, 46 fungal strains were found after 1 month of harvest (24 *Penicillium*, 12 *Aspergillus*, 7 *Alternaria* and 3 others species), and 85 fungal strains were found at the smoking process (63 *Penicillium*, 18 *Aspergillus* and 4 others species). Overall, these results show that the mycobiota present in *C. annum* berry fruits during its production process for the Merkén is increasingly selective for occurrence of *Aspergillus* and *Penicillium* species. In order to establish critical control points for a safe and high-quality product, these results demonstrate the importance of knowing even more the mycobiota and potential mycotoxigenic fungi present in each stage of *C. annum* berry fruits production, which is used for the Merkén production.

The authors thank CONICYT Chile for PhD Grant. This study was partially funded by the Universidad de La Frontera (Temuco, Chile) and Portuguese Foundation for Science and Technology (FCT).

Staphylococcus aureus en el queso de Poro Balancán, México

José Ulises González-de La Cruz¹, Temani Durán-Mendoza¹, Diana Yamily Escalante-Réndiz², María Concepción De La Cruz-Leyva¹. ⁽¹⁾ Ing. en Alimentos, División Académica Multidisciplinaria de Los Ríos, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Tenosique, Tabasco, MX. ⁽²⁾ Biotecnología, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatan, Mérida, MX.

El queso de Poro Balancán es originario de Emiliano Zapata, Balancán y Tenosique Tabasco, México. Se elabora de forma artesanal y es un queso fresco ligeramente acidificado, debido a un breve periodo de maduración (tres a nueve días). Presenta espacios llamados ojos o poros a causa de la liberación de ácido propiónico, ácido acético, diacetilo, CO₂, entre otros; estos compuestos son los responsables del aroma y sabor. Es un queso muy consumido a pesar de ser elaborado con leche sin pasteurizar; citan que el tratamiento degrada las características organolépticas del queso artesanal, por lo cual, el objetivo de este trabajo fue valorar la presencia de microorganismos patógenos en el queso de Poro Balancán, utilizando el BAX[®] System Real-Time PCR. Durante la temporada de seca (abril-mayo, 2015) se colectaron 16 muestras de queso (n=3), elaborados en queserías de la región de los Ríos, Tabasco. Las muestras fueron identificadas mediante códigos: MQ1, MQ2, MQ3 hasta MQ16. La detección de Salmonella sp, Staphylococcus aureus y Listeria monocytogenesse llevó a cabo por sistema Bax[®] Dupont, siguiendo las recomendaciones del Manual del Sistema BAX Q7 (OXOID). En el 100 % de las muestras analizadas fueron negativas a presencia de Salmonella sp y L. monocytogenes. La detección de S. aureus fue positiva en un rango de 100 a 180±72(UFC/g); donde las muestras MQ7, MQ12, MQ13 y MQ16 fueron las menos contaminadas (100±00 UFC/g) y MQ9 fue la más contaminada (160±103 UFC/g). No obstante, estos valores estuvieron por debajo del límite máximo permitido por la NOM-243-SSA1-2010 (1,000 UFC/g). La presencia de S. aureus puede evidenciar fallas en la manipulación e higiene posterior a la elaboración del producto. Aunque la acidez del queso inhibe en gran medida la proliferación de flora microbiana patógena, es necesario la pasteurización de la leche para eliminar el total de estos microorganismos contaminantes. Además, es recomendable que en la elaboración de quesos artesanales se implemente las buenas prácticas de manipulación de alimentos, así como socializar a los productores sobre la importancia de la pasteurización de la leche para asegurar la calidad microbiológica del queso de Poro de Balancán.

JU351

Caracterización genotípica y fenotípica de cepas colicinogénicas de *Escherichia coli*

Mauro Daniel García¹, Nora Lía Padola¹, María Julia Ruiz¹, Inés Analia Etcheverría¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), CONICET-CICPBA, Facultad de Cs Veterinarias, UNCPBA, Tandil, AR.

Escherichia coli forma parte de la biota normal del tracto intestinal en animales y humanos. Aunque algunas cepas producen enfermedades severas como colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico; otras sintetizan péptidos antimicrobianos llamados colicinas. Estas, son capaces de inhibir el crecimiento de cepas relacionadas filogenéticamente con ellas, codificadas por plásmidos denominados pCol, se clasifican en tres grupos en función de su tamaño: colicinas (25-80 KDa); microcinas (<10 KDa) y colicinas tipo fago. En el presente trabajo se realizó la caracterización fenotípica y genotípica de cepas colicinogénicas aisladas de muestras de colon bovino con capacidad inhibitoria sobre *E. coli* O157:H7. Se realizó la extracción de ADN plasmídico con un kit comercial (Inbio-Highway[®]) y fue revelados en geles de agarosa al 1% teñidos con Bromuro de Etidio. Se obtuvieron dos perfiles distintos de plásmidos compartidos por las cepas en estudio. Se caracterizó fenotípicamente la producción de las colicinas mediante cultivo en medio Luria Bertani (LB) inoculado con 105 UFC/ml con cada una de las cepas en estudio, se incubó a 37°C en agitación y se tomaron alícuotas de 1,5 ml cada hora, se centrifugaron en dos instancias (a 3500 rpm y a 12000 rpm), se recolectó el sobrenadante y se filtró con filtros millipore de 0,20 µm. De esta forma se obtuvo el sobrenadante libre de células (SLC). Se probó su actividad inhibitoria realizando ensayos de inhibición en placa, sembrando 5 µl del SLC en placas de agar LB y vertiendo sobre ellas 5 ml de LB agar al 0,7% conteniendo 105 UFC/ml de una cepa O157:H7. Se observó que en dos de las cepas colicinogénicas, la inhibición se produjo en el tiempo correspondiente a la fase estacionaria, mientras que, en otra de ellas, la inhibición se produjo en la fase exponencial. Estos resultados deben tenerse en cuenta para el potencial uso de bacterias colicinogénicas o de sus colicinas, como agentes de control biológico contra cepas patógenas de *E. coli*.

Development and estimation of diagnostic accuracy of a real-time Multiplex RT-PCR assay for the detection of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome and Influenza virus in swine

Paulina Parra-Castro¹, Rodrigo Tapia², Marco Saavedra¹, Montserrat Torremorell³, Victor Neira², Rafael A Medina^{1,4,5}. ⁽¹⁾ Laboratory of Molecular Virology, Department of Pediatric Infectious Diseases and Immunology, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Facultad de Veterinaria, Universidad de Chile, Santiago, CL, Santiago, CL. ⁽³⁾ College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, St. Paul, USA, St. Paul, US. ⁽⁴⁾ Department of Microbiology, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, USA, New York, US. ⁽⁵⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL, Santiago, CL.

The porcine respiratory disease complex (PRDC) is a multifactorial disease characterized by respiratory syndrome and poor growth in fattening swine, which has a negative impact on the swine industry. It has been reported that infections or coinfections with the virus of the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRSV) and Influenza A virus (IAV) play an important role in the development of PRDC. Despite the relevance of PRRS and IAV in the disease, there are no commercial kits that allow the simultaneous detection of both pathogens. Here, we developed a Multiplex real-time RT-PCR assay by designing primers and probes for the simultaneous detection of PRRSV and IAV in swine samples. This Multiplex assay demonstrated a high analytical specificity and sensitivity in the diagnosis of these viruses, detecting 10 - 100 plaque forming units/ml (PFU/ml) of IAV and 1 PFU/ml of PRRSV. To validate the assay with clinical samples, the assay was performed using 803 swine field samples obtained from different farms of Chile. Of the clinical samples, 680 were used to form a 2x2 table to compare the results with a gold standard test used to detect IAV and estimated its diagnostic accuracy. The diagnostic sensitivity was 70.59% (CI 59.02 - 82.15%); whereas the diagnostic specificity was 94.12% (CI 92.17- 96.06%), which validated the discriminative property of the test. The Youden's index, which was 0.65 (CI 0.54 - 0.76), with positive and negative predicted values of 57.14% (CI 45.96 - 68.32%) and 96.64% (CI 95.11 - 98.17%), respectively, indicating a robust performance of the assay. This was confirmed when we analyzed the likelihood ratios, which resulted in an LR+ of 12.00 (CI 8.44 - 17.06) and an LR- of 0.31 (CI 0.22 - 0.45), demonstrating the test's strong predictive capacity. The Multiplex assay developed detects simultaneously both pathogens in clinical samples, and was validated to have a high capacity to make an accurate diagnosis when it gives a positive IAV result. This study confirms the clinical value of having an assay that provides a differential and timely diagnosis of two relevant pathogens for the porcine industry in Chile.

Acknowledgments: CEIRS program HHSN266200700010C, HHSN272201400008C from NIH-NIAID, FONDEF IDeA Grant ID14I10201 and Proyecto ANILLO de Investigación en Ciencia y Tecnología - PIA ACT1408, both from CONICYT Chile.

JU353

Transcriptional differences of T3SS1 between strains of *V. parahaemolyticus* that differ significantly in their cytotoxic capacity

Nicolás Plaza¹, Diliana Pérez-Reytor¹, Carlos J Blondel¹, Sebastián Ramírez-Araya², Víctor Jaña³, Katherine Garcia¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigación Biomédica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás, Santiago, CL. ⁽³⁾ Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Universidad de las Américas, Santiago, CL.

The Type III Secretion System 1 (T3SS1) correspond to one of the major virulence factors that contribute to host cell death by *Vibrio parahaemolyticus*. T3SS1 gene expression is controlled by the master regulator ExsA, whose expression is itself regulated by the DNA-binding HlyU and H-NS to its promoter. Analysis of the cytotoxicity (assessed by LDH release) of a set of environmental strains isolated in Southern Chile (Puerto Montt) against Caco-2 cells led to the identification of a non-cytotoxic isolate (PMA11.14). In this work, we further characterized strain PMA11.14 in order to determine the genetic basis of this differential cytotoxicity. Whole genome sequencing analysis showed that the overall genetic structure of the T3SS1 gene cluster was not different from the cytotoxic pandemic strain (RIMD2210633) suggesting that the differences in cytotoxicity were not due to mutations in the ORFs encoding essential T3SS1 components. To test if differences in T3SS1 gene expression could be responsible for the differences in cytotoxicity, we performed RNASeq gene expression analysis of PMA11.14 during infection of Caco-2 cells. Cells were infected with either the RIMD2210633 pandemic strain or PMA11.14 at an MOI of 10 and 3 hours post-infection total RNA was obtained for subsequent sequencing through the Illumina platform. The transcriptomic analysis was carried out using the BWA aligner together with the HTSeq-count read counter and with the subsequent differential expression analysis by DESeq2. As expected, the analysis showed that there was an overexpression of 24 genes from the T3SS1 gene cluster of strain RIMD2210633, including ExsA (2.68 log₂foldchange). Notably, no such change was observed in strain PMA11.14 suggesting that its cytotoxicity defect is due to a defect on *exsA* expression. In addition, none of the regulatory genes, *hlyU* and *h-ns*, was found differentially expressed but sequence analysis identified a mutation within the 56 bp of the binding region of HlyU. We are currently testing if this SNP, in the regulatory region of the master regulator ExsA, is responsible for the differences in T3SS1 gene expression and if this is a widespread phenomenon among environmental *V. parahaemolyticus* strains from Chile.

FONDECYT 11140257, 11160901 and REDI170269

JU354

Rol de la proteína de unión a N-acetilglucosamina en *Vibrio parahaemolyticus*

Sebastián Ramírez¹, Diliانا Pérez-Reytor², Nicolás Plaza², Víctor Jaña³, Roberto Bastías⁴, Marcela León⁴, Katherine García². ⁽¹⁾ Ciencias Básicas, Ciencias, Universidad Santo Tomás, Santiago, CL. ⁽²⁾ Centro de Investigación Biomédica, Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL. ⁽³⁾ Medicina Veterinaria y Agronomía, Universidad de Las Américas, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL.

La unión de la bacteria a la célula es el paso inicial para que los enteropatógenos establezcan la infección en el hospedero. En diversas especies de *Vibrio* el gen *gbpA* codifica para una proteína de unión a N-acetilglucosamina (GbpA), una adhesina que es un reconocido factor de virulencia en *V. cholerae* y cumple un papel crucial en la colonización del epitelio intestinal humano durante las etapas iniciales de la infección. Para dilucidar el rol que cumpliría esta adhesina en *V. parahaemolyticus* se mutó el gen *gbpA* por delección del ORF codificante en la cepa pandémica de *V. parahaemolyticus* RIMD2210633 mediante el uso de un vector suicida y transconjugación con la cepa de *Escherichia coli* S17-1 λ pir, tra conteniendo el plásmido pDM4 Δ gbpA. Posteriormente se realizaron ensayos de adhesión a mucina en placas de agar-mucina y de formación de biopelículas en placas de poliestireno, además de pruebas de liberación de lactato deshidrogenasa, para evaluar citotoxicidad en cultivos de células HT29, comparando la capacidad de la cepa mutante Vp Δ gbpA1.3 y la cepa salvaje en cada uno de estos procesos. Se observó que la cepa mutante redujo en un 49% la capacidad de unión a mucina. Sin embargo, a pesar de mostrar una tendencia hacia producir menor citotoxicidad en cultivo celular (reducción de 15%) ésta no fue estadísticamente significativa. De igual forma, no hubo diferencias en la capacidad de formación de biopelículas a 37°C. En conclusión, la ausencia del gen *gbpA* en *V. parahaemolyticus* produce una disminución significativa en la capacidad de adhesión, lo cual es fundamental para la entrega de toxinas hacia el interior de la célula. En consecuencia, nuestros resultados sugieren preliminarmente que GbpA podría tener un impacto en la virulencia de esta bacteria, tal como se ha descrito en *V. vulnificus* y *V. cholerae*.

FONDECYT 11140257

JU355

Acompanhamento da invasão tecidual e sinais patológicos externos de *Vibrio parahaemolyticus* em camarão *Litopenaeus vannamei*

Rebouças Rosa Helena¹, Carvalho Fatima FT², Menezes Francisca Gleire Rodrigues³, Abreu Jade Oliveira², Vieira Regine Helena Silva Dos³, Sousa Oscarina Viana De². ⁽¹⁾ Ciências do Mar, Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, BR. ⁽²⁾ Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, BR. ⁽³⁾ Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, BR.

Para o estabelecimento de um sistema de produção de organismos aquáticos mais sustentável é imprescindível a compreensão das rotas de invasão de patógenos e respostas imunes dos animais cultivados. Essa abordagem passa pela compreensão da microbiota e suas inter-relações com os animais e ambiente. Entre os patógenos bacterianos, os vibrios são destaque incluindo a mais recente estirpe de *Vibrio parahaemolyticus* que carrega o plasmídeo de patogenicidade sendo responsável por perdas significativas em países produtores. Nosso objetivo foi monitorar o surgimento de sinais patológicos externos em animais infectados com uma cepa ambiental de *V. parahaemolyticus* fazendo um acompanhamento quantitativo de *Vibrio* spp. na hemolinfa, hepatopâncreas e intestino médio de camarões juvenis *Litopenaeus vannamei*. Foi realizado bioensaio com 20 espécimes expostos a um inóculo de *V. parahaemolyticus* (107UFC/mL), por imersão. A avaliação dos animais para os sinais clínicos externos e coletas dos animais para dissecação ocorreram nos tempos 0, 24, 48 e 72h. O controle negativo caracterizou-se pela análise dos animais sem exposição ao patógeno. Os animais expostos a bactéria apresentaram sinais de letargia após as 24h. Contagens de *Vibrio* spp. foram detectadas a partir do instante $t = 0h$ no hepatopâncreas e intestino dos animais oriundos dos tanques controle e experimental. A presença do *Vibrio* spp. parece ser diferenciada entre os órgãos sendo persistente no hepatopâncreas e apresentando redução no intestino, evidenciando atuação do sistema imunológico no combate ao patógeno. O surgimento dos sinais patológicos após as 24h e a persistência da infecção após as 48h apontam para um sistema patológico duradouro e um reduzido potencial do hospedeiro para se recuperar após a eliminação do patógeno.

JU356

Detección de *Piscirickettsia salmonis* en el ectoparásito de salmónidos, *Caligus rogercresseyi*

Claudia Rioseco¹, Esteban Arenillas¹, Jonathan Morales¹, Julio Cartagena¹, Eugenio Spencer^{1,2}, Deborah Vargas¹.

⁽¹⁾ Consorcio Tecnológico de Sanidad Acuícola ICTIO Biotechnologies S.A. Centro de Biotecnología Acuícola (CBA), Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratorio de Virología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL.

El exitoso desarrollo de la industria salmonicultora en Chile se debe al cultivo intensivo de las especies de salmónidos, lo que incrementa el riesgo de contagio de enfermedades provocadas por patógenos. Actualmente, la industria salmonera se ha visto afectada por dos importantes patógenos: el ectoparásito *Caligus rogercresseyi* y la bacteria *Piscirickettsia salmonis*, los cuales, tan solo el año 2015, ocasionaron la pérdida de US \$1.000 millones. *C. rogercresseyi* se alimenta del mucus y la piel del pez, generando lesiones, estrés e inmunosupresión, lo que vuelve vulnerable al pez a contraer infecciones secundarias. Recientes estudios de co-infección en salmónidos mostraron que *C. rogercresseyi* puede anular los efectos protectores de una vacuna contra *P. salmonis*, bacteria que produce el Síndrome Rickettsial del Salmón (SRS), y, por otra parte, se ha demostrado que este parásito es vector del virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAv). En base a estos antecedentes, en este trabajo se realizaron experimentos para demostrar que *C. rogercresseyi* puede portar *P. salmonis*. Para esto se realizó qPCR, usando partidores específicos para el gen rRNA 16S de *P. salmonis*, a partir de ADN genómico extraído de *C. rogercresseyi* adultos, recolectados desde salmónidos en cultivo en la zona sur de Chile. Se logró detectar la presencia de *P. salmonis* en dos grupos de *C. rogercresseyi* provenientes de Hornopiren y Chinquihue. La bacteria fue aislada desde macerados de *C. rogercresseyi* y para su identificación los productos de PCR fueron secuenciados, resultando alrededor de un 94% de identidad con la cepa LF89 de *P. salmonis*. Además, mediante inmunofluorescencia en cortes histológicos del parásito, usando un anticuerpo específico contra *P. salmonis*, se observó la presencia de la bacteria al interior de *C. rogercresseyi*. Nuestros resultados muestran que *C. rogercresseyi* es portador de *P. salmonis* y sugieren que este ectoparásito podría ser vector en la transmisión del Síndrome Rickettsial del Salmón (SRS).

Proyecto CORFO 13CTI-21527

JU357

In vitro and in vivo activity of hydrolyzed *Saccharomyces cerevisiae* against goat nematodes

Silva Naylene CS¹, Lima Aldilene S¹, Silva Carolina R¹, Brito Danilo RB², Cutrim Junior Jose Antonio A², Costa-Junior Livio M¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Parasitologia Animal, Universidade Federal do Maranhão - UFMA, São Luís, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Sanidade Animal, Campus Maracana, Instituto Federal do Maranhão, São Luis, BR.

Haemonchus contortus is the most prevalent nematode in tropical and subtropical regions and is responsible for significant losses in small ruminant production systems. Control of this parasite is based on the use of synthetic anthelmintics; although effective, prolonged and indiscriminate use can select for populations of resistant nematodes. Hydrolyzed yeast can help prevent populations of nematodes and is low in cost. The present study aimed to evaluate the preventive effect of hydrolyzed yeast on *H. contortus* through in vitro and in vivo assays. In in vitro experiments, the yeast preparation was tested at different stages of the *H. contortus* life cycle via tests of egg hatchability, larval development, larval exsheathment and larval migration. Both eggs and L3 larvae were obtained from sheep artificially infected with a monospecific strain of *H. contortus*. In in vivo experiments, animals were treated with hydrolyzed yeast (53.4 mg/kg/BW), and fecal egg counts (FECs), feces culture and Famacha were performed. The yeast preparation inhibited larval exsheathment in a dose-dependent manner (IC₉₅ of 0.46 mg/mL), though no activity at the other stages of the *H. contortus* life cycle was observed. The hydrolyzed yeast preparation was able to reduce FECs in treated animals from D40 to D54 ($p < 0.05$), showing an average efficiency of 60%. The yeast exhibited preventive properties, and the IC₉₅ value suggests that *H. contortus* is highly susceptible. Our results indicate that administration of hydrolyzed yeast, which is already used commercially in ruminant nutrition, is an alternative method for the control of nematodes, mainly *H. contortus*.

This research was financially supported through grants from FAPEMA (Maranhão State Research Foundation, Brazil) and CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel, Brazil)

Mudanças na comunidade microbiana ruminal complementada com destilado de óleo de palma

Giovanni Rodrigues¹, Graças Diego A², Eziquiel Morais³, Lima Alyne S⁴, Souza Shirley M⁵, Silva Artur C⁴, Silva André G⁵.

⁽¹⁾ Instituto de Ciências Biológicas, Faculdade de Biotecnologia, Universidade Federal do Pará. ⁽²⁾ Centro de Genômica e Biologia de Sistemas, Faculdade de Biotecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, BR. ⁽³⁾ IFPA, Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Pará, Castanhal, BR. ⁽⁴⁾ Centro de Genômica e Biologia de Sistemas, Universidade Federal do Pará, Belém, BR. ⁽⁵⁾ Instituto de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará, Castanhal, BR.

O processo digestivo de fermentação entérica de ruminantes é conhecido como importante fonte de emissão de metano (CH₄), sendo que essa emissão também resulta em uma perda considerável de energia na alimentação. A suplementação lipídica atua negativamente sobre a metanogênese, devido à redução populacional de micro-organismos, e aumento no consumo de H₂ pelo processo de biohidrogenação. O óleo de palma possui cerca de 44% de cadeias saturadas, agindo como agente mitigador de metano sem prejuízo ao rúmen. Este trabalho objetivou avaliar o uso de óleo de palma destilado (DDOP) sobre a diversidade de microrganismos no rúmen. Os tratamentos foram realizados em 5 grupos de DDOP em percentuais de 0; 2,5; 5; 7 e 10% na alimentação de ovelhas fistuladas (4 por grupo). A determinação da comunidade microbiana total foi realizada em amostras de líquido ruminal coletado três horas após a alimentação dos animais, mantidas em solução RNA holder, e congeladas até as análises. Estas foram centrifugadas e o DNA foi extraído do pellet usando um kit comercial. Posteriormente, foi eluído em água para utilização como molde para amplificação do gene 16S de arqueias e bactérias, usando os primers 515F e 806R, com inserção de barcodes para diferenciação. As amostras foram sequenciadas em Ion PGM, e os dados processados usando os programas QIIME e USEARCH, com remoção de leituras de baixa qualidade e inferiores à 200pb. Posteriormente, demultiplexadas de acordo com o código de barras para agrupamento de OTUs. Análises dos índices de diversidade alfa e beta foram calculadas com QIIME. A diversidade observada das amostras teve baixa variação, tendo a mais rica no grupo sem suplementação (1,578) e a menos rica no grupo com maior teor lipídico (1,271). Na análise taxonômica, observamos que os filos mais abundantes foram Firmicutes e Bacteroidetes, representando 66% do total das leituras, sendo 90% das leituras que puderam ser classificadas. As ordens abundantes foram Bacteroidales e Clostridiales, relacionadas ao processo de biohidrogenação de compostos insaturados oriundos da dieta. A ordem Methanobacteriales foi a única representante das metanogênicas. Concluímos que a diversidade microbiana é pouco modificada no rúmen com suplementação do óleo, tendo apenas breve redução da mesma.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPQ

Identificación microbiológica y molecular de *Mycobacterium bovis* en biopsias de bovinos tuberculina positiva

Johana Rueda Florez¹, Catalina Muñoz Vahos¹, Gloria Isabel Mejía Mesa¹, Luz Elena Botero Palacio^{2,3}, Martha Leticia Silva Pérez⁴, Héctor León Porras Restrepo⁵, Jaime Robledo Restrepo². ⁽¹⁾ Antioquia, Bacteriología y Micobacterias, Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, CO. ⁽²⁾ Antioquia, Bacteriología y Micobacterias - Ciencias de la Salud, Corporación para Investigaciones Biológicas - Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, CO. ⁽³⁾ Antioquia, Ciencias de la Salud, Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, CO. ⁽⁴⁾ Antioquia, Programa de Tuberculosis y Brucelosis, Instituto Colombiano Agropecuario, Medellín, CO. ⁽⁵⁾ Antioquia, Dirección de Operaciones Sanitarias, Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, Medellín, CO.

Introducción: La tuberculosis bovina, es una de las enfermedades más importantes que afecta al ganado. Además, tiene importantes repercusiones económicas y constituye un problema de salud pública cuando se transmite a los humanos. **Objetivo:** Identificar a través de pruebas microbiológicas y moleculares la presencia de *Mycobacterium bovis* en biopsias de bovinos tuberculina positiva. **Métodos:** Se seleccionó un hato lechero del departamento de Antioquia, Colombia considerado en saneamiento por el Programa del Instituto Colombiano Agropecuario: “Hatos Libres de Tuberculosis Bovina”. En una planta de beneficio se obtuvieron, biopsias de ganglios linfáticos de bovinos tuberculina positiva, y se determinó la presencia de *Mycobacterium bovis*, mediante análisis histopatológico, prueba molecular rápida Xpert MTB/RIF[®], baciloscopia (Auramina Rodamina) y cultivo líquido BACTEC MGIT 960; los cultivos positivos se subcultivaron en agar capa delgada Middlebrook 7H11 y se les realizó pruebas de identificación. **Resultados:** De un hato de 53 bovinos, 34 reaccionaron a la prueba de la tuberculina y fueron sacrificados. En el estudio histopatológico de los linfonodos se encontraron lesiones típicas de un proceso inflamatorio crónico de tipo granulomatoso en el 79% de los animales analizados con evidencia de bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) en el 15% por la coloración de Ziehl-Neelsen. La prueba Xpert MTB/RIF[®] detectó micobacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis* en el 91% de los bovinos estudiados, por la coloración de Auramina Rodamina se evidenció la presencia de BAAR en el 41% de las biopsias evaluadas. El aislamiento e identificación de *Mycobacterium bovis* a partir del cultivo se logró en el 44% de los animales; el 32% de los cultivos se contaminaron, impidiendo recuperar los bacilos. **Conclusión:** Se demostró la presencia de *Mycobacterium bovis* a través de métodos microbiológicos en biopsias de bovinos tuberculina positiva. Los resultados obtenidos sugieren la necesidad de reforzar los Programas de Tuberculosis a nivel nacional con el propósito de incrementar el control de la enfermedad durante la inspección del ganado en plantas de beneficio. Asimismo, se destaca la importancia de incorporar en forma complementaria métodos histopatológicos y moleculares, para incrementar la detección e identificación de bacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis* en el diagnóstico post mortem de la enfermedad.

El Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación (Colciencias), Código 221374456133



JU360

Analysis of miRNA expression in plasma during a *Piscirickettsia Salmonis* infection

Carolina Salazar¹, Fernando Gómez¹, Sergio Marshall¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genética e Inmunología molecular, Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL.

miRNAs are small non-coding RNA which play key roles in pre and post-transcriptional cell regulation processes in most living cells, including the modulation of host- pathogen interactions. miRNAs have been found in different body fluids, like plasma, serum, urine and others, and their expression pattern can be altered in a variety of pathophysiological conditions, like viral and bacterial infection. *Piscirickettsia salmonis* is a facultative intracellular bacterial pathogen, etiological agent of Piscirickettsiosis, an infectious disease that challenges the sustainability of the salmon production in Chile. The diseases produce economic loses around US\$700-800 millions per year, all salmonids species cultivated in Chile (Coho salmon, Atlantic salmon and rainbow trout). The bacteria is characterized as non-motile, non encapsulated, pleomorphic but generally coccoid with a variable size between 0.5 and 1.5 μm in diameter, and is able to survive and grow inside fish macrophages. Taxonomically, *P. salmonis* has been placed within the group Gamma-proteobacteria and is one of the few species belonging to the family Piscirickettsiaceae. In the present work, we studied the expression pattern of miRNA on plasma samples during a *P. salmonis* infection on *S. salar* fishes. Briefly, fishes were intraperitoneally infected with *P. salmonis*, and at 7 days post-infection plasma samples were obtained from a duplicate of infected fishes and controls, after small RNA extraction then small-RNA Seq was performed. The obtained data was analyzed using bioinformatic tools aiming to identify different expression of miRNA in plasma between control versus infected samples. An in silico analysis of expression was performed and showed that at least ten miRNAs are differentially expressed on infected plasma samples, eight of them (*ssa-let-7f*, *ssa-let-7g*, *ssa-let-7h*, *ssa-miR-128*, *ssa-miR-92a*, *ssa-miR-188*, *ssa-miR-196a* and *ssa-miR-196b*) show a decrease their expression and two (*ssa-miR-103* and *ssa-miR101a*) show an increase of expression. As conclusion *S. salar* present miRNA on plasma and their pattern of expression can change by a bacterial infection.

FIE-2015-V014. "Estudio integral de las bases biológicas y moleculares del ciclo de vida de *Piscirickettsia salmonis* en el contexto de una aproximación epidemiológica para desarrollar estrategias que permitan su control" (Nº201708070182)

JU361

Biofilm formation by *Piscirickettsia salmonis* isolates under different culture conditions

Natacha Santibáñez^{1,2}, Johana Spies^{1,4}, Matías Vega¹, T Perez^{1,2}, Ricardo Enríquez¹, Roxana González-Stegmaier^{1,2,3}, Jaime Figueroa², Alejandro Yañez², A Romero^{1,2}. ⁽¹⁾ Instituto de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral De Chile, Valdivia, CL. ⁽²⁾ Interdisciplinary Center for Aquaculture Research, INCAR. ⁽³⁾ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽⁴⁾ Instituto de Ciencias Marinas y Limnológicas, Facultad de Ciencias, Universidad Austral De Chile, Valdivia, CL.

Piscirickettsia salmonis is the etiological agent of Piscirickettsiosis, a severe disease that has caused major economic losses in Chilean salmon farm since its appearance in 1989. This pathogen is Gram negative, facultative intracellular, non-capsulated, non-motile, and pleomorphic. *P. salmonis* produce biofilm, related with persistence and survival strategies. However, characterization of culture conditions inducing the biofilm production in this pathogen has not yet been describe. The aim of this study is identify the culture conditions needed for induction of biofilm formation in *P. salmonis* isolates belonging to genogroups LF and EM. The bacterium was grown under different culture conditions of sodium chloride (0.1, 7.1, 24.6 and 32.1 g/L), ferric citrate (0.01, 0.08 and 0.16 mM) and pH (4.80, 7.02 and 8.40) for twelve days. Planktonic growth was measure by determining optical density at 620 nm at 2, 4, 8 and 12 days and biofilm formation was quantified using the crystal violet assay and measured at 595 nm. Additionally, at day 8 the bacteria were classified as weak, moderate or strong biofilm producer, using the Stepanovic scale. It was observed that LF-89 strain was a moderate biofilm producer in medium with 0.16 mM ferric citrate and was strong producer when grown at 24.6 g/L (estuary-like) and 32.1 g/L (seawater-like) NaCl. The IBM-004 (EM) isolate was classified strong for all the studied media, except at 0.1 g/L NaCl and pH 8.4, where behave as weak biofilm producer. AUS-111 (EM) isolate was moderate biofilm producer when grown in the medium containing 24.6 g/L NaCl. These findings showed that all the bacteria evaluated were able to produce biofilm in vitro, which was depending on the isolates and the medium conditions used to grow them.

Supported by FONDECYT 1171357, FONDAP 15110027

JU362

Mycoplasma hyopneumoniae isolation of samples from slaughterhouse

Gonzaga Natália Fialho, Souza Luiz Fernando Lino², Deeney Alannah S¹, Souza Thiago Augusto Teles², Assao Viviane Ssisdelli², Fajardo Murilo LM², Rycroft Andrew N1, Moreira Maria Aparecida S², **Abelardo Silva-Junior**^{2,(1)} Department of Pathology & Pathogen Biology, Royal Veterinary College, University of London, North Mymms, GB. ⁽²⁾ Department of Veterinary, Vet School, Federal University of Vicosa, Vicosa, BR.

Mycoplasma hyopneumoniae (Mhyo) causes enzootic pneumonia (EP) in pigs. The infection cause severe respiratory disease in pig's production. Bacteriological culture have been considered the gold standard to diagnostic technique. Another them, it is not used in routine because Mhyo culture is laborious. However, the bacteria isolation to genomic analysis have a significant importance for a better understanding of the field strains and for further approaches to control and treatment. This work aimed Mhyoisolation from lung samples from slaughterhouse in Zona da Mata de Minas Gerais, Brazil. Swine lung samples (30) with lung lesions suggestive of EP were collected in slaughterhouse. Samples were processed and homogenized with beads. After then, was added in modified Friis culture medium. Bacterial growth was observed by color change of the medium (red to yellow). After this step, the samples were added in four dilutions on solid medium with noble agar. The bacterial growth in plates were daily observed using stereoscope. The isolate colonies were added again in liquid medium to DNA extraction. Mhyo identification PCR was performed of 23 samples. 95.7% samples were PCR positive to Mhyo identification. Partial sequencing of 13 positive samples were performed. The isolates showed 100% of homology with different Mhyo strains from GenBank. Positive samples were tested for 13 genes that encoding proteins involved with the mechanism of pathogenesis. Our results showed the isolates have differences in the gene frequency. Bioinformatics analyzes were performed using BioNumerics Program 6.6. A dendogram was created and the samples were arranged in 4 clusters, suggesting genetic variability in Mhyo field samples. Our results showed an efficient method to isolation of field Mhyo strains. Also, the field Mhyo strains have a variability of genes related to Mhyo pathogenesis.

CNPq, CAPES and FAPEMIG.

JU363

Avaliação de estirpes bacterianas e construção de consórcios probióticos para uso em carcinicultura marinha

Torres Marina Tereza², Abreu Jade O², Martins Sandra R², Silva Francisco Sylvanio F², Carvalho Fátima Cristiane T¹, Vieira Regine H¹, **Sousa Oscarina V²**. ⁽¹⁾ Engenharia de Pesca, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Pesca, Federal University of Ceara, Fortaleza, BR. ⁽²⁾ Instituto de Ciências do Mar, Labomar, Federal University of Ceara, Fortaleza, BR.

Uma das alternativas para uma aquicultura econômica e ambientalmente sustentável é o uso de probióticos que protegem a saúde dos organismos de criação contra patógenos e podem impactar positivamente no crescimento, status nutricional e qualidade do ambiente. A utilização e isolamento de bactérias do trato intestinal de organismos aquáticos constitui o primeiro passo para obter, com êxito, um produto biotecnológico eficiente. O objetivo deste trabalho foi avaliar estirpes bacterianas quanto ao potencial probiótico para uso em cultivos de camarão. As bactérias foram isoladas do intestino médio de camarões marinhos (*Litopenaeus vannamei*) juvenis cultivados. Cento e noventa e uma (191) estirpes foram avaliadas baseado em testes fenotípicos e genotípicos incluindo: fatores de virulência (elastase, gelatinase, caseinase, lipase e fosfolipase), tolerância a diferentes temperaturas (4°C e 40°C) e pHs (5 e 9), teste de susceptibilidade antimicrobiana, testes de agregação, testes de antagonismo. A identificação das estirpes foi feita por sequenciamento do gene 16S rRNA. A maioria das estirpes identificadas foi agrupada em três gêneros principais: *Bacillus*, *Vibrios*, *Staphylococcus* e um grupo com representantes de diferentes gêneros bacterianos. Foram formados três grupos bacterianos prioritários segundo resposta frente aos fatores de virulência, teste de agregação, crescimento a diferentes temperaturas e pHs. A maioria das estirpes (66,45%) apresentou resistência frente à oxitetraciclina. Todas as estirpes apresentaram susceptibilidade frente ao cloranfenicol e tetraciclina. Nenhuma estirpe apresentou efeito antagônico frente ao *Vibrio parahaemolyticus*. Das 70 estirpes bacterianas que formaram parte dos três grupos prioritários, 16 estirpes (22,85%) resultaram antagônicas frente ao *Vibrio harveyi*. Doze estirpes bacterianas mostraram interrelações positivas entre elas. Na etapa de construção dos consórcios foram avaliadas as respostas nos testes fenotípicos que indicavam marcos característicos de ação benéfica para os animais aquáticos cultivados. Foram formados três consórcios bacterianos capazes de colonizar o trato intestinal dos camarões e manter interrelações positivas para a melhoria da resposta imunológica e parâmetros zootécnicos dos animais aquáticos cultivados. É importante o estabelecimento de um protocolo para seleção de bactérias com finalidade de uso como probióticos em organismos aquáticos cultivados principalmente considerando o desempenho dessas bactérias como colonizadores do trato intestinal dos animais alvo, o que determina sua eficiência.

Integral Mix/ Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Correlação do perfil genotípico de *Mycoplasma pulmonis* isolados de ratos de biotérios do Estado do Rio de Janeiro com as lesões microscópicas de pulmão

Souza Jenif Braga¹, Alvez Ana Beatriz Pinheiro², Barbosa André Victor³, Nascimento Elmiro Rosendo², Demarque Kelly Cristina⁴, Cerqueira Aloysio Mello F⁵, Vericimo Mauricio Afonso⁶, Barreto Maria Lúcia⁷. ⁽¹⁾ RJ, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública, Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niteroi, BR. ⁽³⁾ Microbiologia, Universidade Federal Fluminense, Niteroi, BR. ⁽⁴⁾ Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, BR. ⁽⁵⁾ Microbiologia, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense, Niteroi, BR. ⁽⁶⁾ Imunobiologia, Universidade Federal Fluminense, Niteroi, BR. ⁽⁷⁾ Núcleo de Animais de Laboratório, Universidade Federal Fluminense, Niteroi, BR.

O *Mycoplasma pulmonis* é o agente da micoplasmose respiratória murina (MRM) e causa problemas respiratórios e reprodutivos graves em roedores de laboratório, comprometendo a criação e interferindo nos resultados experimentais. O controle desse microrganismo ainda é difícil, sendo necessário, o emprego de técnicas moleculares para o monitoramento desse agente. Para estabelecer novas estratégias de controle é necessário conhecer o perfil genômico e antigênico das cepas de *M. pulmonis* circulantes, nas áreas de criação e experimentação em nosso País. O objetivo deste estudo foi correlacionar os genótipos das cepas de *M. pulmonis*, isoladas em ratos de biotérios do Rio de Janeiro, com as lesões microscópicas verificadas nesses animais. Dezoito cepas de *M. pulmonis* isoladas de ratos foram submetidas à digestão enzimática com a enzima Sall e a PFGE para avaliação das diferenças genotípicas. Os genótipos verificados foram correlacionados com as lesões microscópicas observadas no pulmão dos animais, classificadas quanto a intensidade do infiltrado inflamatório peribronquial e infiltrado inflamatório peri vascular em grau 1, 2 e 3. A PFGE realizada nas cepas de *M. pulmonis* gerou dois grupos genotípicos não relacionados, A e B. As lesões microscópicas foram frequentemente relacionadas aos graus 2 e 3 em ambos os grupos genotípicos. Também foram observados espessamento de septo alveolar, congestão pulmonar, edema pulmonar, edema perivascular, exudato bronquiolar, bronquiectasia e consolidação do parênquima pulmonar, lesões somente encontradas nos ratos com isolados pertencentes ao grupo B. Com os dados obtidos neste estudo concluímos que existem diferenças genotípicas entre as amostras de *M. pulmonis* isoladas de ratos obtidos em biotérios do Rio de Janeiro, e que possivelmente contribuíram para a gravidade da MRM. Acreditamos que estes resultados podem auxiliar ao maior entendimento da relação parasita hospedeiro. Até onde se conhece, este é o primeiro estudo a respeito da associação entre o genótipo de cepas de *M. pulmonis* obtidas em ratos de biotérios com lesões da MRM, uma vez que trabalhos semelhantes não foram encontrados na literatura.

Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio de Janeiro (FAPERJ)

JU365

Presencia de cepas de *Staphylococcus coagulasa* negativo resistentes a meticilina portadoras de gen *mecA* y *mecC* aisladas de muestras de equinos hospitalizados por causas distintas de infección

Paula Soza¹, Dácil Rivera¹, Rodolfo Tardone¹, Andrea Moreno-Switt¹. ⁽¹⁾ Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL.

Staphylococcus coagulasa negativo (SCoN) son un grupo de bacterias que forman parte del microbioma normal de la piel. No obstante, en medicina humana existen reportes de infecciones adquiridas en hospitales en pacientes inmunocomprometidos por causa de este microorganismo, sobre todo en aquellos asociados a prótesis. En medicina veterinaria, los equinos actúan como reservorios de *Staphylococcus aureus* y también de *Staphylococcus* CoN, lo que los hace potenciales reservorios de genes de resistencia antimicrobiana. Este estudio tuvo como objetivo identificar la presencia de *Staphylococcus* CoN resistente a meticilina (CoNRM), en equinos hospitalizados por causas distintas de infección. En una oportunidad, se muestrearon 5 pacientes de un hospital veterinario de equinos de la región metropolitana. Se tomaron muestras de ollares y axilas mediante el uso de tómulas estériles y fueron trasladadas en forma inmediata al Laboratorio de Enfermedades Transmisibles de la Facultad de Ciencias de la Vida de la Universidad Andres Bello. Una vez ahí, las muestras fueron sembradas en agar ORSA[®] (oxacilin resistance screening agar) e incubadas a 37°C durante la noche. Aquellas colonias sugerentes de ser *Staphylococcus* spp. resistente a meticilina, fueron sembradas simultáneamente en agar Baird Parker + RPF para conocer su actividad coagulasa, y agar manitol sal para ver actividad fermentadora, e incubadas a 37°C durante 48 horas. Posteriormente, las colonias sugerentes del microorganismo en estudio fueron sometidas a pruebas de PCR para *mecA* y *mecC* para constatar la presencia del gen de resistencia a meticilina. Se confirmó la presencia de *Staphylococcus* CoNRM en 2 de los 5 caballos muestreados, tanto en ollares como en axilas. Así mismo, los aislados dieron positivo a la prueba de PCR tanto para el gen *mecA* como para el gen *mecC*. Si bien los caballos en estudio se encontraban hospitalizados por causas distintas de infección, la presencia de *Staphylococcus* CoNRM debe ser un motivo de preocupación ya que podrían estar haciendo el rol de reservorio de genes de resistencia antimicrobiana para otras bacterias clínicamente significativas. Esto concierne no solo a otros pacientes, si no también a personas en contacto directo con estos caballos (veterinarios, personal de la clínica, propietarios, peticeros, etc).

FONDECYT 11140108

Proyecto Regular UNAB DI-1300-16/RG.

Detección de fenotipos de resistencia a antimicrobianos en cepas de *Salmonella enterica* aisladas desde aves silvestres de la región central de Chile

Rodolfo Tardone¹, Diego Peñaloza¹, Dacil Rivera¹, Fernando Dueñas¹, Nicole Sallaberry¹, Andrea Pincheira¹, Andrea Switt¹, Claudio Verdugo², Consuelo Foerster³. ⁽¹⁾ Ecología y Biodiversidad, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andrés Bello. ⁽²⁾ Instituto de patología animal, Facultad de ciencias veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽³⁾ Clínica zoológico, Zoológico Nacional, Santiago, CL.

La resistencia a los antimicrobianos de bacterias patógenas y comensales es un problema creciente a nivel mundial. Dentro de este grupo, *Salmonella enterica* se caracteriza por ser una de las principales causantes de enfermedad gastrointestinal. Dentro de su amplia gama de hospederos, las aves silvestres juegan un rol importante en su epidemiología, pudiendo participar en la diseminación de cepas resistentes a múltiples antimicrobianos. El objetivo de este estudio fue detectar la presencia de salmonella entérica en aves silvestres y evaluar su perfil de resistencia frente a distintos antimicrobianos. Se analizaron 392 hisopos cloacales de aves silvestres que ingresaron al Zoológico Metropolitano de Santiago (ZM), el Parque Zafarí de Rancagua, el Centro de Rehabilitación de Fauna Silvestre de la Universidad Andrés Bello (UFAS) y de aves en vida silvestre de la zona sur del país. También fueron analizadas 161 muestras de deposiciones ambientales del borde costero de Concón. El aislamiento de *Salmonella* se realizó mediante procedimientos microbiológicos convencionales. Las colonias presuntivas se confirmaron mediante PCR del gen *invA*. Para la prueba de susceptibilidad antimicrobiana, se utilizó el método de Kirby-Bauer para evaluar un panel de 15 antimicrobianos. *Salmonella* fue identificada en el 1,6% (2/124) de las aves del ZM, en el 2,1% (4/182) de las aves del UFAS y en el 3,7% (6/161) de las muestras de Concón. De las 19 cepas aisladas 3 mostraron resistencia y 16 fueron sensibles. De las 3 cepas resistentes, 2 fueron resistentes a Ampicilina, Ceftriaxona, Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Estreptomina, Gentamicina, Kanamicina, Sulfonamida / Trimetoprima, Tetraciclina y 1 mostró resistencia a Gentamicina. Nuestros resultados indican que los fenotipos de resistencia antimicrobiana en *Salmonella* están presentes en las aves silvestres de nuestro país, por lo que la posible participación en la transmisión a otras especies debe analizarse con mayor detalle. Es necesario estudiar en mayor profundidad la transmisión de *Salmonella* entre animales silvestres, domésticos y humanos para una mejor comprensión de la epidemiología de este patógeno zoonótico.

Agradecimientos proyecto FONDECYT 11140108, y Proyecto regular UNAB

Estudo da prevalência de anticorpos anti-Brucella abortus em caprinos no estado da Paraíba, Brasil

Almeida Meila Bastos De¹, Valente Jessica Damiana Marinho¹, Mongruel Anna Claudia Baumel¹, Santos Pedro Henrique Da Silva¹, Gravinatti Mara Lucia¹, Vieira Rafael Felipe Da Costa¹, Vieira Thállitha Samih Wischral Jayme¹, **Pedro Irineu Teider Junior**¹, Felipetto Laís Giuliani¹, Barros Filho Ivan Roque De¹, Biondo Alexander Welker¹. ⁽¹⁾ Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, BR.

A brucelose é uma zoonose de distribuição mundial que acomete várias espécies de animais, incluindo o homem, que se comporta como hospedeiro acidental. A doença, de caráter infeccioso, é causada pela bactéria do gênero *Brucella*, coco-bacilo gram-negativo. Dentre os gêneros de *Brucella*, quatro podem ser transmitidos para os humanos, sendo a *B. melitensis* a principal e a *B. abortus* a mais comum no Brasil. Esse gênero possui a membrana lisa, causa grandes prejuízos econômicos, sanitários e na saúde pública. Mesmo com menor prevalência quando comparada a *Brucella ovis*, alguns estudos relataram a presença de anti-*Brucella abortus* em ovinos e caprinos. Com isso, o presente estudo teve como objetivo identificar a prevalência de anticorpos anti-*Brucella abortus* no estado da Paraíba, com intuito de auxiliar os programas sanitários de controle e erradicação implementados no estado. Foram coletadas 407 amostras sorológicas de caprinos na região da Paraíba, em oito fazendas distintas. O diagnóstico sorológico para *B. abortus* foi realizado com o teste de triagem Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), rosa bengala, as amostras que obtiveram resultado positivo foram submetidas ao teste confirmatório 2-Mercaptoetanol (2-ME). A escolha da metodologia para o diagnóstico seguiu o padrão dos testes oficiais determinados pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT). Os antígenos utilizados foram produzidos no Laboratório de Produção de Kits Diagnósticos do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR). Durante as coletas, foi aplicado questionário epidemiológico contendo perguntas sobre histórico de problemas reprodutivos, idade dos animais, sexo e propósito da criação. Do total de amostras testadas com AAT, 6 (1,47%) obtiveram resultados positivos, porém quando submetidos ao teste confirmatório de 2-ME os mesmos foram negativos. Estudos anteriores encontraram diferentes porcentagens de soroprevalência anti-*B. abortus* em caprinos em estados do nordeste brasileiro. Muitos deles atribuindo sorologia positiva após a realização do diagnóstico por AAT. O presente estudo mostra a necessidade de se confirmar o diagnóstico com outras metodologias indicadas como 2-ME. Sugere-se ainda diagnóstico diferencial, quando possível, com outras espécies de brucellas uma vez que não é possível distinguir as reações de aglutinação entre *B. abortus* e *B. melitensis* por exemplo.

Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do óleo essencial de lavanda (*Lavandula dentata* L.) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) sobre a *Escherichia coli* isolada de leite mastítico bovino

Bruna Carolina Ulsenheimer¹, Luciana Mori Viero², Cristiane Beck², Denize Da Rosa Fraga², Luciane Ribeiro Viana Martins³.

⁽¹⁾ Graduanda, Medicina Veterinária, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUÍ, Ijuí, BR.

⁽²⁾ Doutora, Medicina Veterinária, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul- UNIJUÍ, Ijuí, BR.

⁽³⁾ Mestre, Medicina Veterinária, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul- UNIJUÍ, Ijuí, BR.

A *Escherichia coli* é uma enterobactéria gram negativa, presente no trato gastrointestinal dos animais, com grande prevalência em mastites em bovinos. A mastite por este agente é considerada uma ameaça à saúde humana e animal, sendo responsável por elevadas taxas de morbidade. Por este motivo o uso de produtos naturais de plantas bioativas, tem sido cada vez mais empregado com fins preventivos e curativos em doenças infecciosas, sendo uma estratégia promissora, para o controle destas enfermidades. Neste trabalho, buscou-se testar, dois tipos de óleos essenciais, a lavanda (*Lavandula dentata* L.) e o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), quanto sua ação antimicrobiana á *Escherichia coli*, a qual possui elevada resistência a muitos antibióticos. Primeiramente realizou-se a extração dos óleos essenciais da flor e da folha do manjeriço e da lavanda pelo método de arraste á vapor. Posteriormente foram realizadas as análises em triplicata, no Laboratório de Microbiologia Veterinária da Unijuí, pelo cultivo bacteriano em placas confrontados a 20 µl de óleo essencial. .O óleo essencial da flor de lavanda apresentou halos de inibição de 7 mm nos três testes, já da sua folha, apresentou valores um pouco maiores com 10 mm em duas amostras e 11 mm noutra. Já com relação á atividade antimicrobiana do óleo essencial do manjeriço, o óleo da folha desta planta apresentou halos de inibição do crescimento bacteriano expressivos, com 15 mm nos três testes. A flor do manjeriço apresentou valores ainda maiores, apresentando halo de inibição de 15 mm, 16 mm e 19 mm, nas amostras avaliadas. A partir destes testes, é possível constatar que a ação antimicrobiana do óleo essencial obtido do manjeriço apresentou ótimos resultados, com atividade antimicrobiana superior do óleo da flor com relação ao óleo da folha. Já o óleo essencial da lavanda, tanto da sua flor quanto da folha, não apresentaram significativa ação antimicrobiana sobre a *Escherichia coli*. Constatando-se que o óleo essencial do manjeriço apresentou ação antimicrobiana in vitro considerável, inibindo o crescimento bacteriano.

PIBIC- UNIJUÍ

Etiologia e avaliação de antibióticos fitoterápicos e convencionais contra *Staphylococcus coagulase* positiva, isolados de mastite caprina e ovina no agreste e na Zona da Mata do Estado de Alagoas, Brasil

Artur Vasconcelos¹, Maria De Nazaré Ferreira¹, Agnelo Douglas Júnior¹, Jobson Nascimento¹, Luiz Henrique Lima¹, Thiago Silva¹, Karla Patrícia Silva¹. ⁽¹⁾ Laboratório de doenças infecciosas do curso de medicina veterinária UFAL, UFAL, Universidade Federal de Alagoas, Viçosa, BR.

Objetivou-se avaliar a sanidade da glândula mamária em cabras e ovelhas no período de lactação e definir o perfil de resistência e sensibilidade do gênero *Staphylococcus* sp. *coagulase* positiva frente aos antibióticos fitoterápicos e convencionais. Estudou-se 42 cabras e 36 ovelhas procedentes do Agreste e Zona da Mata de Alagoas. Realizou-se o exame clínico da glândula mamária e em seguida detectou-se as mastites por meio dos testes da caneca telada e California Mastitis Test (CMT). Observou-se nos tetos das cabras a mastite clínica em 15,48 % (13/84) e mastite subclínica 65,48 % (55/84), e nos tetos das ovelhas, mastite clínica em 19,44 % (14/72) e mastite subclínica 27,78 % (20/72). As amostras positivas para mastite subclínica e que confirmaram no microbiológico foram 83,63 % (46/55) para caprinos e 90 % (18/20) para ovinos. Identificou-se 60 microrganismos na mastite clínica e subclínica caprina, sendo *Staphylococcus* sp. a bactéria mais frequente 41,66 % (25/60) e na mastite ovina foram identificadas 45 microrganismos, prevalecendo *Staphylococcus* sp. 60% (27/45). As bactérias isoladas do gênero *Staphylococcus* sp. foram submetidas ao teste de coagulase e as amostras positivas foram submetidas ao teste de sensibilidade a antibióticos fitoterápicos e convencionais. Observou-se nas amostras de mastite caprina, sensibilidade de 25 % aos fitoterápicos *Cupania impressinervia* Acev. - Rodr e *Mabea piriri* Aubl. e de 16,67 % aos fitoterápicos *Ipomoea purga* e *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. - Rutaceae, nos antimicrobianos convencionais o de maior efeito foi Gentamicina (91,67 %), a maior resistência foi ao antimicrobiano Penicilina (70,83 %). Detectou-se nas amostras de mastite ovina 100 % de sensibilidade ao fitoterápico *Cupania impressinervia* Acev - Rodr, seguido de *Mabea piriri* Aubl. com 70%, os fitoterápicos *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. - Rutaceae e *Ipomoea purga* foram eficazes in vitro contra 65 % e 60 %, respectivamente. Dentre os antimicrobianos convencionais os de maior eficácia foram Gentamicina (95 %) e Sulfa+Trimetoprim (90 %). Conclui-se que a mastite subclínica é a forma mais comum da mastite, sendo de etiologia contagiosa e que a bactéria responsável pela maioria dos casos é *Staphylococcus* sp. produzindo diversos tipos de doenças infectocontagiosas em animais e humanos.



JU370

Clostridium septicum and Clostridium chauvoei induce different TLRs expression

Maria Cecilia Villa¹, Rodrigo Alberto Guerra¹, Adriana Soledad Vega Orozco¹, José Soria¹, Walter Berón². ⁽¹⁾Departamento de Ciencias Básicas, Escuela de Salud, Universidad Nacional de Villa Mercedes, Villa Mercedes, San Luis, AR. ⁽²⁾ IHEM CONICET, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, AR.

Toll-like receptors (TLRs) are the best characterized innate immune receptors. Upon ligand binding, TLRs activate a signaling pathway that enhance expression of immune factors such as cytokines, provoking inflammation and communication with the adaptive branch of immunity. *Clostridium chauvoei* and *Clostridium septicum* are Gram positive anaerobic flagellated pathogens, with 99% genetic similarity but different immunity. Both pathogens are causative agents of myonecrosis, which is a deadly disease affecting cattle, man and many warm-blooded animals. The aim of this work was determine TLRs expression induced by *C. chauvoei* and *C. septicum* in peritoneal mouse macrophage. Macrophage (1×10^6 cell/well) were co-cultured with *C. chauvoei* and *C. septicum* cells obtained in log phase culture at different multiplicity of infection (MOI) for 4, 12 and 24h. RNA was reverse transcribed into cDNA and used for RNA amplification with specific primers, using RT-PCR. The bands were analyzed by Scion image software. The results showed that *C. chauvoei* cells induces 1.4-2 times increase of TLR 5 expression early in time, even at low MOI ; while *C. septicum* induced TLR2 expression, 2 times higher than that of control at 4 h post-infection. In conclusion, specific TLR2 would be singled out as a dominant receptor for *C. septicum* and TLR5 as a dominant receptor for *C. chauvoei*.

Universidad Nacional de Villa Mercedes, San Luis, Argentina. IHEM-CONICET.



JU371

Novel immunosuppressive mechanism during Bovine Viral Diarrhea Virus-1 infection

Melina Villalba¹, Fernanda Fredericksen¹, Nicolas Maldonado¹, Gardenia Payne¹, Juan K Romero¹, Valentina Arriagada¹, Víctor H Olavarría¹. ⁽¹⁾ Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL.

Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) is the causative agent of multiple diseases: mucosal disease, reproductive failure, infections persistent and bovine immunosuppression; causing several economic losses in the livestock industry. BVDV in vitro induces decrease of important molecules for antiviral defense mechanism, such as proinflammatory cytokines (IL-8, IL-1 β , among others). Cytokine production for immunological process is tightly regulated at transcriptional and posttranscriptional levels. Particularly, the transcription factor NF- κ B controls the expression of immune and anti-apoptotic genes important for maintain immune homeostasis in the cell through the participation of molecules such as immediate early response 3 (IER3) and A20 (TNFAIP3), both key negative regulators of the immune response. Although IER3 and A20 has been identified in mammals, relatively little is known about the composition of these regulators in other classes of vertebrates, particularly for bovines. We report the first evidence of A20 and IER3 effective negative regulators of NF- κ B activity in bovine cells. In addition, our results prompt to bovine A20 and IER3 expression is mediated by BVDV-1. In this context, A20 evidenced the strongest fold increase in expression with virus exposure, a phenomenon blocked by a pharmacological NF- κ B inhibitor. Also, it was found that BVDV infection can modify the NF- κ B – related early immunity gene expression through IER3 and A20 modulation. This is the first report to find BVDV-1 modulating the activation of A20 and IER3 factors, being possible mechanisms of NF-KB pathway regulation that contributes to immunosuppression induced by BVDV and elucidate potential signaling mechanisms related to pathogen infection in cattle.

FONDEF IT15I10016, FONDECYT 3180221



JU372

Evaluación de la actividad anti-oomicete de metabolitos secundarios presentes en extractos de *Streptomyces* marinas de las costas chilenas

Nicolás Zamorano¹, Andrés Cumsille¹, Valentina González¹, Fernanda Claverías¹, Agustina Undabarrena¹, Iván Montenegro², Beatriz Cámara¹. ⁽¹⁾ Departamento de Química, Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental & Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Escuela de Obstetricia y Puericultura, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso, Viña del Mar, CL.

Chile es el segundo productor de salmones a nivel mundial, con exportaciones que bordean los US\$ 4.000 millones. Por este motivo, preservar la salud de estos peces se considera de gran importancia para industria salmonera nacional. Estos peces son propensos a sufrir infecciones por diversos patógenos, entre ellos *Saprolegnia parasitica*, un Oomycetes que genera pérdidas de hasta un 10% de la producción anual. Anteriormente, una serie de compuestos han sido empleados para el control de este patógeno, sin embargo, ninguno de ellos ha dado una solución al problema. Encontrar nuevos compuestos para su tratamiento se vuelve de gran importancia para la industria salmonera. En este contexto, bacterias del género *Streptomyces* han sido estudiadas por producir diversos compuestos con propiedades antimicrobianas. En este trabajo, la capacidad anti-oomicete en contra de *Saprolegnia parasitica* de extractos provenientes de tres *Streptomyces* marinas aisladas de costas chilenas fue evaluada. Se utilizó la metodología OSMAC (One strain-many compounds) para realizar fermentaciones con las cepas de *Streptomyces* marinas cultivadas en 5 medios para la obtención de sus metabolitos secundarios, utilizando varios solventes. Posteriormente, se evaluó el potencial efecto de estos extractos contra *Saprolegnia parasitica*. Los resultados obtenidos sugieren que la actividad de los extractos contra este patógeno varía dependiendo de la cepa y del medio de cultivo utilizado. Mayoritariamente, se obtuvo actividad en el medio de cultivo ISP-2/ASW utilizando una mezcla de acetato de etilo con ácido fórmico al 1% como solvente. Además, la actividad anti-oomicete fue mayor cuando la extracción se realizó al día 7 de las fermentaciones. En conclusión, los metabolitos producidos por las *Streptomyces* marinas se presentan como potenciales candidatos para generar nuevas alternativas para el control del patógeno *Saprolegnia parasitica*.

FONDECYT regular 1171555, Proyecto ANILLO ACT 172128

JU373

Análise do perfil clonal de cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar ovis oriundas de pequenos ruminantes diagnosticados com Linfadenite Caseosa no estado do Pará

VA G Moura⁴, WL da Costa⁴, AC Lima⁴, CT Paixão⁴, RR de Sousa⁴, AR Folador³, JRM Lacerda², AL Mattos-Guaraldi¹, A Silva⁴, JM Marques⁴. ⁽¹⁾ Centro Biomédico, UERJ, Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Genética Microbiana, UFRJ, Rio de Janeiro, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Genômica e Bioinformática, UFPA, Belém, BR. ⁽⁴⁾ Instituto de Ciências Biológicas, UFPA, Belém, BR

Corynebacterium pseudotuberculosis é um patógeno intracelular facultativo, não formador de esporos, pleomórfico, de grande interesse veterinário, pois é o agente etiológico da linfadenite caseosa (LC) principalmente em pequenos ruminantes. Esta doença caracteriza-se por inflamação e aumento dos gânglios linfáticos superficiais ou internos, que compromete a carne e a pelagem, em casos graves pode levar o animal a morte, trazendo assim inúmeras perdas econômicas. O estado do Pará se destaca pelo grande número de rebanhos de pequenos ruminantes em relação ao norte do país, conseqüentemente as perdas econômicas relacionadas a esse microrganismo tornaram-se um problema notório. Assim, objetivou-se analisar o perfil clonal das estirpes de *C. pseudotuberculosis* circulantes no estado do Pará. Amostras de material caseoso de animais diagnosticados com LC foram coletadas e analisadas por técnicas microbiológicas de cultura e isolamento e, após extração, o material genético das estirpes foi submetido a uma reação em cadeia da polimerase usando genes específicos: *rrs*, *rpoB* e *pld* (multiplex-PCR), seguido de eletroforese em gel de agarose. Visando estudo de filogenia, três linhagens foram sequenciadas (PA05, PA06 e PA07) para construção de uma árvore filogenética pelo software MEGA7, utilizando o gene *rrs* das cepas do Pará e de outras espécies (outgroup), recuperadas do NCBI, pertencentes ao gênero *Corynebacterium*. Concomitante ao estudo filogenético, as cepas isoladas foram submetidas à três técnicas de fingerprint: DGGE, ARDRA e Box-PCR, juntamente com outras cepas previamente coletadas. Dez amostras de material caseoso foram coletados no total, sendo quatro deles confirmadas como pertencentes a *C. pseudotuberculosis* por apresentarem perfil morfológico e resultados em testes de identificação condizentes para espécie. Na filogenia, as cepas isoladas neste trabalho foram separadas de cepas bacterianas do mesmo gênero, mas de diferentes espécies, e alinhadas com outras espécies de *C. pseudotuberculosis*. Assim, foi possível diferenciar o agrupamento de diferentes biovars (ovis e equi). Em todas os ensaios de fingerprint foi possível observar perfis de bandas sugerindo apenas um genótipo entre as linhagens. Dessa forma, infere-se a presença de um comportamento clonal entre as estirpes de *C. pseudotuberculosis* circulantes no estado do Pará, corroborando assim, resultados já descritos na literatura em outras partes do país.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Centro de Genômica e Biologia de Sistemas (CGBS)

JU374

Rol de *E. coli* y *Salmonella* spp sobre el crecimiento y mortalidad de crías de alpacas (*Vicugna pacos*)

Victor D Carhuapoma¹, Nicasio Valencia M2, Alcides Anccasi C¹, Epifanio Lizana H², **Nicasio M Valencia**². ⁽¹⁾ Centro de Investigación Científica Multidisciplinario, Centro de Investigación Científica Multidisciplinario, Universidad Nacional de Huancavelica, Huancavelica Perú, PE. ⁽²⁾ Laboratorio de Salud Animal, Laboratorio de Salud Animal, Universidad Nacional de Huancavelica, Huancavelica, PE.

Las patologías entéricas bacterianas son de importancia clínica en la producción de alpacas, debido a que ocasionan elevadas tasas de mortalidades de crías de alpacas en los primeros cuatro meses de vida. Por ello surge la necesidad de estudiar el rol de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. como causales de diarrea y su efecto sobre el crecimiento y mortalidad de crías de alpacas (*Vicugna pacos*). Se seleccionaron 131 alpacas Huacaya con procesos diarreicos y con edad promedio de 10.0 ± 2 días, peso de 9.6 ± 0.5 kg y altura a la cruz de 85.0 ± 0.5 cm. Se tomaron muestras de hisopados rectales y se cultivaron en medios de cultivo selectivos de agar MacConkey, EMB, SS, XHD y BIH, y se hicieron pruebas bioquímicas. Con base a los resultados positivos a *E. coli*, *Salmonella* spp. y *E. coli*-*Salmonella* spp. (ambas bacterias presentes), los animales fueron distribuidos en cuatro grupos: G1, *E. coli* (n=27); G2, *Salmonella* spp. (n=25); G3, *E. coli*-*Salmonella* spp. (n=22); G4, testigo (n=30). El incremento de peso vivo, la talla corporal y la mortalidad fueron registrados semanalmente por ocho semanas. Del total de 131 crías de alpacas estudiadas se encontraron altos porcentajes positivos a *E. coli*, *Salmonella* spp., y *E. coli*-*Salmonella* spp. en ambos sexos. El peso de las crías fue afectado en el G3 (hembras: $12.6 \pm 1.4c$; machos: $12.4 \pm 1.3b$) y G2 (hembras: $13.4 \pm 1.5a$; machos: $14.6 \pm 1.2a$) más que en el G1 (hembras $14.3 \pm 1.4b$; machos: $16.2 \pm 1.3b$) y G4 (hembras: $16.7 \pm 1.4d$; machos: $18.4 \pm 1.4d$). De igual forma la talla corporal fue afectada en G3 (hembras: $67.0 \pm 1.4c$; machos: $68.0 \pm 1.1c$) y G2 (hembras: $68.0 \pm 1.5a$; machos: $69.0 \pm 1.2a$) más que en G1 (hembras: $70.0 \pm 1.1b$; machos: $71.0 \pm 1.3b$) y G4 (hembras: $85.0 \pm 1.1d$; machos: $84.0 \pm 1.1d$) ($p < 0.01$). Asimismo, la tasa de mortalidad fue mayor en G3 (45.5% ambos sexos) y G2 (hembras: 23.1%; machos: 33.3), siendo menor mortalidad en el G1 (hembras: 14.3 %; machos: 23.1%) y G4 (6.7% para ambos sexos). *Salmonella* spp. y *E. coli* se evidenciaron como agentes patógenos negativos para el crecimiento y mortalidad en crías de alpacas con diarrea.



JU375

Monitoreo microbiológico para controlar los principales agentes infecciosos en animales criados en condiciones convencionales

Layna Riera¹, Zenilda Zamora¹, Sonia Lugo¹, Romy Orphee¹, Maria Caridad Acevedo¹, Sahilis Sánchez¹, Magalys Viera¹, Arlena Kaiser¹. ⁽¹⁾ Dirección de Calidad, Dirección Calidad, Centro Nacional para la Producción Animales de Laboratorio (CENPALAB), La Habana, CU.

El control microbiológico a los animales es de gran importancia, ya que se disminuye el riesgo de infecciones zoonóticas y se incrementa la confiabilidad y reproducibilidad de los datos de las investigaciones cuando son utilizados con fines experimentales. Los animales mantenidos sin ningún proceso especial, en instalaciones abiertas, son llamados animales convencionales, deben estar libres de toda evidencia de enfermedades infecciosas especialmente las trasmisibles al hombre, y son frecuentemente usados como animales de laboratorio en el desarrollo y liberación de biológicos y fármacos y en investigaciones científicas y médicas. Exponer el programa de control microbiológico empleado para las diferentes especies de animales de experimentación producidos y mantenidos en condiciones convencionales en el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), fue el objetivo de este trabajo. Se realizó el estudio de regulaciones existentes, las condiciones de cría y el uso del animal. Fueron procesadas más de 11 100 muestras (sueros, heces fecales y exudados) de cuatro especies de animales durante más de 10 años. El programa es aplicable para las especies de conejos, perros, ovinos y primates no humanos. Se definieron las consideraciones para el monitoreo, frecuencia de muestreo, entidades microbianas a controlar, tanto las infecciosas como las zoonóticas, entre otros. Con los resultados del control microbiológico se hizo un análisis de la incidencia y tendencia de entidades microbianas mediante un Análisis de Regresión, permitiendo así certificar la calidad microbiológica de estos animales. El trabajo permite contar con un documento normativo en el control de la calidad microbiológica de estas especies de animales, armonizando los criterios microbiológicos en el sistema nacional de animales de experimentación en Cuba.

Resistencia microbiana y producción de biofilms en cepas de *Pasteurella multocida*

Sonia Lugo¹, Ivette Espinosa², Zenilda Zamora¹, Layna Riera¹, Evelyn Lobo³, Iliana Sosa¹. ⁽¹⁾ Dirección de Calidad, Dirección Calidad, Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), La Habana, CU. ⁽²⁾ Dirección Salud Animal, Laboratorio Bacteriología, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Mayabeque, CU. ⁽³⁾ Dirección Salud Animal, Laboratorio Mycolab, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Mayabeque, CU.

La pasteurelisis se considera una enfermedad zoonótica cuyo principal reservorio se encuentra en los animales domésticos y silvestres, se conocen diferentes sinonimias: cólera aviar, neumonía porcina, septicemia hemorrágica bovina, coriza del conejo; en humanos se adquiere por vía aérea o a través de arañazos o mordeduras de mascotas infectadas. Es una enfermedad de fácil contagio por vía aérea y resistente a diversidad de antibióticos, una de las causas que se le atribuye a su resistencia, además de sus factores de virulencia, como la cápsula, fimbrias, LPS, neuroaminidasas y proteínas de membrana externa, es la capacidad de producción de biofilms. El objetivo del presente trabajo es mostrar los resultados obtenidos en el estudio de la producción de biofilms en cepas de *Pasteurella multocida* aisladas de conejos sanos y con procesos respiratorios en un período de 10 años y su comparación con el estudio de resistencia antimicrobiana ante un panel de 12 antibióticos. Para la evaluación de producción de biofilms se empleó el método de Olson, 2002; la actividad antimicrobiana se realizó por el Método de difusión en disco de Kirby-Bauer. Los resultados obtenidos mostraron que las cepas mostraron un patrón de resistencia elevado, el 100% fueron resistentes a la Kanamicina, Amoxicilina, Ceftriazona, Carbenicilina, Eritromicina, Sulfametoxazol y Estreptomina, el 90,9% resultó resistente a la Tetraciclina, Ciprofloxacina y Penicilina, el 81,8 % al Cloranfenicol y el 72,7 % a la Gentamicina, las cepas productoras de biofilms mostraron un patrón de resistencia del 100 % y corresponden a aislados de animales sanos, lo que explicaría el estado de portador que le garantiza a la bacteria, perdurar en el tiempo y las infecciones recidivantes. Existe relación entre la producción de biofilms en *P. multocida* y la resistencia microbiana, lo que le podría conferir el carácter recidivante de sus infecciones.

JU377

Utilización del gen ELF-1 Alpha para evaluar la calidad del diagnóstico del virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) a través de RT-PCR en tiempo real

Yoanna Eissler¹, David Tapia², Javiera García³, Juan Carlos Espinoza¹, Juan Kuznar¹. ⁽¹⁾ Centro de Investigación y Gestión de Recursos Naturales, Instituto de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Doctorado en Acuicultura, Programa Cooperativo Universidad de Chile, Universidad Católica del Norte, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽³⁾ Instituto de Química, Carrera de Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL.

El virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) afecta principalmente a salmones en etapas tempranas de su desarrollo, causando la enfermedad conocida como IPN, una patología sistémica aguda y contagiosa. El IPNV en Chile es prevalente, infecta a todas las especies de salmones cultivados y se encuentra entre las causas de mortalidad por enfermedad más frecuentes reportadas anualmente por el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. La principal técnica utilizada para su diagnóstico corresponde a la RT-PCR en tiempo real (RT-qPCR), la cual requiere del uso de genes de referencia conocidos con expresión constitutiva, como controles endógenos para la normalización de los resultados. En el presente estudio se analizó un total de 53 muestras, colectadas de peces adultos y alevines de salmón Atlántico, *Salmo salar*, trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* y salmón coho *Oncorhynchus kisutch*, obtenidas de sitios de agua dulce y agua de mar en el sur de Chile durante los años 2015 y 2016. Se determinó la presencia del IPNV en las muestras a través de dos protocolos de RT-qPCR dirigidos a la proteína VP2 y VP1 del virus. En paralelo, se diseñó un protocolo de RT-qPCR para determinar la expresión del gen de referencia ELF-1 alpha en las muestras y se comparó con dos protocolos de RT-qPCR obtenidos de literatura, con el objetivo de evaluar la calidad del diagnóstico. A partir de los resultados de Ct se realizaron pruebas estadísticas no paramétricas de comparación con el programa STATISTICA versión 7.0, como Kruskal-Wallis ANOVA, entre otras. Los mejores resultados se obtuvieron con el protocolo diseñado en nuestro laboratorio, denominado protocolo ELF4. Este método demostró ser más estable que los demás examinados, al presentar un rango de valores de Ct menor entre las muestras, y exhibió un mejor desempeño en la amplificación del gen. En conclusión, el protocolo diseñado en el laboratorio de referencia de IPN demostró ser el más adecuado para determinar la expresión del gen de referencia ELF-1 alpha en la evaluación de la calidad del diagnóstico del virus IPN a partir de muestras de los distintos salmónidos cultivados en Chile.

FIPA Nº 2014-60: "Determinación de factores epidemiológicos de riesgo en la presentación clínica de la enfermedad Necrosis Pancreática Infecciosa".

La cría confinada de ganado como agente de riesgo sanitario en la provincia de Buenos Aires Argentina

Marta Paz¹, Julian Mantovano¹, Carina Tornello¹, Celio Chagas², Oscar Santanatoglia², Filiipe Kraemer², Lidia Nuñez¹, Juan Moretton¹. ⁽¹⁾ Salud Pública e Higiene Ambiental, Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, AR. ⁽²⁾ Manejo y Conservación de Suelos, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, AR.

Las aguas contaminadas en las zonas agrícola- ganaderas pueden contener una amplia gama de agentes infecciosos causantes de enfermedades. La ganadería contribuye a la contaminación hídrica a través de la descarga a cursos de agua de sedimentos que aportan excrementos con la consecuente diseminación de patógenos. La producción bovina en la Región Pampeana ha experimentado cambios con el incremento de la cría intensiva de ganado que constituye una fuente de contaminación localizada. El objetivo de este trabajo fue determinar la contaminación biológica y evaluar el riesgo sanitario de exposición consecuente, que se produce en el sistema de vaguadas naturales que conecta un feedlot de la Pampa Ondulada con el Arroyo Burgos. Se tomaron muestras estacionales durante el 2012 a 2017 desde la salida del feedlot y en un sistema de vaguadas de 5,45 Km. En las muestras de agua y de agua con sedimentos se determinó el número de *Escherichia coli*, enterococos y *Salmonella* spp. Con los datos obtenidos, se realizó una evaluación cuantitativa de riesgo, especialmente para los trabajadores agropecuarios, de infección por *Salmonella* spp asociado con la exposición al agua contaminada bajo condiciones inalteradas y bajo condiciones de resuspensión. En el punto de muestreo, a la salida del feedlot, y en el último sitio de muestreo en las muestras con agua y sedimento se observaron que los valores medios de *E. coli* aumentaron 1 orden logarítmico con respecto a los valores obtenidos en las muestras de agua. Con relación a los enterococos observamos un aumento de 0,5 órdenes logarítmicos en las muestras de agua con sedimento. En todas las muestras se detectó *Salmonella* spp, lo que permitió estimar un riesgo sanitario anual de $8,1 \times 10^{-3}$ en agua con sedimento y de $2,1 \times 10^{-3}$ en el agua. Se detecta un alto grado de contaminación en el punto de descarga del feedlot, y en el resto de los sitios estudiados se observa una importante contaminación difusa originada presumiblemente por cría de animales a campo. Las actividades que causan resuspensión de los sedimentos conducirían a un riesgo elevado de infección para las personas expuestas.



JU379

Direct red congo dye discoloration by *Shewanella* sp. G5-03

Lopes Viviane Cristina P¹, Da Silva Evanleide Rodrigues¹, De Moraes Eduardo Beraldo¹. ⁽¹⁾ Sanitary and Environmental Engineering, Architecture, Engineering and Technology Faculty, Federal University of Mato Grosso, Cuiabá, BR.

The pollution provided to the usage of textile dyes in the textile sector has been causing a series of concerns, since the synthetic dyes that are used may cause severe damages for both water bodies and human health due to its recalcitrant, mutagenic and carcinogenic characteristics. The biological treatments have been broadly used in the treatment of such effluents due to the acknowledged ability of microorganisms in degrading textile dyes, as well as other chemical compounds whose degradation is slow. Therefore, this study aims to test the capacity of the *Shewanella* sp. G5-03 bacterial isolated strain in degrading the Congo red dye (C.I Direct Red 28) in a synthetic effluent under several pH (5, 7 and 10), temperature (25°C, 30°C, 35°C e 40°C) and aeration conditions (static and agitation). As results, it was observed that there was 97.5% of discoloration at 30°C and pH 10 under static conditions after 10h incubation. The spectrophotometric analyzes in the infrared region showed that there was degradation of the dye, with changes in its structure, observed by the disappearance of the band 1,589.34 cm⁻¹, which corresponds to the azo bond (-N = N-). These results indicate that the *Shewanella* sp. represents a good alternative in the treatment of effluents containing textile dyes.

We acknowledge for financial support to CAPES and UFMT.



JU380

Atividade antimicrobiana do resíduo de extração de manjeriço (*Ocimum basilicum* var. *minimum* L) sobre *Aspergillus niger*

Souza Joseane Do Carmo¹, Brito SARA SS¹, Silva Maria Aparecida P Da², Silva Franceli Da¹, Cintia Armond¹. ⁽¹⁾ CCAAB, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BR ⁽²⁾ Nutrição, FAMAM, Faculdade Maria Milza, Cruz das Almas, BR.

Algumas plantas produzem compostos secundários, que podem ser utilizados no desenvolvimento de novos produtos. O resíduo da extração é um subproduto da extração do óleo essencial. De forma geral, o resíduo mantém traços de óleo essencial, como é o caso do manjeriço, que muitas vezes se emulsifica após a extração. Visando o aproveitamento do resíduo da extração, este trabalho teve por objetivo avaliar o potencial antifúngico do resíduo da extração de manjeriço, por meio de sua extração em meio metanólico e sua aplicação sob o *A. niger*, causador da podridão vermelha do sisal. Os extratos foram obtidos a partir dos resíduos sólidos provenientes da hidrodestilação do óleo essencial, que após seco em estufa, foram submetidos a extração com solvente metanol. O isolado de *A. niger* foi proveniente da coleção de cultura do Laboratório de Microbiologia Agrícola da UFRB. A avaliação da atividade antimicrobiana foi pelos métodos de concentração inibitória mínima (CIM), exposição aos voláteis e o método de difusão de ágar. Os tratamentos foram compostos por cinco dosagens de extrato, nas concentrações de 30, 25, 20, 15, 10 $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$. A concentração de 20 $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$, demonstrou atividade fungistática. Os resultados mostram que o resíduo do processo de extração de óleo essencial, ainda mantém ação antimicrobiana, podendo ser utilizado no controle de *A. niger*.

Capes, CNPq, UFRB, FAMAM

JU381

O crescimento de *Pseudomonas putida*, isolada do intestino médio de *Aedes aegypti*, é fortemente estimulado por altas concentrações de heme

Mota Gabriela Petroceli¹, Machado Sâmella Da Hora², Lemos Francisco José Alves², Berbert De Molina Marília Amorim².

⁽¹⁾ Laboratório de Biotecnologia, Doutoranda em Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, BR.

Em fêmeas do mosquito *Aedes aegypti*, vetor de severas doenças para humanos, uma grande quantidade de heme é liberada no intestino durante a digestão de sangue. A molécula é altamente pró-oxidante e para diminuir os efeitos tóxicos para o inseto, parte do heme livre é imobilizada na matriz peritrófica. Porém, conforme verificado por nosso grupo, bactérias intestinais também resistem às condições oxidativas geradas, verificando-se aumento expressivo da população ao longo do processo. Nossa hipótese é que a microbiota desempenha papel auxiliar na detoxificação de heme e pode contribuir para diferentes aspectos da fisiologia do mosquito. Neste trabalho foi avaliado o crescimento de uma das espécies bacterianas isoladas do intestino de *A. aegypti*, identificada como *Pseudomonas putida*, utilizando-se cultivo em frascos agitados (30 °C e 110 min⁻¹) e meio MC (controle) suplementado com 100, 150 ou 200 µM de hemina (MCHe100, MCHe150 e MCHe200) ou 100 µM de sulfato ferroso (MCSF) ou cloreto férrico (MCCF). Verificaram-se perfis cinéticos de crescimento semelhantes em MCSF e MCCF, com aumento médio de 71% na concentração celular ($X_m \sim 4,0$ g.L⁻¹), em relação à de MC ($X_m = 2,3$ g.L⁻¹), indicando a necessidade de ferro para o crescimento. Da mesma forma, todos os meios formulados com hemina estimularam a produção de biomassa. Em MCHe100, que tem a mesma concentração de ferro que MC, X_m foi apenas 17,4% maior que o obtido no controle. No entanto, ao duplicar a concentração de hemina (MCHe200), o aumento na produção de células foi de quase 87% ($X_m = 4,3$ g.L⁻¹), embora com produtividade volumétrica ($Q_x = 0,20$ g.L⁻¹.h⁻¹) análoga. Por outro lado, apesar de variações na cinética de crescimento, os meios MCHe150 e MCHe200 permitiram alcançar valores de X_m e Q_x similares aos dos meios MCSF e MCCF. Assim, ainda que o ambiente artificial aqui testado seja distinto daquele do intestino do mosquito e que *P. putida* seja apenas uma representante de uma comunidade microbiana diversificada e dinâmica, os resultados sugerem que a microbiota intestinal pode atenuar os efeitos tóxicos do heme durante a digestão sanguínea. As concentrações de heme aqui empregadas são equivalentes às utilizadas por bactérias patogênicas, que apresentam mecanismos eficientes para esta finalidade.

JU382

Cyclovirus isolation in MRC-5, Vero, HEp-2 and Caco-2 cell lines

Y Prades¹, C Esteban¹, K Bravo¹, D Silva¹, C Moreno¹, V Luchsinger¹. ⁽¹⁾ Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Introduction: Cyclovirus (CyCV) is a genus of non-enveloped viruses with circular ssDNA from the Circoviridae family. CyCV has been detected in different organisms, such as dragonflies, foxes, dogs, bats and poultry. For the first time, in 2010, CyCV genome was detected in human samples (feces). Although, CyCV detection resulted positive in other types of samples, only its detection in patients has been studied and not its pathogenic role. Viral isolation will be useful to confirm these detections and to study CyCV pathogenicity. **Objective:** To test CyCV replication in four cell lines. **Methodology:** MRC-5, Vero, Hep-2 y Caco-2 cells were inoculated with CyCV-ChileNPA positive nasopharyngeal aspirates from adults with community-acquired pneumonia (CAP), obtained between 2012 and 2014 and tested with a real time PCR that amplifies a 149 bp fragment of the Rep gene (1267-1415). The cell lines were cultured using ATCC specifications; 200.000 cells were seeded in flat-sided culture tubes (NUNC®) and grew to 70% confluence for the experiments. Two tubes for each cell line was tested, one was: exposed to 300 ul of CyCV (+) sample, incubated at 37°C for 30 min, centrifuged for 10 min at 2500 rpm and then filled with 1.2 ml of fresh medium with 1% of fetal bovine serum (FBS), and the other one was tested in parallel but without the sample exposure. The experiment was followed from 5 - 15 days by assessing morphological changes through microscope observation and testing the supernatant medium for CyCV detection using the real time PCR described earlier. **Results:** Vero, Hep-2 and Caco-2 cell lines showed significant morphologic changes such as: cytoplasmic enlargement, inclusion bodies and monolayer destruction, but none of these cell lines were detected positive for CyCV detection. The MRC-5 did not showed significant morphologic changes and the PCR also resulted negative for CyCV. **Conclusion:** In conclusion, these four cell lines could not allow CyCV replication in vitro. So, it is necessary to assay CyCV isolation in another cell lines in vitro.

JU383

Probiotic effect of *Bifidobacterium longum* 51A on the development and severity of mucositis induced by chemotherapy in a murine model

Monica Quintanilha², Nicoli Jacques R², Morao Rodrigo P², Miranda Vívian C², Santos Spencer S², Trindade Luísa M¹, Martins Flaviano S². ⁽¹⁾ Farmácia, Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽²⁾ Microbiologia, Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, BR.

The antineoplastic-induced mucositis is a limiting factor in cancer therapy, affecting significantly the quality of life of patients, increasing morbidity and health costs. It is a huge problem caused by radiotherapy and chemotherapy predominantly affecting the mucosal surfaces of the gastrointestinal tract. Mucositis is a clinical term used to characterize mucosal ulcerations of the entire digestive tract and relevant symptoms. In recent years, although many studies on the pathophysiology of mucositis have been performed, there are still no curative methods, and there are only palliative measures for the treatment. Regarding to chemotherapy-induced mucositis of irinotecan hydrochloride, CPT-11, the main side effects include diarrhea and myelosuppression which are considered more frequent limiting toxicities and may affect the efficacy of the treatment since it is usually necessary to reduce the doses or interrupt it. Recently, probiotics have been shown to be a promising source as adjuvants for the treatment of mucositis. Therefore, the purpose of this study is to evaluate the probiotic effect of *Bifidobacterium longum* 51A in an in vivo model of intestinal mucositis induced by irinotecan, analyzing clinical and immunological parameters. For this, female Balb/c mice received (1×10^9 CFU) of *B. longum* 51A until the end of the experiment (day 15). Throughout the experiment, lost weight and food intake were evaluated daily. For the immunological parameters, the enzymes myeloperoxidase and eosinophil peroxidase were evaluated in the ileum and jejunum. The oral administration of *B. longum* 51A led to a significant ($p < 0.05$) and discrete reduction in recruitment of neutrophils and eosinophils, respectively, in mice with mucositis attenuating the inflammatory response in the treated mice. The intestinal permeability was also evaluated and, in comparison with the pre-treatment control, its alterations were significant ($p < 0.05$). These results may be related to the immunomodulatory properties of *B. longum* 51A that may alter the excreted cytokine profile. The immunological profile related to irinotecan-induced mucositis is being investigated and further studies are needed to understand the effects of this probiotic in a murine model of intestinal mucositis.

Nanopartículas biogénicas: Síntesis y estabilidad mediada por proteínas de *Pseudomonas aeruginosa*

Melisa A Quinteros^{1,3}, José O Bonilla^{5,6}, Silvana Albores⁷, Liliana B Villegas^{5,6}, María G Paraje^{2,3}, Paulina L Páez^{1,4}. ⁽¹⁾ Dpto. Ciencias Farmaceuticas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Córdoba, Córdoba, AR. ⁽²⁾ Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad de Córdoba, Córdoba, AR. ⁽³⁾ IMBIV, CONICET. ⁽⁴⁾ UNITEFA, CONICET. ⁽⁵⁾ Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia., Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis. ⁽⁶⁾ INQUISAL, CONICET, San Luis, AR. ⁽⁷⁾ Laboratorio de Microbiología, Departamento de Biociencias., Universidad de la República, Montevideo, UY.

El desarrollo de nuevos procedimientos, amigables con el medio ambiente, para la síntesis de nanopartículas metálicas es uno de los principales objetivos de la Nanotecnología. Esto se debe a que los métodos químicos, ampliamente utilizados, poseen algunas desventajas como el uso de solventes tóxicos, la generación de subproductos peligrosos y el alto consumo de energía. La utilización de plantas, algas, hongos y bacterias para la producción de nanomateriales son algunas de las alternativas viables debido a su bajo costo, la ausencia de residuos tóxicos y porque son altamente eficientes desde el punto de vista energético. Asimismo, se ha observado que las nanopartículas de plata biosintetizadas (NPsAg) son más aceptables para aplicaciones médicas debido a una biocompatibilidad superior que las sintetizadas químicamente. Esta biocompatibilidad estaría mediada por las biomoléculas que actúan como estabilizantes naturales de las NPsAg, impidiendo no sólo la agregación a lo largo del tiempo sino también otorgándoles una estabilidad adicional. En resultados previos, se obtuvieron NPsAg biosintetizadas a partir del sobrenadante de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, las cuales presentaron actividad antimicrobiana frente a diferentes especies bacterianas. El objetivo de este trabajo es analizar la cobertura o capping que presentan estas NPsAg biosintetizadas utilizando técnicas como microscopía electrónica de transmisión (TEM), espectroscopia infrarroja (IR), SDS Page y Espectrometría de Masas (MS), de manera tal de identificar los compuestos responsables de la estabilidad y biocompatibilidad de las mismas. A partir de las imágenes TEM obtenidas se observó que las NPs se encontraban rodeadas por una especie de envoltura. El espectro IR arrojó que la misma estaba compuesta por carbohidratos y/o proteínas. Por último, mediante MS se pudieron identificar 3 proteínas provenientes del sobrenadante de *P. aeruginosa*. Los resultados obtenidos en este trabajo con respecto a la caracterización de la composición del capping de NPsAg son pioneros en el área y permiten avanzar en la identificación de aquellas moléculas que le otorgan el carácter diferencial a las NPs biosintetizadas con respecto a aquellas sintetizadas por otros métodos.

CONICET, SECyT

Una aproximación proteómica al diálogo molecular de la interacción simbiótica

L Sandes¹, C Rodríguez¹, M Baraibar², M Portela^{3,4}, R Durán^{3,1}, R Platero¹. ⁽¹⁾ Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Unidad asociada a Facultad de Ciencias, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, UY. ⁽²⁾ OxiProteomics S.A., Paris, Francia, Paris, FR. ⁽³⁾ Unidad de Bioquímica y Proteómica Analítica, Instituto Pasteur de Montevideo, UY, Montevideo, UY. ⁽⁴⁾ Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, UY, Montevideo, UY.

Los rizobios son bacterias del suelo clasificadas dentro de los grupos alfa y beta de proteobacterias que poseen la particularidad de asociarse simbióticamente con leguminosas. El establecimiento de la simbiosis se encuentra finamente regulado mediante un diálogo molecular que comienza cuando los organismos se reconocen mutuamente en la rizósfera y culmina con la formación de órganos especializados, llamados nódulos, donde las bacterias llevan a cabo el proceso de fijación biológica de nitrógeno. Hasta el momento, la mayor parte de la información disponible sobre los mecanismos moleculares implicados en el reconocimiento mutuo y establecimiento de la simbiosis, se basa en el estudio de modelos que involucran rizobios pertenecientes a las alfa proteobacterias. En nuestro país hemos detectado la presencia de rizobios pertenecientes a la familia Burkholderiaceae asociados a diversas leguminosas nativas. Por esta razón nos preguntamos ¿Poseen estos rizobios bases moleculares similares a las ya estudiadas? O al contrario ¿Tienen su propio camino a la simbiosis? En el presente trabajo realizamos un abordaje proteómico para identificar las proteínas y principales vías metabólicas implicadas en el establecimiento de la simbiosis entre la cepa de rizobio UYMMA02A, perteneciente al género *Cupriavidus* y uno de sus hospederos, la leguminosa *Mimosa pudica*. Para esto comparamos los perfiles proteicos bacterianos obtenidos a partir de bacterias crecidas en vida libre versus bacterias crecidas en presencia de su hospedero. Mediante el empleo de la técnica Differential In Gel Expression (DIGE) se logró detectar la expresión diferencial de 37 proteínas de las cuales 22 fueron identificadas mediante MALDI-TOF. Se identificaron proteínas implicadas en diversos metabolismos, se seleccionaron una quinasa y una decarboxilasa para profundizar estos estudios mediante la construcción de cepas mutantes knock out en los genes que codifican para estas proteínas.

Posteriormente serán caracterizadas fenotípicamente realizando ensayos de interacción con su hospedero. Conocer el rol de estas proteínas en la colonización e infección de plantas, nos ayudará a entender el diálogo entre los simbiosiontes.

Interação do complexo enzimático produzido por *Aspergillus fumigatus* na descoloração de efluente têxtil

Santana Raphael Ferrer¹, Diana De Lira Duarte², Hugo Galindo Marques², Eduardo De Araújo Marques^{2,3}, Thales Henrique De Oliveira Barbosa⁴, Camila Beatriz Borba Atanásio³, Patrícia R. Silva Barbosa², Silvia Katrine Escher Silva⁵, Norma Gusmão Buarque^{6,7}, Leonor Alves Da Silva Oliveira⁸, Luana Cassandra Barroso Coelho Breitenbac⁹. ⁽¹⁾ Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Centro de Biociência, Universidade federal de pernambuco, Recife, BR. ⁽²⁾ Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungo, Centro de Biociência, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽³⁾ Antibióticos, UFPE, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, CL. ⁽⁴⁾ Programa de Pós- graduação em Bioquímica e Fisiologia, Centro de Biociência, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽⁵⁾ Docente do Instituto de Saúde Coletiva, UFOPA, Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, BR. ⁽⁶⁾ Antibióticos, UFPE, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, CL. ⁽⁷⁾ Docente do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungo, Centro de Biociência, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽⁸⁾ Biologia Molecular, UFPB, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, BR. ⁽⁹⁾ Docente do Programa de Pós- graduação em Ciências Biológicas, Centro de Biociência, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR.

As indústrias têxteis necessitam de grande volume de água nas etapas de tingimento e lavagem de tecidos, gerando efluente com elementos químicos de altas complexidades. Dentre os elementos químicos, podemos destacar os corantes por se tratar de moléculas com efeitos mutagênicos aos organismos vivos. Na bioconversão, os fungos filamentosos são usados na produção de enzimas intracelulares e extracelulares capazes de converter moléculas complexas em substâncias diferentes da originalmente produzida. Diante disso, este trabalho teve o objetivo determinar o potencial enzimático do *Aspergillus fumigatus* para tratamento de efluente produzido pela indústria têxtil. Foram realizados dois experimentos para identificar as melhores condições para tratamento desse efluente. No primeiro foram utilizadas as seguintes condições: Três blocos de gelose com crescimento micelial; 50 mL de efluente têxtil e 0,02% de extrato de levedura. Já no segundo, após otimização, foi inoculados nas seguintes condições: 0,35 g/L de extrato de levedura, 0,06 g/L de MnSO₄, 0,015g/L de CuSO₄, 0,04 g/L de FeSO₄ e 1,0 g/L de KH₂PO₄. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e incubados por sete dias a 30°C em condições estacionárias. Estabelecidas as condições, foram realizadas atividades dos complexos enzimáticos lacases (Lac), lignina peroxidases (LiP) e manganês peroxidases (MnP) e os percentuais de descoloração do efluente através de reduções de absorbâncias espectrofotométricas. No primeiro experimento, as condições de tratamento obtidos foram 34,24 UL-1 de Lac, 2,5 UL-1 de LiP e 40,83 UL-1 de MnP e um percentual de descoloração de 67,91 %. Já na segunda condição, foram 399,88 UL-1 de Lac, 0,18 UL-1 de LiP e 11,27 UL-1 de MnP com percentual de descoloração de 80,13%. Diante deste resultado, podemos concluir que a suplementação de nutriente ao meio de cultura aumentou, significativamente, à produção da lacase, levando a um maior percentual de descoloração do efluente têxtil. Estas enzima, produzidas pelo fungo *Aspergillus fumigatus*, tem possuem um grande potencial para descoloração de efluente gerado pela indústria textil.

CAPES

Azospirillum brasilense: A eficiência da multiplicação caseira

Késia Santos¹, Souto Ana Clara Alves², Guimarães Salomão Lima³, Campos Daniela Tiago Silva². ⁽¹⁾ Agronomia, Faculdade de Agronomia e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso. ⁽²⁾ Agronomia, Agronomia e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiaba, BR. ⁽³⁾ Agronomia, Agronomia e Zootecnia, UFMT Rondonópolis, Rondonópolis, BR.

O *Azospirillum brasilense* é uma bactéria que realiza o processo de fixação biológica do nitrogênio, sendo utilizada nas lavouras de milho por promover o crescimento e o incremento na produtividade por meio da disponibilização de nitrogênio. Alguns produtores rurais acreditam que realizar a multiplicação da bactéria na propriedade rural sem as condições mínimas de higiene é vantajoso e a fazem sem respeitar a legislação. Este trabalho tem como objetivo verificar a eficiência da multiplicação caseira de *A. brasilense* durante 14 horas em um tanque de inox com 5000 L de meio de cultura sob agitação e sem controle de temperatura e pH. Como meio de cultura utilizou-se o padrão da fazenda e que leva nutrientes essenciais para o desenvolvimento da bactéria e água de torneira em quantidade suficiente para os 5000 L. O tanque era aberto, possuía a injeção de ar, por meio de uma bomba, mas tinha a presença de insetos e não passou por um processo de esterilização. As amostras foram coletadas de hora em hora, tendo o pH aferido no momento da coleta e o material acondicionado tubo plástico esterilizado e colocado em caixa de isopor com gelo. As amostras foram levadas para o laboratório para a diluição seriada e a contagem do número de *A. brasilense* presentes nas amostras. Para a diluição seriada utilizou-se solução salina (0,85%) e para a enumeração do *A. brasilense* utilizou-se o meio de cultura NFb descrito na INº 30/2010 do MAPA e a técnica do número mais provável e os fracos de vidro foram incubados à 30 °C por 5 dias. O pH das amostras variou de 6,5 a 4,8 (com 14 horas de agitação). O número de unidades formadoras de colônias de *A. brasilense* não foi superior a 104 UFC/mL, bem inferior ao que preconiza a legislação brasileira que diz que o inoculante para ser utilizado na lavoura e ser eficiente tem que ter no mínimo 109 UFC/mL. Conclui-se que a multiplicação caseira de *A. brasilense* não é eficaz, além de trazer outros problemas que é a multiplicação de microrganismos indesejáveis e sérios problemas aos trabalhadores envolvidos no processo.



JU388

Virulent *Salmonella enterica* serovar Typhimurium modulates the production of neutrophils extracellular traps

Bárbara M Schultz¹, Fernanda Balmaceda¹, Stefanie Murano³, Gabriela Fabiano De Souza³, Silvia Dias De Oliveira², Bárbara N Porto³, Susan M Bueno¹. ⁽¹⁾ Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy. Departamento Genética molecular y microbiología, Facultad Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Laboratory of Immunology and Microbiology, Faculdade de Biociências, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR. ⁽³⁾ Laboratory of Clinical and Experimental Immunology, Medicina, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, CL.

Introduction: *Salmonella* is an important cause of gastrointestinal and systemic diseases worldwide. During *Salmonella* infection, the initial innate immune response triggered is the migration of neutrophils to the site of infection to clear the infecting microorganisms through different mechanisms, such as neutrophils extracellular traps (NETs). However, this innate immune response is not enough to avoid *Salmonella* infection and dissemination. It has been described that *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) has several virulence factors located in chromosomal cluster, known as *Salmonella* Pathogenicity Islands (SPI), which triggers the production of anti-inflammatory cytokines to promote a tolerogenic environment. For this reason, we evaluated whether *S. Typhimurium* modulate the production of NETs by neutrophils to facilitate dissemination from the site of infection. **Hypothesis:** *S. Typhimurium* modulates the production of NETs by neutrophils. **Methods:** Bone marrow derived neutrophils were isolated from C57BL/6 mice and infected with 1×10^5 cells for 10 or 180 min with *S. Typhimurium* WT and a mutant strain lacking a functional Type three secretion system encoded in SPI-2 (TTSS-2). NETs production by the early or classical ways was evaluated by extracellular DNA quantification and confocal microscopy analyses. **Results:** We observed induction of NETs production by the classical way (180 min post-infection) in bone marrow derived neutrophils infected with *S. Typhimurium* WT and TTSS-2 strain, in a MOI dependent manner. However, neutrophils infected with TTSS-2 strain showed increased NETs production, as compared to neutrophils infected with *S. Typhimurium* WT. **Conclusions:** Our results suggest that infection of neutrophils by *S. Typhimurium* induce NETs production, however a functional TTSS-2 could modulates this phenomenon. It is possible that the virulence proteins secreted by *S. Typhimurium* alters the capacity of neutrophils to prevent *S. Typhimurium* dissemination.

Bárbara M. Schultz is supported by CONICYT 21171014

Inmunolocalización del complejo de señalización de interleuquina-6 en lesiones periapicales de origen endodóntico

Catalina Schweitzer¹, Alejandra Fernández^{2,3}, María José Flores⁴, Marcela Hernández^{3,5,6}. ⁽¹⁾ Laboratorio de Biología Periodontal, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Facultad de Odontología, Universidad Andrés Bello, Santiago, CL. ⁽³⁾ Laboratorio de Biología Periodontal, Departamento de Odontología Conservadora, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Laboratorio de Anatomía Patológica, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁵⁾ Departamento de Patología y Medicina Oral, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁶⁾ Unidad Odontológica, Facultad de Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CL.

Introducción Las lesiones apicales (LA) se originan a partir de la respuesta inmune frente a la infección endodóntica. Histológicamente pueden corresponder a un granuloma apical o quiste apical, este último presenta revestimiento epitelial y deriva de un granuloma preexistente. La interleuquina (IL)-6 es una citoquina pleiotrópica expresada en altos niveles en lesiones periapicales, con efectos locales y potencialmente sistémicos. Actúa a través de un completo receptor compuesto por IL-6R y la glicoproteína (gp) 130. Hasta ahora se desconoce su participación en lesiones periapicales y en la patogénesis de la evolución de un granuloma a quiste apical. **Objetivos** Determinar la inmunolocalización del complejo de señalización de IL-6 en lesiones apicales de origen endodóntico epitelizadas y no epitelizadas de pacientes con periodontitis apical sintomática y asintomática. **Materiales y métodos** Se incluyeron LA de pacientes con diagnóstico clínico de periodontitis apical (n=15) sintomáticas y asintomáticas, a las cuales se les realizó diagnóstico anatomopatológico. Las muestras se procesaron por inmunohistoquímica para determinar la presencia y localización de IL-6, IL-6R y gp-130. **Resultados** IL-6, IL-6R y gp-130 se inmunolocalizaron en células endoteliales, neutrófilos y leucocitos mononucleares de lesiones no epitelizadas y epitelizadas. En las lesiones epitelizadas el complejo de señalización de IL-6 además se identificó en el epitelio proliferante y en el estrato basal del revestimiento epitelial de manera intensa. En el estrato granuloso la intensidad disminuyó y en el superficial no hubo inmunolocalización. **Conclusiones** IL-6, su receptor y gp-130 se encuentran en lesiones periapicales de origen endodóntico, específicamente leucocitos, células endoteliales y queratinocitos de lesiones epitelizadas, contribuyendo a explicar los efectos mediados por IL-6 durante la formación del revestimiento epitelial de quistes apicales.

FONDECYT 1160741

JU390

Effect of Hemoxigenase 1 modulation in the severity of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium acute and persistent infection in mice

Valentina P Sebastian¹, Geraldine A Salazar¹, Catalina Pardo-Roa¹, Bárbara M Schultz¹, Alexis M Kalergis^{1,2}, Susan M Bueno¹. ⁽¹⁾ Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Departamento de Endocrinología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Introduction. The main virulence trait of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) is the ability to avoid the immune response of the host, generating systemic and, in severe cases, persistent infections. One of the immunomodulatory molecules expressed by the host that has a role in bacterial clearance is Heme oxygenase 1 (HO-1). HO-1 is an enzyme that catalyzes heme degradation reaction releasing Fe³⁺, biliverdin and carbon monoxide (CO). The role of HO-1 production during *S. Typhimurium* infection is not clear and previous studies show contradictory results. **Aim.** In this study, we proposed to evaluate the role of HO-1 in a mouse model of acute and persistent *S. Typhimurium* infection. **Methods.** To achieve this, we induced HO-1 expression and inhibit HO-1 enzymatic activity in mice by treatment with Cobalt Protoporphyrin (CoPP) and Tin Protoporphyrin (SnPP), respectively, in mice prior to infection with *S. Typhimurium*. Weight change, clinical score, bacterial loads and survival were measured daily, and mice were euthanized at day 5 post-infection (pi) for acute infection. For persistent infection, mice were treated with antibiotic at day 3 pi for 3 weeks, and then euthanized at day 42 pi. **Results.** Our results show that infected and CoPP-treated mice (*S. Typhimurium* CoPP) and SnPP-treated (*S. Typhimurium* -CoPP) have a tendency to survive more and present a reduced clinical score, as compared to infected-untreated mice (*S. Typhimurium*-Veh). However, *S. Typhimurium*-CoPP mice decrease bacterial load at 5 days post- infection in spleen, liver and feces, in contrast to *S. Typhimurium*-SnPP mice that have similar bacterial load than *S. Typhimurium*-Veh mice. In persistence experiment, *S. Typhimurium*-CoPP mice have less bacterial load compared with *S. Typhimurium*-Veh and *S. Typhimurium*-SnPP mice. **Conclusions.** Our results suggest that HO-1 induction have an effect in bacterial clearance, survival, and persistence in mice infected with *S. Typhimurium*, indicating that HO-1 plays an important role in *S. Typhimurium* infection. Further analysis must be made to evaluate the mechanisms by which HO-1 is affecting *S. Typhimurium* infective cycle.

Founding by “Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología de Chile” (FONDECYT) 1170964; Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy P09/016-F from the Iniciativa Científica Milenio, Ministry of Economy, Chile and Government



JU391

A biological firewall: The protective role of the outer membrane vesicles against external agents

Andrés Silva¹, Pedro Marchant¹, Jan Nevermann¹, Juan A Fuentes¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Genética y Patogénesis Bacteriana, Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, CL.

Outer membrane vesicles (OMVs) are nano-sized proteo-liposomes (20–500 nm) discharged from the cell envelope of Gram-negative bacteria (GNB) in a process that does not involve cell lysis or death. Diverse analyses reveal that native OMVs exhibit component mainly derived from the outer membrane (OM) and periplasm. In pathogenic bacteria, OMVs act as vehicles carrying virulence factors during infection. Nevertheless, due to their nature, OMVs could also act as decoys for bacteriophages or lipophilic antibiotics, plausibly increasing the bacterial fitness against these harmful agents. In addition, OMVs have been extensively used as delivery systems in diverse biotechnological application, thereby an understanding of their properties will surely contribute to develop new and improved uses. Recently, we identified nine genes involved in OMVs production in *S. enterica*: *ompA*, *nlpl*, *tolR*, *rfaE*, *waaC*, *yibP*, *mrcB*, *degS* and *hns*. By means of Dynamic Light Scattering of the supernatants, we observed that the corresponding *S. Typhimurium* deletion mutants produced distinct OMVs regarding their size and abundance. In this context, we speculated that the OMVs produced by these mutants will in turn exhibit distinct properties. Thus, we mixed *S. Typhimurium* WT with the supernatant of each mutant prior a challenge with bacteriophages (P22) or antibiotics (polymyxin, chloramphenicol and kanamycin). We observed that some of the supernatants improved, at different levels, the fitness of *S. Typhimurium* against the harmful agents tested. We conclude that the genes identified are involved in the production of distinct protective agents to the supernatants, plausibly OMVs. This research opens new windows regarding the OMVs study and future biotechnological applications.

This work was funded by FONDECYT 1181638 and Proyecto Núcleo UNAB DI-1419-16/N.

Serum gastrin levels in *Helicobacter pylori* infected patients: the role of *cagA*, *vacA* and *babA* genes

Sousa Jacqueline B¹, Fonseca Fernanda M², Batista Bianca B¹, Rafael Iolanda S¹, Etchebehere Renata M³, Queiroz Dulciene M⁴, Junqueira Iracema S⁵, Oliveira Adriana G¹. ⁽¹⁾ Institute of Biological and Natural Sciences, Federal University of Triângulo Mineiro, Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, BR. ⁽²⁾ Biomedical Sciences Program, Federal University of Piauí, Campus Ministro Reis Velloso, Federal University of Piauí, Parnaíba, BR. ⁽³⁾ Surgical Pathology Service, Federal University of Triângulo Mineiro, Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, BR. ⁽⁴⁾ Department of Complementary Propedeutics, Federal University of Minas Gerais, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, BR. ⁽⁵⁾ Endoscopy Service, Federal University of Triângulo Mineiro, Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, BR.

Helicobacter pylori (HP) is a common cause of chronic gastritis in humans and the bacterium infection has been associated with the level increased of gastrin, a hormone produced in the stomach. Moreover, severe gastritis has been reported to be associated with more virulent HP strains and with high serum gastrin levels as well. Thus, the aim of this study was to determine the association between basal serum gastrin levels (BSGL) with HP infection and with bacterium virulence factors (*cagA*, *vacA* and *babA*) in patients submitted to upper gastrointestinal endoscopy in a Brazilian tertiary hospital. Blood samples were obtained from each patient under fasting conditions. Serum gastrin concentrations were performed using a chemiluminescent immunoassay. HP infection was assessed by histology, detection of 16S rRNA gene in gastric tissue, serology and 13C-urea breath test. PCR assay was performed to detect the 16S rRNA, *cagA*, *babA* genes and the genotypes of *vacA* gene. A total of 62 patients were studied being 33 (53.2%) HP positive (HP+) and 29 (46.8%) HP negative (HP-). The age of HP+ and HP- patients ranged from 22-73 years and from 29-73 years, respectively. The mean of BSGL of HP+ patients (45.55 ± 28.97 pg/mL) was significantly higher than that of HP- ones (29.75 ± 22.47 pg/mL) ($P=0.02$). The gene *cagA* was positive in 23 patients. HP+/*cagA*+ patients showed BSGL higher than those HP+/*cagA*- (49.83 ± 33.14 pg/mL and 35.32 ± 12.05 pg/mL, respectively) ($P=0.2$). No significant difference was observed in the mean BSGL comparing *vacS1* and *vacS2* (50.62 ± 33.90 pg/mL and 33.74 ± 10.89 pg/mL, respectively) patient groups ($P=0.36$) nor comparing *vacM1* and *vacM2* (45.16 ± 27.92 pg/mL and 47.37 ± 34.31 pg/mL, respectively) patients groups ($P=0.92$). In patients HP+/*babA*+ ($n=13$) the BSGL were of 48.55 ± 30.00 pg/mL and in HP+/*babA*- ($n=20$) of 43.60 ± 28.89 pg/mL ($P=0.64$). In conclusion, the findings of the present study confirm the high level of basal serum gastrin in HP+ patients. However, although a higher level of serum gastrin was observed among the *cagA* and *babA* positive patients and among that showing *vacS1* genotype, the difference was not significant in the population evaluated.

CAPES, FAPEMIG.

Avaliação da atividade antibacteriana de extratos obtidos de *Fusaea longifolia* (Aubl) Saff (Annonaceae)

Tomazeli Emilia C¹, Valladão Denia M De S², Andrighetti Carla R³, Morales Rafael L³, Ferreira Vinicius De S³, Cibele Bonacorsi¹. ⁽¹⁾ Laboratório de Análises Clínicas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso, SINOP, BR. ⁽²⁾ Laboratório de Controle de Qualidade, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso, SINOP, BR. ⁽³⁾ Laboratório de Farmacognosia, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso, SINOP, BR.

O gênero *Fusaea* (família Annonaceae) é relativamente pequeno, sendo a sua fitoquímica ainda pouco explorada. A *Fusaea longifolia* (Aubl.) Saff. é conhecida popularmente como “envira”, “envireira” e “araticum” e está distribuída em diferentes estados brasileiros, incluindo o Mato Grosso. Apesar de não haver muitos relatos sobre o uso popular desta planta, muitos gêneros e espécies da família Annonaceae apresentam potencial farmacológico promissor e podem reforçar o estudo de plantas integrantes desta família. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil fitoquímico e a atividade antibacteriana, para cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, de extratos obtidos de folhas e ramos de *Fusaea longifolia*. As folhas e os ramos da planta foram coletados no município de Sinop-MT (exsicata no. 6118 depositada no herbário Centro Norte Mato-Grossense) e, em seguida, secos, triturados e submetidos a extração por maceração com hexano, acetato de etila e metanol, sucessivamente (relação droga:solvente de 1:5/massa:volume, por 7 dias). Os extratos brutos, obtidos após evaporação dos solventes, foram submetidos a análise fitoquímica por cromatografia de camada delgada – CCD. A avaliação da atividade antibacteriana dos extratos e determinação da concentração inibitória mínima - CIM, foi realizada por técnica de microdiluição em caldo, seguindo recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI. Todos os extratos avaliados frente as cepas Gram negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. Typhimurium*) apresentaram CIM entre 1000 µg/mL e 4000 µg/mL. Os extratos acetato de etila e metanol dos ramos demonstraram melhor potencial antibacteriano para cepa de *S. aureus* com valores de CIM = 125 µg/mL e 250 µg/mL, respectivamente, e na análise fitoquímica revelaram a presença de flavonóides, taninos, terpenos, acetogeninas e/ou alcaloides. Os demais extratos, para esta mesma cepa, revelaram valores de CIM de 500 µg/mL a 1000 µg/mL. Através da análise dos resultados é possível inferir que os ramos de *F. longifolia* podem apresentar metabólitos com atividade, especialmente, para bactérias Gram positivas.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) e Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT).

JU394

Identification and characterization of genes associated to the biofilm production in *Piscirickettsia salmonis*

Rodrigo Fabián Vargas^{1,3}, Matías Vega Neira^{1,3}, Nourdin Guillermo Galindo^{2,3}, Tatiana Perez^{1,3}, Natacha Santibañez^{1,3}, Cristian Oliver^{1,3}, Johana Spies^{1,3}, Jaime Figueroa^{2,3}, Alejandro Yañez^{2,3}, Alex Romero^{1,3}. ⁽¹⁾ Biotecnología y Patología Acuática, Ciencias Veterinarias, Universidad Austral De Chile, Valdivia, CL. ⁽²⁾ Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL. ⁽³⁾ Centro FONDAP, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Universidad Austral de Chile, Valdivia, CL.

Piscirickettsia salmonis is the etiological agent of Piscirickettsiosis, disease that generates great losses in the Chilean salmon industry. *P. salmonis* produce biofilm, related with persistence and survival strategies. However, genes related to the biofilm formation have not been extensively describe for this bacterium. Therefore, the aim of this study will be first identify in silico the genes associated with biofilm formation in *P. salmonis*, and later characterize the expression of these genes in planktonic and biofilm embedded bacteria. For the identification of putative genes associated to biofilm production, genomic information of strains type LF-89 (ATCC VR-1361) and EM-90 (RefSeq: NZ_JRHP00000000), was used from GenBank. In order to predict and identify the coding sequences in the genome, Glimmer 3.04 and Transdecoder softwares tools were used and their functional annotations were carried out through KAAS server (KEGG Automatic Anotation Server). The KAAS research showed genes related to biofim formation for 3 taxonomically close bacterial species; *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. In addition, 6 genes were identified in the genome of *P. salmonis*; *luxR*, *barA*, *sigma-54* and *cheY-cheZ-cheA* operon, associated with biofilm production and distributed in different locations within the genome of each bacterial strain. From these identified genes, specific primers for PCR were designed by means of Primer designing tool (Primer-Blast, NCBI) and tested using genomic bacterial DNA. Recently, using the new genomic data available from 19 isolates of *P. salmonis*, allowed the identification of genes related to biofilm and microcolony formation, adhesion, Quorum Sensing and polysaccharide synthesis. Now we are currently focused in determinate the gene structure and genomic distribution of those new genes, and the expression analysis profiles under different culture conditions that induce biofilm formation in *P. salmonis*.

FONDECYT 1171357, FONDAP 15110027

Caracterización de una nueva especie de hongo procedente de la Antártica

Ghislaine Vasquez¹, Francisca Farias¹, Inmaculada Vaca¹, Federico Laich², Eduardo Álvarez³, Renato Chávez⁴. ⁽¹⁾ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. ⁽²⁾ Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, Tenerife, ES. ⁽³⁾ Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL. ⁽⁴⁾ Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL.

Actualmente, existen cuatro especies tipo descritas de hongos filamentosos del género *Pseudogymnoascus*. Por otro lado, los hongos de esta especie son prevalentes en la mayoría de los ambientes antárticos. Sin embargo, análisis moleculares previos realizados a estas cepas aisladas en la Antártica indican que la mayoría de ellas no pertenecen a ninguna de las cuatro especies tipo conocidas, por lo que se postula la existencia de especies nuevas del género *Pseudogymnoascus* en el territorio antártico. En este estudio, se caracterizó una cepa de *Pseudogymnoascus* aislada de una esponja marina antártica. Para el estudio macro-morfológico del hongo, se realizaron cultivos axénicos en tres medios de cultivo sólidos (SBA, OA, CMA) a cinco temperaturas distintas (5, 15, 20, 25 y 37°C). Los resultados muestran que al igual que las especies previamente conocidas, la temperatura óptima de crecimiento del hongo es de 15°C en todos los medios. Sin embargo, las características macro-morfológicas observadas (tamaño, color, forma y textura de la colonia) son muy distintas a las especies descritas. El tamaño de la colonia fue de 4,5 cm o superior en todos los medios utilizados, lo cual es mayor que lo reportado para las otras especies. Además, la colonia presenta coloración grisácea y textura algodonosa, característica distintiva respecto a las especies conocidas. Por otro lado, la observación microscópica mostró esporas pequeñas de forma piriforme, comunes en todas las especies de *Pseudogymnoascus*. Sin embargo, y a diferencia de las otras especies, las esporas de nuestra cepa muestran una coloración gris oscura, característica no reportada previamente. Finalmente, el análisis filogenético de las secuencias concatenadas de cinco marcadores moleculares reveló que este aislado se agrupa en un clado distinto a los de las especies tipo conocidas. En conjunto, todos estos resultados sugieren fuertemente que la cepa *Pseudogymnoascus* sp. analizada en este trabajo corresponde a una nueva especie no descrita dentro del género *Pseudogymnoascus*.

Este trabajo fue financiado por los proyectos INACH RG_15-14 y FONDECYT 1150894

Actividad tripanocida de extractos microalgales sobre formas infectivas para humanos de *Trypanosoma cruzi*

Rhonda Veas^{1,2}, Ana Liempi², Christian Castillo², Lisvaneth Medina², Michel Lapier³, Juan Diego Maya³, Veronica Rojas¹, Ulrike Kemmerling². ⁽¹⁾ Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, CL. ⁽²⁾ Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, CL. ⁽³⁾ Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Introducción: La enfermedad de Chagas, causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), es un problema de salud pública relevante en Latinoamérica, que afecta a aproximadamente 10 millones de personas. *T. cruzi* presenta un ciclo de vida complejo y tres formas celulares que se diferencian en cuanto a su morfología, funciones biológicas y capacidad infectiva. En el hombre se describe las formas amastigote (intracelular y replicativa) y tripomastigote (extracelular circulante, infectiva, no replicativa). Existen sólo dos drogas disponibles para el tratamiento de esta enfermedad, Nifurtimox y Benznidazol las cuales presentan baja eficacia en la fase crónica de la enfermedad y causan efectos adversos relevantes. Actualmente, existe un interés creciente por la búsqueda de compuestos anti-chagásicos de origen natural tales como compuestos bioactivos presentes en microalgas, organismos unicelulares eucariontes fotosintéticos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad tripanocida de distintos extractos microalgales sobre las formas celulares parasitarias infectivas presentes en humanos. **Metodología:** Se obtuvieron extractos etanólicos, metanólicos y acuosos de *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis oculata*, *Scenedesmus obliquus*, *Chlamydomonas reinhardtii* y *Arthrospira platensis*. Se evaluó su efecto tripanocida sobre la forma infectiva tripomastigote y la citotoxicidad en células VERO[®], mediante ensayo de viabilidad celular utilizando compuesto MTT. Adicionalmente, se determinó la citotoxicidad de los extractos sobre la forma replicativa intracelular amastigote, mediante determinación de carga de DNA parasitario por qPCR, así como el porcentaje de células infectadas mediante análisis morfológico. **Resultados:** Los extractos etanólicos de *C. reinhardtii* y *T. suecica*, así como los extractos metanólicos de *T. suecica* y *S. obliquus*: 1) Presentaron actividad tripanocida con un IC50 menor a 100 µg/ml sobre tripomastigotes, 2) No fueron citotóxicos para células de mamífero y 3) Disminuyeron el porcentaje de células infectadas por *T. cruzi*. A su vez, los extractos etanólico de *C. reinhardtii* y el metanólico de *S. obliquus* disminuyeron el número de amastigotes por célula. **Discusión y Conclusión:** Los extractos etanólicos de *C. reinhardtii*, y metanólicos de *S. obliquus* contienen compuestos con potencial como drogas tripanocidas naturales.

FONDECYT 1170379 (VR) y 1130189 (JM); DIE-PUCV 037698-36 (VR, UK), ERANETLAC ELAC2014/HID-0328 (UK), UREDES URC-024/16 (UK/JM).



JU397

G3BP1 post-translational modifications impairs HIV-1 Gag protein expression

Felipe Velásquez¹, Marcela Cayazzo¹, Josefina Marin¹, Fernando Valiente-Echeverria¹. ⁽¹⁾ Laboratory of molecular and celular virology, Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Stress granules (SGs) are translationally silent ribonucleoprotein complexes (RNPs) that assemble during various types of cellular stresses including viral infection. These SGs can be triggered by the phosphorylation of the translation initiation factor eIF2, which prevents formation of the eIF2–GTP–Met-tRNA_i complex. This inhibits protein synthesis and leads to the accumulation of heterogeneous mRNAs, translation initiation factors and other RNA- binding proteins as Ras-GAP SH3 domain-binding protein (G3BP1). Nevertheless, the G3BP1-mediated stress granules assembly is regulated by post-translational modifications over G3BP1, as serine phosphorylation. Overexpressed wild type G3BP1 induce the spontaneous assembly of SGs likewise non-phosphorilable mutant (S149A), as long as, phospho-mimetic mutant of phosphorylation at serine 149 (Ser 149E) do not induce SGs assembly. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) is the etiologic agent of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). A feature of this viral infection is that HIV-1 blocks SG assembly in an eIF2a phosphorylation (eIF2a-P) independent manner, and even when the SGs assembly is forced by overexpression G3BP1. The Hiv-1 protein Gag, interact with the translation elongation factor eEF2 and impair SGs assemble. Moreover, Gag disassembles preformed SGs by recruiting G3BP1. In this work, we focus on G3BP1 modifications and its effects on viral proteins expression. We evaluated the ability of different G3BP1-serine mutant to promote SGs assembly and inhibit HIV-1 Gag expression, in a HIV-1 proviral plasmid-expressing cells. Surprisingly we found that in Gag-expressing Hela cells, transfected with phospho-mimetic G3BP1-S149E mutant (SGs assembly blocker), Gag expression is diminished. This work opens new questions, about how HIV-1 could manipulate not only proteins, but the modifications on these to take advantage of the cellular machinery. Understanding how Gag from HIV-1 manipulates host stress responses will lay the groundwork for new therapeutic strategies to bolster host cell immune defenses against the virus.

This work is supported by FONDECYT 11140502 and FONDECYT 1180798

Características promotoras del crecimiento vegetal de hongos de origen antártico

Camila Fernández¹, Isabel Méndez ¹, Valentina Fritz¹, Milko Jorquera², Daniela Tapia², Paola Durán². ⁽¹⁾ Estudiante Bioquímica, Universidad de La Frontera Temuco, Temuco, CL ⁽²⁾ Laboratorio de Investigación en Biocontrol, Nucleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Universidad de La Frontera, Temuco, CL.

La Antártica es el continente más austral de la tierra, se caracteriza por ser el más frío, seco y con vientos más intensos, donde logran sobrevivir los organismos más adaptados a estas condiciones. En este continente existe una gran diversidad microbiana como bacterias, hongos y protistas. Las asociaciones entre plantas y hongos promotores del crecimiento (PGPF) han demostrado ser muy beneficiosas, debido a que estos hongos potencian el crecimiento de las plantas, mejoran la disponibilidad o la absorción de minerales, ayudan a la producción de hormonas y las protegen de patógenos. Los PGPF son cada vez más estudiados, por lo que el objetivo fue determinar características promotoras del crecimiento vegetal de 14 géneros de hongos de origen antártico perteneciente a las siguientes especies: *Penicillium commune*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Lambertella viburni*, *Cadophora malorum*, *Mortierella* sp., *Onygenales* sp., *Geomyces* sp., *Vishniacozyma victorie*, *Rhizopus microsporus*, *Uncultured fungus*, *Tetracladium* sp., *Leptosphaeria veronicae*, *Lecanicillium attenuatum*, *Thelebolus* sp. Los que fueron aislados en la Expedición Científica Antártica ECA-53. Los hongos fueron replicados en agar PDA y se cultivaron a 4°C. La capacidad cualitativa de solubilizar fósforo se determinó en medio NBRIP. La producción de sideróforos se analizó cuantitativamente, los hongos fueron cultivados en medio succinato libre de hierro para posteriormente agregar la solución CAS y medir la absorbancia a 630 nm. La capacidad de producir ácido indol acético (AIA) se evaluó mediante el ensayo de Salkowski luego de una semana de incubación en PDA con triptófano. Tras una semana de incubación en el medio NBRIP los hongos *Lecanicillium attenuatum*, *Tetracladium* sp., *Rhizopus microsporus*, y *Thelebolus* sp. fueron los que presentaron capacidad para solubilizar fósforo. Los hongos *Thelebolus* sp. y *Vishniacozyma victorie*, produjeron un 75,24% y 60,82% respectivamente de unidades de sideróforos. En el caso de la producción de AIA *Cadophora malorum*, presentó mayor producción de esta hormona con una concentración de 16 µg mL⁻¹. De acuerdo a lo anterior, un 43% de los hongos demostraron tener características PGPF, demostrando tener un potencial uso como bioproductos en agricultura. Sin embargo, es necesario evaluar su potencialidad en plantas.

Financiado (parcialmente) por la Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera y el proyecto INACH RT_02-16

JU399

Películas híbridas de nanopartículas de cobre cero y biopolímeros obtenidas por spray pirólisis, con actividad biocida

Valezka Del Pilar Alcayaga¹, Sandra Fuentes², Martha Hengst. ⁽¹⁾ Doctorado en Ciencias Biológicas, Ciencias de la salud, Universidad De Antofagasta, Antofagasta, CL. ⁽²⁾ Ciencias Farmacéuticas, Ciencias, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, CL.

Las bacterias son un grupo microorganismos ubicuo que habitan prácticamente cualquier ecosistema, e inclusive forman parte de la microbiota normal en el ser humano. Una fracción minoritaria de las bacterias son patógenas y pueden causar enfermedades infecciosas. La sobreexposición de estas bacterias a agentes antimicrobianos como los antibióticos, ha generado la aparición de cepas resistentes (BR) y/o multiresistentes (BMR), lo que constituye un problema de salud pública. Las BR y BMR adquieren especial relevancia en instituciones de salud, donde la presencia de enfermedades de base en los pacientes puede favorecer el contagio y comprometer gravemente el bienestar de las personas. El Cu posee amplias propiedades como biocida para eliminar bacterias, hongos y virus. Chile es potencia mundial en la producción de Cu y abarca cerca del 35% del mercado mundial; sin embargo, aún la inversión en productos con valor agregado basado en el uso de Cu es baja. El uso de tecnologías basadas en Cu para el control de patógenos en Chile, está en una etapa de desarrollo primario. Considerando que i) la ocurrencia de microorganismos patógenos multi-resistentes a antibióticos está en aumento y que, ii) el Cu posee propiedades como biocida; en esta investigación se realizó la síntesis, caracterización, encapsulación y evaluación de propiedades químicas y físicas de nanopartículas de cobre (NPs-Cu(0)) como estrategia antimicrobiana. Para ello, las NPs fueron sintetizadas con el método de poliol y su posterior encapsulación fue realizada por spray pirólisis, que consiste en atomizar una solución precursora por medio de un gas neutro de modo que llegue al sustrato en forma de pequeñas gotitas. Los polímeros quitosano y gelatina, son utilizados como recubrimiento de las NPs para formar una película con actividad antimicrobiana. Las NPs son caracterizadas por técnicas físicas y químicas y la actividad antimicrobiana se evaluó por medio del recuento UFC. Se confirmó que el mayor porcentaje de NPS obtenidas fueron de Cu en estado de oxidación (0). Se realizó la encapsulación de las NPs en una matriz híbrida demostrando una estabilidad a la oxidación en el tiempo y que esta presentó actividad inhibitoria frente a la cepa *S.aureus* ATCC 25923.

Proyectos Basal CeBiB FB0001 y CEDENNA FB0807.

Aplicação de *Fomitopsis cupreorosea* URM 6830 no biotratamento de efluente Têxtil

LIRA Diana Duarte¹, De Araújo Eduardo Marques¹, Galindo Hugo Marques¹, De Santana Raphael Carlos Ferrer², De Oliveira Thales Henrique Barbosa³, Silva Pérsio Alexandre⁴, Da Conceição Emanuella Maria², De Melo Erik Jonne Vieira¹, De Miranda Rita De Cássia Mendonça⁵, Da Silva Leonor Alves Oliveira⁴, De Gusmão Norma Buarque¹. ⁽¹⁾ Programa de pós-graduação em Biologia de Fungos, Centro de Biociências, universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽²⁾ Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Biociências, universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽³⁾ Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, Centro de Biociências, universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽⁴⁾ Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, universidade Federal de Pernambuco, Recife, BR. ⁽⁵⁾ Pós-graduação Mestrado em Meio Ambiente, Universidade Ceuma, São Luis, BR.

Efluentes provenientes de lavanderias industriais têxteis apresentam um potencial poluidor de ecossistemas aquáticos. Estes além de modificarem a coloração das águas, prejudicam os processos fotossintéticos e causam nos organismos efeitos carcinogênicos e mutagênicos. O tratamento por fungos são eficientes na remoção da cor destes efluentes, visto que são produtores de enzimas capazes mineralizar corantes presentes em efluentes. O objetivo deste trabalho foi determinar a melhor condição nutricional para biotratamento de efluente têxtil, pelo fungo *Fomitopsis cupreorosea* URM 6830. Desta forma, o experimento foi realizado em duas etapas, a primeira com as seguintes condições: frascos Erlenmeyers (250 mL) contendo 50 mL de efluente têxtil + 0,02% de extrato de levedura + três blocos de gelose de *F. cupreorosea* URM 6830 (meio ágar Sabouraud, 30°C, 7 dias de crescimento); a segunda, após o primeiro ensaio ao efluente têxtil foi adicionado 0,35 g/L de extrato de levedura; 0,06 g/L de MnSO₄; 0,015g/L de CuSO₄; 0,04 g/L de FeSO₄ e 1,0 g/L de KH₂PO₄ + três blocos de gelose de *F. cupreorosea* URM 6830 (meio ágar Sabouraud, 30°C, 7 dias de crescimento). Todos os experimentos foram realizados em triplicata e incubados por sete dias a 30°C em condições estacionárias. Ao final do processo foram analisados as atividades dos complexos enzimáticos lacases (Lac), lignina peroxidases (LiP) e manganês peroxidases (MnP) e os percentuais de descoloração do efluente através de reduções de absorbâncias espectrofotométricas. Na primeira condição do tratamento obtivemos 150,88 UL-1 de Lac; 3,58 UL-1 de LiP e 0,86 UL-1 de MnP e um percentual de descoloração de 67,49%. Na segunda condição, os resultados mostram aumento da produção lacase com 417,47 UL-1, mas uma diminuição de lignina peroxidase para 0,11 UL-1, não foi detectada atividade de MnP e um percentual de descoloração de 86,38%. Diante dos resultados pode-se afirmar que a adição de nutrientes ao meio de cultivo aumentou 170% à produção da enzima lacase consequentemente a descoloração do efluente têxtil. Esta enzima apresenta grande potencial para tratamento de corantes e efluentes têxteis. Concluímos que *Fomitopsis cupreorosea* é promissor para descoloração de efluentes têxteis.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

JU401

Transformación de 2,4-DNT y TNT individualmente y en mezcla por bacterias aisladas a partir de cultivos de enriquecimiento con TNT

Hernán Darío Avellaneda¹, Fabio Roldán ¹, Ziv Arbeli¹, Wilson Terán². ⁽¹⁾ Unidad de Saneamiento y Biotecnología ambiental, Biología, Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, CO. ⁽²⁾ Biología de Plantas y Sistemas Productivos, Biología, Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, CO.

El 2,4-DNT y el TNT son compuestos nitroaromáticos tóxicos utilizados en la industria y que suelen encontrarse simultáneamente en sitios contaminados con explosivos. La biorremediación es utilizada para tratar estos sitios debido a la habilidad de algunas bacterias para degradar 2,4-DNT o TNT. Sin embargo, muchas de las bacterias utilizadas han sido aisladas de cultivos de enriquecimiento específicos (p.e., degradadores de 2,4-DNT son aislados con 2,4-DNT como presión de selección). El objetivo de este estudio fue evaluar la degradación de 2,4-DNT y TNT individualmente y en mezcla por las cepas *Raoultella planticola* M30b y *Rhizobium radiobacter* M109c aisladas de cultivos de enriquecimiento con TNT a partir de suelos contaminados con explosivos. *R. planticola* M30b y *R. radiobacter* M109c fueron cultivadas bajo diferentes condiciones: a) 2,4-DNT como única fuente de carbono y nitrógeno, b) TNT como única fuente de nitrógeno, c) mezcla de 2,4-DNT y TNT y d) mezcla de 2,4-DNT y TNT con adición de FC (glucosa, citrato de sodio, acetato de sodio y glicerol) al día 7. Se monitoreó la concentración de 2,4-DNT y TNT. Se generaron bibliotecas genómica de M30b y M109c en *E. coli* y se evaluó la degradación de 2,4-DNT de los clones. En presencia del compuesto individual, M30b y M109c degradaron 2,4-DNT y TNT. En presencia de ambos compuestos, M109c degradó 2,4-DNT y TNT. En contraste, M30b perdió la capacidad para degradar 2,4-DNT y TNT cuando fue cultivada en presencia de ambos sin adición de FC. Con la adición al día 7, M30b degradó TNT pero no 2,4-DNT. Estos resultados sugieren que la presencia de TNT, en M30b, inhibe la transformación del 2,4-DNT. Se obtuvo un clon de cada librería capaz de degradar 2,4-DNT. Nuestros hallazgos indican que los cultivos de enriquecimiento con TNT pueden ser usados para aislar degradadores de 2,4-DNT. La cepa *R. radiobacter* M109c puede ser usada para remediar sitios contaminados con mezclas de 2,4-DNT y TNT debido a su capacidad para degradar ambos compuestos simultáneamente sin adición de otras fuentes de carbono ni nitrógeno. Este es el primer reporte de bacterias degradadoras de 2,4-DNT aisladas de cultivos de enriquecimiento con TNT.

Este trabajo fue financiado por INDUMIL, COLCIENCIAS y la Pontificia Universidad Javeriana. Los autores agradecen a los Drs. Johanna Husserl y Howar Junca por contribuir con su conocimiento al desarrollo de este proyecto.

JU402

Evaluación inmunológica de una vacuna quimérica de ADN basada en los marcos de lectura abiertos BAB1_0270, BAB1_0267 y el gen sodC de *Brucella abortus* 2308

Manuel Flores¹, Raúl Molina¹, Ángel Oñate¹. ⁽¹⁾ Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, CL.

Las bacterias de la especie *Brucella abortus*, patógenos intracelulares de bovinos y humanos, han adquirido a lo largo de su evolución una serie de herramientas que le permiten colonizar a su hospedero y establecer una relación parasitaria con las células de éste. Durante esta interacción se manifiestan una serie de síntomas negativos en el hospedero denominados en su conjunto como brucelosis, una zoonosis por excelencia. Por décadas, la vacunación ha sido una exitosa estrategia de prevención y control de esta enfermedad, sin embargo, las vacunas licenciadas se basan en cepas vivas atenuadas que son patógenas para los humanos. Por lo tanto, en la búsqueda de una vacuna efectiva y segura para prevenir la brucelosis, se ha implementado la inmunización con ADN. Estas vacunas permiten expresar diversos antígenos en el hospedero e inducir fuertes respuestas inmunes del tipo Th1, inmunidad efectiva contra este tipo de patógeno. En este contexto, estudios previos han reportado que los marcos de lectura abiertos BAB1_0267, BAB1_0270 y el gen sodC, codificados en el genoma de *B. abortus* son claves en la virulencia de la bacteria, siendo también inmunogénicos. Debido a estas características se procedió a diseñar una vacuna quimérica de ADN basada en estos tres genes (denominada pV-s22) y evaluar su eficacia inmunogénica y protectora en un modelo murino. Los resultados mostraron que en ratones BALB/c inmunizados con la vacuna pV-s22, se indujo una elevada producción de IgG2a, un isotipo secretado durante la respuesta inmune de tipo Th1. Además, se registró un aumento significativo en la linfoproliferación de los esplenocitos procedentes de ratones vacunados con pV-s22. No obstante a la proliferación de esplenocitos, éstos no produjeron un perfil definido de las citoquinas interferón gama (INF- γ) y factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α). Finalmente, los ratones inmunizados fueron desafiados con la cepa patógena *B. abortus* 2308, registrándose niveles de protección significativos. Por lo tanto, de acuerdo a los resultados descritos, la vacuna quimérica pV-s22 es una potencial alternativa para prevenir la brucelosis, la cual carece de los inconvenientes asociados a las vacunas comerciales.

Proyecto FONDECYT 1180122



JU403

Bacterias en nuestro colegio

María Isidora Villablanca y Florencia Romero. Colegio El Bosque, Provincia Cordillera de Puento Alto.

Las bacterias son organismos unicelulares microscópicos, sin núcleo ni clorofila, que pueden presentarse desnudas o con una cápsula gelatinosa, aisladas o en grupos y que pueden tener cilios o flagelos. Aunque el término de bacteria proviene de bastón, las bacterias pueden tener forma de barra, esfera o hélice. Las bacterias pueden vivir en cualquier hábitat; incluso algunas especies sobreviven en el espacio exterior. Estas características convierten a las bacterias en el organismo más abundante del mundo: pueden convivir 40 millones de células bacterianas en apenas un gramo de tierra. La mayoría de las bacterias son inofensivas o, incluso, beneficiosas (ayudan a la digestión, por ejemplo). Sin embargo, ciertas bacterias pueden causar enfermedades de gravedad como la tuberculosis, la lepra y el cólera. De acuerdo a los antecedentes anteriormente expuestos es que nos propusimos como objetivo identificar en qué lugar de nuestro colegio existe una mayor cantidad de bacterias. Ante esto nos preguntamos ¿En qué lugar del colegio hay un mayor número de bacterias? Resultados: No se comprobó una directa relación entre la frecuencia en que son transitados los lugares del establecimiento y el desarrollo de las bacterias, esto debido que es importante considerar factores como el horario en el que fueron tomadas las muestras y la frecuencia en que estos lugares fueron desinfectados.

Profesora: María Jesus Ávila Tobar

Asesoras Científicas: María José Gallardo Nelson (mjgn23@gmail.com) y Verónica García (vagarcia1977@gmail.com)



JU404

La luz UV un agente antimicrobial en aguas contaminadas

Oswaldo Jerez y Benjamín Ramírez. Colegio El Bosque, Provincia Cordillera de Puente Alto.

El propósito de este trabajo de investigación es desarrollar un sistema tecnológico eficiente y de bajo costo que permita disminuir el crecimiento microbiano en las aguas contaminadas, principalmente en zonas rurales, con escasez de agua y de recursos económicos. Es preocupante el alto nivel de contaminación presente en los ríos y lagos de Chile, situación que nos lleva a formularnos la siguiente pregunta ¿Es posible eliminar o disminuir el desarrollo bacteriano en las aguas contaminadas de nuestro país a un bajo costo? Pregunta que nos lleva a formularnos la siguiente hipótesis: “La luz ultravioleta permite una eliminación o disminución del desarrollo bacteriano en aguas contaminadas”, siendo el objetivo principal de este trabajo de investigación la disminución del desarrollo bacteriano en aguas contaminadas a través de la luz ultravioleta. La metodología utilizada en el desarrollo de este trabajo de investigación es la siguiente: Se analizaron dos muestras de agua contaminada, utilizando un “analizador de agua”, el cual fue elaborado utilizando placas de Arduino. Estas muestras de agua, fueron expuestas a los efectos de la luz UVC, durante intervalos de tiempo de 2, 4, 6 y 8 horas. Se realizaron cultivos de colonias de bacterias en placas Petri, utilizando las muestras de agua seleccionadas, con y sin exposición a la luz UVC. Como resultado, observamos que al cabo de 2 horas la Luz UVC disminuye el desarrollo bacteriano en aquellas aguas contaminadas con un índice de turbidez bajo, en aguas con un alto nivel de partículas en suspensión, es necesario un mayor tiempo de exposición a la luz UVC.

Profesora: María Jesús Ávila Tobar

Asesoras Científicas: María José Gallardo Nelson (mjgn23@gmail.com) y Verónica García (vagarcia1977@gmail.com)



JU405

Efecto antimicrobiano de extractos obtenidos desde cilantro, ajo y perejil sobre bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*

Anahí Antonella Ulloa Cabello y Margarita Belén Miranda Molina. Colegio Salesiano Domingo Savio, San Ramón, Santiago, Chile, CL

El uso de productos naturales con fines medicinales y/o terapéuticos es hoy por hoy cada vez más común, entre ellos se destacan algunas hortalizas como el ajo, el perejil y el cilantro. Es en este contexto que surgió la pregunta de investigación que fue el eje del estudio, la cual tuvo la intención de conocer ¿Cuál es el efecto del cilantro, ajo y perejil sobre las bacterias *E. coli* y *S. aureus*?, microorganismos presentes en el cuerpo humano que pueden provocar grandes enfermedades. El objetivo del estudio era determinar la capacidad antimicrobiana de las plantas frente a estas bacterias, teniendo como hipótesis que los extractos de las hortalizas afectaban el crecimiento normal de los microorganismos ya mencionados. Para ello, se escogió una metodología cuantitativa experimental, de la cual se desplegaron diversos objetivos que apuntaban en un primer momento en obtener extractos acuosos de cada una de las hortalizas participantes, para luego determinar a través de ensayos la concentración inhibitoria mínima de cada planta y su zona de inhibición del crecimiento; a su vez fueron comparadas con productos de comercialización tradicional como lo es Clorinda[®] y Lysoform[®]. Los resultados obtenidos de la parte experimental del estudio arrojaron que las hortalizas cilantro y perejil no tenían un efecto inhibitorio significativo en ambas bacterias; pero quien sí obtuvo un efecto en el crecimiento de la bacteria *S. aureus* fue el ajo.

Profesora: Victoria Jaramillo (vjaramillo@domingosavio.cl)

Asesor Científico: Nelson Caro (ncaro@australbiotech.cl)



JU406

Microorganismos en nuestra comunidad escolar ¿En qué etapa escolar habrá más abundancia y diversidad de microorganismos?

Antonia Osorio Roa, Isaac Donoso Guerrero, Camila Serrano Donoso, Kamila Muñoz Paez, Catalina Oyarce Lecaros, Javiera Riffo Villarroel, Anays Cáceres Pavez. Colegio los Pensamientos de La Granja, La Granja, Santiago, Chile, CL.

En el colegio conviven niños de distintas etapas escolares (1^{er}, 2^{do} y 3^{er} ciclo) y vemos a diario que los niños más pequeños juegan y se ensucian más con tierra en comparación con los estudiantes de niveles superiores. Es por esto que quisimos saber ¿en qué etapa de la vida escolar se pueden encontrar más microorganismos en el cuerpo humano? Nuestra hipótesis es: los adolescentes (3^{er} ciclo) presentan menos microorganismos en comparación a los estudiantes de las etapas de la niñez (1^{er} ciclo) y la preadolescencia (2^{do} ciclo). Nuestra estrategia experimental consistió en tomar muestras de la superficie de manos y del interior de la boca a dos estudiantes de distinto sexo, de cursos representativos de cada etapa escolar: kinder (1^{er} ciclo), 6^{to} básico (2^{do} ciclo) y 4^{to} medio (3^{er} ciclo). Las muestras se sembraron en placas de agar triptona de soya (TSA) con sangre de cordero y se dejaron a temperatura ambiente durante una semana en el laboratorio del colegio. Luego analizamos la presencia de colonias y registramos en tablas la cantidad y diversidad de microorganismos. Observamos el crecimiento de diversas colonias en cuanto a color, tamaño y morfología, así como también el crecimiento de algunos hongos. No hubo grandes diferencias entre la abundancia y diversidad de microorganismos que encontramos entre los distintos niveles. Sin embargo, hay una tendencia a encontrar más y diversos microorganismos en los alumnos del 2^{do} ciclo (principalmente en manos). También encontramos más abundancia en las muestras de boca en comparación a las de manos. En conclusión, nuestra hipótesis no se aprobó ya que fueron los niños del 2^{do} ciclo los que presentaron mayor número de microorganismos y no así los más pequeños (kinder, 1^{er} ciclo). Creemos que esto se debe a que a los niños de kinder están constantemente recibiendo estímulos/órdenes para que mantengan una buena higiene personal y están constantemente lavándose las manos. En cambio ya más grandes estos estudiantes tienden a olvidarse de estos hábitos de higiene básicos del día a día.

Profesora: Karla Riquelme Contreras (karlariquelmec@gmail.com)

Asesora Científica: Paula Bustamante (paulac_ba@yahoo.com)

JU407

Evaluation of the influence of temperature and agitation on the production of prodigiosin by *Serratia marcescens* UCP 1549 using corn meal

Lucas Rosendo Silva¹, Antônio Pinho Sá¹, Rosileide F.S Andrade², Dayana Montero Rodrigues², Davi Lima Cavalcanti³, Daylin Rubio Ribeaux³, Adriana Ferreira Souza⁴, Galba Maria Campos-Tak⁵. ⁽¹⁾ Graduation in Chemical Engineering, Catholic University of Pernambuco, 50050-900, Recife, PE, Brazil. ⁽²⁾ National Postdoctoral Program (PNPD-CAPES), Post-Graduate Program in Environmental Process Development, Catholic University of Pernambuco, 50050-900, Recife, PE, Brazil. ⁽³⁾ Post-graduation Program in Biological Sciences, Federal University of Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil. ⁽⁴⁾ Northeast Network for Biotechnology Post -graduation Program, Federal Rural University of Pernambuco, 52171-900, Recife, PE, Brazil. ⁽⁵⁾ Nucleus of Research and Environmental Sciences and Biotechnology (NPCIAMB), Catholic University of Pernambuco, 50050-900, Recife, PE, Brazil.

The prodigiosin is a red natural pigment produced by *Serratia marcescens* that has potential in therapeutic area due its immunosuppressive, antimicrobial and antitumor characteristics. The industrial production of prodigiosin is limited by the high process cost. The aim of this study was produce prodigiosin by *S. marcescens* UCP 1549 from corn bran. In addition, the influence of temperature and agitation in the process was investigated. The production was performed in Erlenmeyers flasks containing 100 mL of salt solution and corn bran (1%) during 72h. The temperature and agitation was investigated according with factorial design 2². Then, the metabolic liquid was centrifuged and the biomass obtained was washed, lyophilized and quantified. The prodigiosin extraction was performed from the biomass using chloroform and methanol (2:1, 1:1 and 1:2, v/v). According to the results, the growth of *S. marcescens* UCP 1549 was verified in all conditions tested with maximum yield in condition 4 (31°C and 200 rpm) of the factorial design (8.14 g/L). Pigment production was observed in all conditions of the factorial design with maximum yield (232 mg/g of biomass) in condition 2 (31°C and 100 rpm). The Pareto diagram showed that the temperature and agitation variables were statistically significant for the pigment production. The present study showed that the temperature and agitation are the variables that more influence on the increase of pigment production by *Serratia marcescens*, which makes the process more economical and competitive for the industry.

JU408

Characterization of a new thermostable amine-transaminase from the Antarctic moderately-thermophilic bacterium *Albidovulum* sp. SLM16

Marquez Sebastian L.¹, Blamey Jenny M.². ⁽¹⁾ Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Fundación Científica y Cultural Biociencia, Santiago, CL.

Amine-transaminases (ATAs) are enzymes that catalyze the reversible transfer of an amino group between primary amines and carbonyl compounds (generally ketones) that have been widely studied in the last decades for their application in stereoselective synthesis of chiral amines, one of the most valuable building blocks for the production of pharmaceuticals. Advantageous properties such as excellent enantioselectivity, high catalytic constants, the use of low-cost substrates and no need for cofactor recycling has turned these enzymes into an excellent biocatalytic alternative to the conventional methods of chemical synthesis for obtaining chiral amines. Nevertheless, the number of these enzymes that can be applied directly in industrial processes remains limited because most currently available ATAs are scarcely tolerant to harsh reaction conditions such as high temperatures and presence of organic solvents and also suffer from unfavorable equilibrium. A novel (S)-amine-transaminase was discovered in a thermophilic microorganism screened and isolated from an Antarctic environmental sample (*Albidovulum* sp. SLM16). The gene encoding the transaminase was identified in the genome of the microorganism, cloned and overexpressed in *Escherichia coli* for biochemical characterization. The optimum temperature and pH for the recombinant ATA activity were 65 °C and 9.5, respectively. The enzymatic activity under optimal conditions was 33 U/mg and the catalytic efficiency (k_{cat}/K_M) for the transamination of (S)- α -methylbenzylamine and pyruvate as substrates was 55.8 s⁻¹mM⁻¹. Purified ATA_SLM16 eluted with an apparent molecular of 75 kDa on size exclusion chromatography. Its subunits were estimated to be ~37 kDa by SDS-PAGE, suggesting a homodimeric structure. The enzyme showed low substrate/product inhibition and good tolerance to organic solvents. Additionally, substrate specificity was in good agreement with the expected theoretical behavior for (S)-amine-TAs. Finally, the enzyme turned out to be exceptionally thermostable, keeping 80 % of its activity after 5 days of incubation at 50 °C. The obtained results indicate that ATA_SLM16 is an excellent candidate for potential applications in biocatalytic synthesis of chiral amines at high temperatures.

Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT), Programa Doctorado Nacional 2012



Viernes 16 de Noviembre 2018

CONFERENCIAS



PLE10 - Auspiciada por ASOCHIN

Endogenous glucocorticoids suppress spontaneous gastric inflammation and spasmodic polypeptide expressing metaplasia in mice

Jon Busada, PHD¹. ⁽¹⁾ Senior Investigator, Signal Transduction Laboratory / Molecular Endocrinology Group. NIEHS (National Institute of Environmental Health Sciences). NIH Intramural Research Program, NC, USA. Chief of the Signal Transduction Laboratory and head of the Molecular Endocrinology Group.

Web site: <https://irp.nih.gov/pi/john-cidlowski>

Gastric cancer is the third leading cause of cancer deaths world-wide. Chronic inflammation causes mucosal damage and metaplasia and creates a favorable environment for the evolution of gastric cancer. Despite the established role inflammation plays in the development of metaplasia and gastric cancer, the mechanisms that regulate gastric inflammation remain unclear. Glucocorticoids are steroid hormones that are synthesized by the adrenal glands and exert potent anti-inflammatory effects. Synthetic glucocorticoids are a clinical mainstay for treating inflammatory diseases of the gastrointestinal tract, however, almost nothing is known concerning the actions of endogenous glucocorticoids in the stomach. In this study, we tested the hypothesis that endogenous glucocorticoids are required to suppress gastric inflammation and prevent metaplasia development. Removal of endogenous glucocorticoids by adrenalectomy resulted in rapid infiltration of the gastric corpus by macrophages and eosinophils. Inflammation was followed by the development of spasmodic polypeptide expressing metaplasia (SPEM) which is a common precursor of gastric cancer in humans. RNA sequencing of the gastric corpus 3-days post-adrenalectomy, which precedes leukocyte infiltration and histological changes of the gastric mucosa, revealed massive upregulation of proinflammatory genes. To determine how discrete leukocyte populations contribute to SPEM development, we adrenalectomized Rag1 knockout mice that lack B and T cells, Gata1 mutant mice that lack eosinophils, and wild type mice treated with clodronate to deplete macrophages. SPEM development in B and T cell deficient and eosinophil deficient mice was indistinguishable from wild type mice. In contrast, macrophage depletion prevented SPEM development. Our results indicate that the stomach is highly reliant on the action of endogenous glucocorticoids to suppress the expression of proinflammatory gene products and the recruitment of macrophages. Disruption of glucocorticoid signaling results in SPEM that may increase the risk of gastric cancer. Furthermore, this study is the first to explain the age-old clinical finding that gastric inflammation is associated with adrenal insufficiency.



PLE11

Evolution of Salmonella: Adaptation to different environmental niches CRISPR-Cas systems: fascinating biology and limitless applications

Eugene V Koonin¹. ⁽¹⁾ National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20894, USA.

CRISPR-Cas systems represent the new generation of genome editing and regulation tools that have rapidly revolutionized the practice of genome engineering. However, CRISPR-Cas is much more than that. It is a system of microbial adaptive immunity the existence of which has not been suspected until recently and that embodies the Lamarckian principle of evolution by inheritance of acquired characters. The evolutionary history of CRISPR-Cas systems themselves is also remarkable, revealing surprising, multiple connections between parasitic genetic elements and host defense. I will discuss the biology and evolution of CRISPR-Cas and the molecular features that make these microbial defense systems uniquely efficient as genome editing tools.



PLE11

The adaptation pathway of CRISPR-Cas

Francisco JM Mojica¹, Noemí M Guzmán¹, Enrique Viguera², Cristóbal Almendros³, Rafael Maldonado¹, Jesús García-Martínez¹. ⁽¹⁾ Universidad de Alicante. ⁽²⁾ Universidad de Málaga. ⁽³⁾ Delft University of Technology.

Email: fmojica@ua.es

Web: <https://imem.ua.es/en/about-us/francisco-juan-martinez-mojica.html>

Many prokaryotes utilize Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR) and CRISPR associated (Cas) proteins to interfere with the propagation of foreign nucleic acids through an adaptive mechanism. In summary, fragments of mobile DNA incorporated as spacers between the repeats in a CRISPR locus during the adaptation stage, serve as guides to Cas proteins for recognition and cleavage of spacer-matching sequences in the interference stage. Hence, the selection of spacers will determine the identity of the targets to be destroyed. At present, the mechanism by which spacer precursors are selected is not fully understood and fundamental differences among the diverse CRISPR-Cas classes and types are envisaged at this respect. However, the process invariably involves the Cas1 and Cas2 proteins and, at least in *Escherichia coli*, genome replication appears to generate DNA fragments that Cas1-Cas2 adaptation complexes bind and integrate into the CRISPR array. Moreover, it has been proposed that copy number of potential donor DNA dictates how often spacers are acquired from that molecule. To address these issues, we have recently performed in vivo acquisition assays with two CRISPR-Cas systems in *E. coli* strains. Even though both systems belong to the same subtype (referred to as I-E), they differ significantly in the sequence of the associated cas1 and cas2 genes, being recognized as distinct CRISPR-Cas variants. Our data clearly demonstrate that each variant has a different preference for particular molecules as spacer-donors, and that this predilection does not correlate with the abundance of the potential donor DNA. These results offer a novel perspective on the adaptation process, and show that CRISPR-Cas variants pertaining to the same subtype may contribute in a different way to the immunity of the carrier strain.

The authors are supported by grants BIO2014-53029-P (Ministerio de Economía y Competitividad, Spain), 291815 Era-Net ANIHWA (7th Framework Programme, European Commission) and PROMETEO/2017/129 (Conselleria d'Educació, Investigació, Cultura i Esport, Generalitat Valenciana, Spain).



Viernes 16 de Noviembre 2018

SIMPOSIOS



SMP37.1

Phylogenetic and Metabolic Diversity of the Prokaryotic Community in Saline Soils versus Aquatic Hypersaline Habitats

Antonio Ventosa¹, Blanca Vera-Gargallo¹, María José Leon¹, Rafael R. De La Haba¹, Cristina Sánchez-Porro¹. ⁽¹⁾ Department of Microbiology and Parasitology, University of Sevilla, 41012 Sevilla, Spain.

Hypersaline environments are examples of extreme habitats that are characterized by their high salt concentrations, which combined with other environmental factors limit the life to a reduced biota. They include aquatic and terrestrial habitats. While hypersaline lakes and salterns have been thoroughly studied, limited information is currently available about the microbiota and ecology of saline soils. This scarce information makes difficult to predict the changes in microbial communities associated to soil salinization, an increasing problem linked to the climate change and the extensive agricultural practices. In order to improve our understanding of the microbial communities in saline soils, we have assessed the phylogenetic diversity and metabolic potential of the prokaryotic microbial community in hypersaline soils located in the Odiel saltmarshes area in Southwest Spain by means of shotgun metagenomics. On the other hand, since we have previous extensive metagenomic data from hypersaline aquatic systems, mainly from marine salterns, obtained using the same methodologies, we have compared the results in order to determine the factors influencing the microbial biota of terrestrial versus aquatic hypersaline habitats. The comparison of these data shows that saline soils harbour a more diverse microbial community, comprising at least 29 different phyla, in contrast to the 8-9 phyla represented in the ponds of the salterns previously studied. While the majority of phyla and more abundant inhabitants of these saline soils include well recognized halophilic bacteria and archaea, belonging to the Euryarchaeota, Bacteroidetes, Rhodothermaeota and the non-yet-cultivated Nanohaloarchaea, our data support that some microbial taxa might be highly adapted to aquatic habitats, as is the case of the square haloarchaeon *Haloquadratum* and the gammaproteobacterium *Spiribacter*. In contrast, the soil structure may provide an environment to microbes having a wider tolerance to the salinity. In addition, we have reconstructed some genomes from saline soil metagenomics databases, which are affiliated to Balneolaeota and Bacteroidetes, permitting us to determine their phylogenetic relationships, metabolic abilities and abundance in hypersaline habitats. The metabolic capabilities of prokaryotes present in saline soils are also associated to the properties and structure of this habitat, in contrast to those found for aquatic archaea and bacteria abundant in ponds of solar salterns.

This study was supported by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) (project CGL2017-83385-P) and the Junta de Andalucía (Spain), both included European (FEDER) funds.



SMP37.2

Microbiology of oilfield ecosystems

Bernard Ollivier¹. ⁽¹⁾ Aix-Marseille Université, Université du Sud Toulon-Var, CNRS/INSU, IRD, Mediterranean Institute of Oceanography (MIO), UM 110, 13288, Marseille, Cedex 09, France.

Large and diverse populations of microbes possessing a range of different metabolic activities inhabit oilfield reservoirs (Magot et al., 2000; Ollivier et al., 2014). Because the redox potential of the production waters is low and oxygen is generally absent, anaerobes are considered as the main inhabitants of these subterrestrial ecosystems. Among them, methanogenic archaea (MA) and sulphate-reducing Prokaryotes (SRP) are considered of high ecological significance in these environments where extreme physico-chemical conditions (high salinity, high temperature) may prevail. This is particular true for hydrogenotrophic methanogens as they have been demonstrated to actively participate to methanogenesis from crude oil in petroleum reservoirs. Beside MA and SRB, there is a wide range of fermentative bacteria including members of the phyla Firmicutes and Bacteroidetes, and order Thermotogales within which thermophilic *Geotoga* and *Petrotoga* spp. have been isolated only from oil reservoirs. A wide distribution of Proteobacteria has been also observed in some cases. All these microorganisms are believed to participate in the overall complex biogeochemistry of oil reservoirs as they possess different metabolic features ranging from autotrophy to heterotrophy (Magot et al., 2000; Ollivier et al., 2014). Here, we will give a clear picture of what has been obtained to date regarding petroleum microbiology whether it is by cultural and molecular approaches and will discuss on the possible indigenous nature of some of these subterrestrial microbial inhabitants.

Magot, M., B. Ollivier, and B. K. C. Patel. 2000. Microbiology of petroleum reservoirs. *Antonie van Leeuwenhoek* 77:103-116.

Ollivier, B., J. Borgomano, and P. Oger. 2014. Petroleum: from formation to microbiology. In *Microbial life of the deep biosphere, Life in extreme environments*. J. Kallmeyer, D. Wagner, Eds. Volume 1, pp. 161-185. De Gruyter, Berlin Germany.



SMP37.3

Jellyfish life stages shape associated microbial communities, while a core microbiome is maintained across all

Lee Michael D¹, Kling Joshua D¹, Ruben Araya², Janja Ceh². ⁽¹⁾ Department of Biological Sciences, University of Southern California, Los Angeles, US. ⁽²⁾ Facimar, Instituto de Ciencias Naturales Alexander von Humboldt, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, CL.

The key to 650 million years of evolutionary success in jellyfish is adaptability: with alternating benthic and pelagic generations, sexual and asexual reproductive modes, multitudes of body forms and a cosmopolitan distribution, jellyfish are likely to have established a plenitude of microbial associations. Here we explored bacterial assemblages in the scyphozoan jellyfish *Chrysaora plocamia* (Lesson 1832). Life stages involved in propagation through cyst formation, i.e., the mother polyp, its dormant cysts (podocysts), and polyps recently excysted (excysts) from podocysts – were investigated. Associated bacterial assemblages were assessed using MiSeq Illumina paired-end tag sequencing of the V1V2 region of the 16S rRNA gene. A microbial core-community was identified as present through all investigated life stages, including bacteria with closest relatives known to be key drivers of carbon, nitrogen, phosphorus, and sulfur cycling. Moreover, the fact that half of *C. plocamia*'s core bacteria were also present in life stages of the jellyfish *Aurelia aurita*, suggests that this bacterial community might represent an intrinsic characteristic of scyphozoan jellyfish, contributing to their evolutionary success.

This work was funded by the FONDECYT Iniciación 11140353 (CONICYT Chile), to JC



SMP38.1

Interplay between viral infections and tobacco smoke in cancer

Juan Pablo Muñoz¹, Diego Carrillo², Victor Aedo², Nahir Guerrero², Francisco Renán Aguayo³. ⁽¹⁾ Universidad de Chile, CL. ⁽²⁾ Universidad de Chile, CL. ⁽³⁾ Departamento de Oncología Básico Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Background: High-risk human papillomavirus (HR-HPV) and Epstein-Barr virus (EBV) are highly prevalent DNA viruses involved in the development of different epithelial tumors. Specifically, HR-HPV infection is etiologically related to cervical, anogenital and head and neck carcinogenesis. HPV16 is the most frequent HR-HPV genotype found in genital or extragenital tumors. On the other hand, EBV infection is found in 10% gastric cancer (EBVaGC) worldwide. However, HPV or EBV infection are not a sufficient condition for carcinogenesis. The viral proteins E6/E7 and EBNA1 are expressed in HPV and EBV-mediated oncogenesis, respectively. Epidemiological evidence suggests that HR-HPV positive smoker women have a higher susceptibility to cervical cancer when compared with those non-smokers. On the other hand, it has been previously reported an overrepresentation of EBV positive cases in smoker patients with gastric carcinomas when compared with controls. **Objectives:** We addressed a cooperation between HR-HPV or EBV and tobacco smoke for epithelial carcinogenesis. The first goal was to evaluate a crosstalk between HPV16 E6/E7 oncoproteins and tobacco smoke in cervical and oral carcinogenesis. The second goal was to evaluate a cooperation between EBNA1 protein and tobacco smoke in gastric cancer progression. **Methods:** Human tumor and non-tumor epithelial cells (cervical, oral) endogenously or ectopically expressing HPV16 E6/E7 oncoproteins were exposed to different non-toxic concentrations of cigarette smoke condensate (CSC). Phosphoproteomic and transcriptomic approaches were used to characterize activation of signaling pathways. In addition, gastric cancer cells ectopically expressing EBNA1 were acutely exposed to CSC. Alterations in cell proliferation and migration were evaluated. **Results:** Tobacco smoke is able to interact with the HPV genome leading to an increased E6/E7 expression. Phosphoproteomic analysis revealed that PI3K/Akt signaling pathway is critical for E6/E7 overexpression. Gastric cancer cells expressing EBNA1 and exposed to CSC significantly increase its tumor properties such as proliferation and migration. **Conclusions:** Tobacco smoke components interact with HR-HPV leading to overexpression of viral oncogenes which involves activation of PI3K/Akt pathway and increasing the oncogenic properties of associated epithelial tumors. On the other hand, tobacco smoke cooperates con EBV EBNA1 for gastric cancer progression.

Supported by FONDECYT Grant 1161219 and CONICYT-FONDAP (ACCDiS) 15130011



SMP38.2

Viral and cellular biomarkers in cervical cancer

Lara Termini¹, ⁽¹⁾ Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octavio Frias de Oliveira, Centro de Investigação Translacional em Oncologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, BR.

Persistent infection with oncogenic human papillomaviruses is the main risk factor for the development of high-grade cervical intraepithelial neoplasia, the precursor lesion of cervical cancer. Infection by these viruses is a necessary but not sufficient cause of cervical cancer. In fact, the majority of the precursor lesions regress spontaneously without treatment. Cytological screening programs using the Pap test have led to a substantial reduction in the incidence of cervical cancer despite its limitation in detecting minor atypias and adenocarcinomas. Nowadays, HPV DNA detection as a primary screening parameter has been controversially discussed due to its very low predictive value. On the other hand, the development of new technologies for the determination of high risk HPV activity by detecting E6 and E7 transcripts has the potential to more accurately evaluate tumor progression. The products of the E6 and E7 genes are the main HPV transforming proteins. These are the only HPV proteins consistently expressed in HPV-positive cervical cancers and derived cell lines. Importantly, their continuous expression is required for maintaining the transformed phenotype. The activity of HPV oncoproteins affects cell homeostasis. E6 and E7 proteins from high-risk affect important cell processes such as cell cycle regulation, cell differentiation, apoptosis resistance and are directly involved in virus persistence and immune evasion. Therefore, the expression of these viral proteins has a deep impact on the expression levels and stability of several cellular factors that can be directly monitored. One of the best examples is the up-regulation of the cyclin dependent kinase inhibitor p16ink4a expression by E7. Several studies use p16ink4a overexpression to identify dysplastic cells in histological samples and cytological smears. The identification of novel biomarkers that allow the monitoring of molecular events associated to tumor progression in histological or cytological specimens may improve the detection and the prediction of lesions with higher risk of progression. Advances in understanding HPV biology and the natural history of HPV-related precursor lesions and cancers have led to the discovery of novel biomarkers in the past decade. This presentation focuses on studies of biomarkers and their possible role in screening cervical cancer and precursor lesions.

This research was supported by FAPESP (2015/26573-2)



SMP38.3

A glimpse at the role of human polyomaviruses in cancer

Enrique Boccardo¹. ⁽¹⁾ Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, BR.

Studies conducted during the last sixty years have shown that many members of the Polyomaviridae family have the ability to induce cell transformation and tumorigenesis in different experimental settings. The process of cell transformation is mainly mediated by the expression of pleiotropic viral oncoproteins called T (tumor) antigens. These viral proteins target cellular regulatory factors to promote cell proliferation, immune evasion and downregulation of apoptosis. Two human polyomaviruses were isolated over 45 years ago. However, technological advances in DNA sequencing approaches in the last decade led to the characterization of twelve new human polyomaviruses in tissue samples from different anaomic sites. Many of these viruses experiment reactivation in the context of immunosuppression driven by HIV infection or as a consequence of therapies applied to organ transplant recipients. Four polyomaviruses namely, Merkel cell polyomavirus (MCPyV), Trichodysplasia spinulosa polyomavirus (TSPyV), John Cunningham Polyomavirus (JCPyV) and BK polyomavirus (BKPyV) have been associated with the development of specific malignant tumors. However, present evidence only supports the role of MCPyV as a carcinogen to humans. Infection with Merkel cell polyomavirus (MCPyV) is associated with the development of Merkel cell carcinoma (MCC) a rare type of skin cancer. This virus DNA is detected in up to 80% of MCC samples from different geographic locations. We have studied the MCPyV prevalence and characterized viral molecular variants in samples from MCC patients attending the AC Camargo Cancer Center at São Paulo, Brazil. Besides, we analyzed the expression pattern of proteins involved in epithelial mesenchymal transition and cell polarity regulation. In the present work we will present these results and a summarized discussion on the current knowledge concerning the role of MCPyV, TSPyV, JCPyV and BKPyV in human cancers.

This research was supported by grants from FAPESP (2008/57889-1) and (CNPq 573799/2008-3).



SMP39.1

Microbial metabolites and colonic inflammation

Martin Gotteland¹, Daniel Garrido². ⁽¹⁾ Dpt. of Nutrition, Fac. of Medicine, University of Chile, Santiago, CL. ⁽²⁾ Department of Chemical and Bioprocess Engineering, School of Engineering, Pontificia Universidad Catolica de Chile, Santiago, CL.

A close relationship exists between gut microbiota, the local immunity and the epithelial barrier, which determines the homeostasis of the digestive ecosystem. Alterations in the composition and/or diversity of the microbiota (dysbiosis) can disrupt this homeostasis, favoring the long-term development of inflammatory, tumoral and metabolic diseases. A wide variety of bacterial metabolites are continuously produced by the gut microbiota from undigested dietary macronutrients and non-nutrients as well as from endogenous compounds, which contribute to the attenuation or the exacerbation of inflammatory processes, not only in the intestine but also in extra-intestinal organs including liver, kidney and brain. In addition to the well-known microbial-associated molecular patterns (LPS, flagellin, peptidoglycan, etc.), other microbiota—derived molecules, mainly derived from protein metabolism, also exhibit potentially pro-inflammatory activities. They include compounds as H₂S, phenol, indol, p-cresol and their conjugates p-cresyl-sulfate and indoxyl-sulfate. The best described anti-inflammatory metabolites are the short chain fatty acids (SCFAs) acetate, propionate and more particularly butyrate. SCFAs can regulate the innate and adaptive immune responses and anti-inflammatory activities, the later by reducing inflammatory mediator production and leucocyte adhesion and recruitment, while stimulating IL-10-producing Treg cells. Most of these effects would occur through histone deacetylase inhibition, metabolism regulation and by stimulating GPR41 and GPR43 receptors present on colonocytes, adipocytes and immune cells. Other bacterial metabolites such as equol, urolithins, enterolactone and some aromatic acids produced in the colon from dietary polyphenol metabolisms also exhibit anti-inflammatories activities. Accordingly, the microbiota is currently considered as an important target for the dietary or clinical management of inflammatory disorders. Indeed, it is possible to normalize the composition of the microbiota and the homeostasis of the digestive system by stimulating the growth of the bacterial populations producing anti-inflammatory compounds, for example the butyrate-producing bacteria, at the expense of these generating pro-inflammatory molecules. This can be done through the administration of non-digested carbohydrates, dietary polyphenols or probiotic strains or, in the extreme cases, by transplantation of healthy fecal microbiota or synthetic bacterial consortia.

Supported by CONICYT -FONDEF ID16I10045



SMP39.2

Immune dysregulation of the gut and microbial handling

Parada Daniela¹, Marjorie De La Fuente¹, Mauricio Olivares¹, David Diaz¹, Marcela Hermoso¹. ⁽¹⁾ ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile, CL.

Immunologic dysregulation causes many non-infectious human diseases such as autoimmunity, allergy and cancer, with gastrointestinal mucosa being the primary site of interaction between the host immune system and microorganisms (symbiotic and pathogenic). Maintaining a subtle equilibrium in the immune system is important for wellbeing through elimination of invading pathogens, whilst still conserving self-tolerance to avoid autoimmunity. The gut microbiota that resides in the gastrointestinal tract offers critical health benefits in this respect, particularly by controlling immune homeostasis. In this study, we examined findings which indicate that components of the innate immune system are influenced by bacterial infection and corticoid therapy. We also emphasize how the gut microbiota components (such as the SCFA butyrate) impact on inflammatory and intestinal homeostasis mediator's in an in vitro macrophage model and colonic organoid model. In summation, an anti-inflammatory strategy exerts crucial effects on gene expression with data suggesting that the activation of pathways in monocyte/macrophages and epithelial cells could control inflammatory processes and the progress of intestinal diseases, such as IBD.

FONDECYT 1170648



SMP39.3

Crosstalk between local and systemic host's inflammatory response in endodontic infection

Marcela Hernández¹. ⁽¹⁾ Department of Oral Pathology and Medicine & Laboratory of Periodontal Biology, Faculty of Dentistry, Universidad de Chile, Santiago, CL.

Chronic periodontitis are group of highly frequent diseases that involve a chronic immune-inflammatory response to Gram-negative anaerobic bacterial infection and their hallmark is the destruction of periodontal tissues, particularly of alveolar bone. The research focus of the Laboratory of Periodontal Biology is to elucidate the physiopathological phenomena that affect periodontal, periapical, peri-implant tissues in response to infection with the aim of understanding and proposing strategies to prevent, diagnose, predict and treat periodontal diseases. Apical lesions of endodontic origin are localized bone lesions that originate during chronic apical periodontitis as a consequence of endodontic infection. The current focus of our group is to provide mechanistic basis to understand the host's response to bacteria in apical lesions at both local and systemic levels, to assess its potential contribution to the atherogenic phenotype or other inflammatory systemic diseases, and how it might be modified by conservative endodontic therapy.

SMP40.1

Epidemiología, filogenia y genes de virulencia de *Escherichia coli* diarreogénicas aisladas de niños Mexicanos

Samantha Maldonado-Puga¹, Mario Meza-Segura¹, Mussaret B Zaidi^{2,3}, Teresa Estrada-García¹. ⁽¹⁾ Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN, Ciudad de México, México, MX. ⁽²⁾ Laboratorio de investigación en Microbiología Hospital General O'Horán, Mérida Yucatán, México, MX. ⁽³⁾ Department of Epidemiology and Biostatistics, Michigan State University, Lansing, Michigan, Estados Unidos, US.

Las diarreas continúan siendo un problema de salud pública en niños menores de 5 años en México. Se realizó un estudio de búsqueda intencionada de agentes causales de diarrea durante 4 años (2010-2014) en niños con cuadros de diarrea aguda que acudieron al hospital O'Horán de Mérida, Yucatán. En los 890 niños < 5 años con diarrea los patotipos de *Escherichia coli* diarreogénicos (30.9%) fueron los principales agentes causales de diarrea aguda por arriba de Rotavirus (22.6%), *Salmonella* (11.4%), *Shigella* spp (10.8%), *Campylobacter* spp (5.6%), Parásitos (4.2%) y *Vibrio cholerae* (1.1%). Los patotipos se identificaron en 101 niños. *E. coli* enterodifusa fue el más prevalente (36.7%), seguido de *E. coli* enteroagregativa (20.4%), *E. coli* enteropatógena atípica (16%) y *E. coli* enterotoxigénica (12.4%). Se realizó la secuenciación masiva de 10 cepas de DAEC, 9 de EAEC de estos niños y una EAEC de un adulto todas provenientes de casos severos de diarrea aguda. El árbol del pangenoma de estos 20 genomas (enraizado con *E. fergusonii* y comparado con genomas de otras *E. coli* de referencia patógenas, comensales y de campo, mostró una distribución en seis clados diferentes mientras que del core una distribución de 4 clados. En ambos estudios, varios de los clados contienen ambos grupos de cepas, sugiriendo que los genomas de DAEC e EAEC están relacionados. El análisis filogenético basado en las Islas LEE E del genoma de 20 EPECs provenientes de estos niños con diarrea reveló un cluster de cepas cuyos niños tienen una edad y una carga de EPEC en heces, similar y estas cepas contienen significativamente un mayor número de genes que codifican para efectores que se translocan por el sistema de secreción tipo III y un menor número de genes de toxinas, comparadas con las cepas aisladas de niños mayores.



SMP40.2

Reciprocal genetic regulation between iron and riboflavin in *Vibrio cholerae*

Víctor Antonio García¹, Ignacio Sepúlveda-Cisternas². ⁽¹⁾ Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Medicina, Universidad de Chile, CL. ⁽²⁾ Universidad de Chile, CL.

Redox reactions are in the center of many major biological processes. Many of such reactions use enzymes that require electron-transfer cofactors, among which riboflavin (vitamin B2) and iron are by far the most common. Bacteria may obtain riboflavin by de novo biosynthesis through the riboflavin biosynthetic pathway (RBP) and/or using riboflavin uptake proteins. Iron is obtained by transport systems specialized in the uptake of different iron sources. *Vibrio cholerae*, a diarrheagenic waterborne pathogen, conserves the RBP and a RibN riboflavin importer. This species has been used by our group as a model to study the relationships between riboflavin biosynthesis and uptake in riboflavin opportunistic bacteria. A transcriptomic approach unveiled that the riboflavin and the iron regulon highly overlap in this pathogen. Roughly two thirds of the genes regulated by external riboflavin are known to be regulated by iron, including iron uptake systems. Reciprocally, iron regulates RBP and RibN genes depending on environmental riboflavin. Further, an integral transcriptomics assay showed that in *Shigella flexneri*, the iron and riboflavin regulons are highly altered by the presence of riboflavin and iron, respectively. Our findings sum up to previous reports highlighting the metabolic interplay between the two most important redox cofactors in bacteria.

FONDECYT 1150818

Enlace FONDECYT U. de Chile



SMP40.3

The LEE pathogenicity island of enteropathogenic *E. coli*: a toolbox for virulence gene regulation

Jose Luis Puente¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Mor., 62210. México Tel. 777-329-1621; Fax. 777-313-8679; puente@ibt.unam.mx.

The human pathogens enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), together with the natural mouse pathogen *Citrobacter rodentium*, represent a family of enteric pathogenic bacteria that adhere to the host intestinal epithelial cells and inject effector proteins through a specialized type III secretion system (T3SS), subverting or hijacking several cell functions leading to the formation of a distinctive histopathology known as the “attaching and effacing” (A/E) lesion. The genes required for the formation of the A/E lesion are located within a pathogenicity island known as the locus of enterocyte effacement (LEE). Expression of these genes is controlled in response to environmental cues by a myriad of transcriptional regulatory proteins and posttranscriptional events. The LEE encodes three specific regulators, *Ler*, which activates the expression of the LEE operons by disrupting the repression mediated by the global regulator H-NS; *GrlA*, which is required for the specific activation of *ler*; and *GrlR*, which represses the expression of LEE operons. These proteins also regulate genes located outside the LEE allowing the LEE-encoded virulence factors to be coordinately expressed with other functions. *Ler* plays a central role in LEE gene regulation and expression of its gene is modulated by a myriad of positive and negative conserved global regulatory proteins, as well as by non-LEE encoded specific regulators that vary between A/E pathogens, such as *PerC*, an EPEC plasmid-encoded regulator that coordinates the expression of *pEAF* and LEE-encoded virulence factors by overlapping with *GrlA* on the control of *ler* expression. The mechanisms controlling LEE gene expression reflect the integration of pre-existing (prior to the acquisition of the LEE) and horizontally acquired regulatory elements that allowed its appropriate spatiotemporal regulation. We will discuss the approaches that are expanding our understanding of the influence they have on the pathogenesis and physiology of A/E pathogens.

This work was supported by DGAPA IN213516 and CONACyT CB-239659 and FC-2015-2/950.



SMP40.3

The LEE pathogenicity island of enteropathogenic *E. coli*: a toolbox for virulence gene regulation

Jose Luis Puente¹. ⁽¹⁾ Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Mor., 62210. México Tel. 777-329-1621; Fax. 777-313-8679; puente@ibt.unam.mx.

The human pathogens enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), together with the natural mouse pathogen *Citrobacter rodentium*, represent a family of enteric pathogenic bacteria that adhere to the host intestinal epithelial cells and inject effector proteins through a specialized type III secretion system (T3SS), subverting or hijacking several cell functions leading to the formation of a distinctive histopathology known as the “attaching and effacing” (A/E) lesion. The genes required for the formation of the A/E lesion are located within a pathogenicity island known as the locus of enterocyte effacement (LEE). Expression of these genes is controlled in response to environmental cues by a myriad of transcriptional regulatory proteins and posttranscriptional events. The LEE encodes three specific regulators, Ler, which activates the expression of the LEE operons by disrupting the repression mediated by the global regulator H-NS; GrIA, which is required for the specific activation of *ler*; and GrIR, which represses the expression of LEE operons. These proteins also regulate genes located outside the LEE allowing the LEE-encoded virulence factors to be coordinately expressed with other functions. Ler plays a central role in LEE gene regulation and expression of its gene is modulated by a myriad of positive and negative conserved global regulatory proteins, as well as by non-LEE encoded specific regulators that vary between A/E pathogens, such as PerC, an EPEC plasmid-encoded regulator that coordinates the expression of pEAF and LEE-encoded virulence factors by overlapping with GrIA on the control of *ler* expression. The mechanisms controlling LEE gene expression reflect the integration of pre-existing (prior to the acquisition of the LEE) and horizontally acquired regulatory elements that allowed its appropriate spatiotemporal regulation. We will discuss the approaches that are expanding our understanding of the influence they have on the pathogenesis and physiology of A/E pathogens.

This work was supported by DGAPA IN213516 and CONACyT CB-239659 and FC-2015-2/950.



Reuniones

Satélites



Simposio - ASM

RS01

TALLER: Actualizaciones en estrategias innovadoras de enseñanza en Microbiología para el aprendizaje de nuevas generaciones de estudiantes

Diana Vullo¹. ⁽¹⁾ Area Química, Instituto de Ciencias, Universidad Nacional de General Sarmiento.

En cada uno de nuestros países muchos de nosotros estamos dedicados a la enseñanza de grado y de posgrado en cursos de Microbiología de diferentes universidades. Estamos abocados a diario a preparar clases utilizando gran parte de nuestro tiempo, ya que se requiere una constante actualización e implementación de estrategias didácticas innovadoras para poder cumplir con nuestras expectativas de aprendizaje de las nuevas generaciones de estudiantes. Cada día nos encontramos con serias dificultades en la selección adecuada tanto de la forma de dictado de la clase en sí como de la metodología de evaluación que refleje exactamente lo que se pretende que el estudiante termine manejando, no sólo en comprensión sino también en la aplicación de los conceptos dados. El objetivo de este taller es generar un espacio de discusión en donde se intercambien opiniones, estrategias de enseñanza, materiales didácticos y cualquier otra inquietud que surja como para aportar ideas nuevas que faciliten y ayuden a mejorar nuestro desempeño como docentes y el de los estudiantes. Esperamos la participación de todos para compartir sus experiencias didácticas en Microbiología.

Simposio - FEMS

RS02

Removal of As(III) and As(V) by arsenic resistant ureolytic-calcifying bacterial strain isolated from natural environments, Atacama Desert

VL Campos¹, CG Leon¹, JF Ravanal¹, R Moraga², C Valenzuela¹, CT Smith¹, J Yáñez³, MA Modaca¹. ⁽¹⁾ Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, University of Concepcion, Concepcion, Chile, CL. ⁽²⁾ Microbiology Laboratory, Faculty of Renewable Natural Resources, Arturo Pratt University, Iquique, Chile, CL. ⁽³⁾ Department of Analytical and Inorganic Chemistry, Faculty of Chemical Sciences, University of Concepcion, Concepcion, Chile, CL.

Arsenic (As) is a toxic element for humans and it is commonly associated with serious health disruptions. The most common form of massive and chronic exposure is by consumption of contaminated drinking water. Bangladesh, India, Mongolia, China, Taiwan, Mexico, Argentina and Chile are countries where arsenic poisoning appears as a public health problem resulting mainly from consumption of As-contaminated water. Conventional treatment processes for As removal are effective and may remove about 80-95% As from solutions, however, operating costs are high. An effective treatment for water contaminated with arsenic should be directed to the removal of both As(V) and As(III). An alternative technique is Biomineralization based on microbially induced calcite precipitation (MICP). In this context, to objective was isolated and characterize bacterial strain able to mineralize calcium carbonate, and oxidase As(III) to As(V). Bacterial strain resistant to arsenic were isolated from sediment samples from a highly contaminated natural system (Loa River) and ureolytic bacteria (calcifying) able both to oxidase As(II) and resistant to As(V) were selected and characterized microbiologically and molecularly. Once characterized, bacteria were used to batch bioreactor in which the As(III) and As(V) depurative capacity was evaluated using HPLC/Hg/AAS while the elimination of toxicity and genotoxicity was evaluated by the human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) assay. A total of 9 bacterial, As(III) and As(V) resistant strains were isolated. Based on their characteristics, 1 ureolytic strain was selected and identified, by 16S rRNA gene sequence, as *P. marginalis*. Strain possessed arsenite-oxidase chromosomal resistance gen. Scanning and transmission electron microscopy analysis showed biomineralization of Arsenic induced by biogenic calcite in the cultures, evidenced by calcite crystals in the presence of Arsenic. HPLC/Hg/AAS analysis demonstrated that as calcite crystals increased along time, the concentration of arsenate in the culture medium decreased to 89% after 72 h of incubation. On the other hand, toxicological analysis using HUVEC cells showed that toxicity decreased in 99,8%. The implementation of water treatment systems contaminated with arsenic, using ureolithic-calcifying bacteria capable of oxidizing as As (III) and resistant to As (V), is a biotechnological process, economic and environmentally friendly.



RS03

FEMS & ALAM - building a trans-Atlantic bridge to strengthen the global microbiology community

Corrado Nai¹, The FEMS Team The FEMS Team². ⁽¹⁾ Academic publishing, Project managing/Editing, FEMS Federation of European Microbiological Societies. ⁽²⁾ FEMS Federation of European Microbiological Societies, NL.

At FEMS - the Federation of European Microbiological Societies - we connect a network of over 30,000 researchers, educators, campaigners and industry professionals to work together to advance microbiology. We achieve this ambitious goal among others by publishing influential articles in our five renowned life-science journals in partnership with Oxford University Press, by bestowing grants to conference organizers and early career researchers as well as by being a strong advocate for microbiology research. Even though we are highly active in Europe, we realize that good science knows no borders. Hereby, we highlight what activities and collaborations together with ALAM and other like-minded societies and associations will make possible to increase the global impact of high-quality microbiology research even further, and in particular focus on our Letters Incubator project to develop new publishing ideas, whilst mentoring the future talent of the microbiology community. It doesn't matter which stage of your career you are currently at - if you are a student willing to be involved in our volunteering program, an early career researcher willing to take over first editorial roles for an academic journal, or an established scientists willing to give back to the community by mentoring young talents - if you have a passion for advancing microbiology, let's build a bridge together. <https://fems-microbiology.org/> <https://academic.oup.com/fems-journals> https://academic.oup.com/femsle/pages/incubator_project <https://fems-microbiology.org/network/> https://academic.oup.com/fems-journals/pages/alam_spanish https://academic.oup.com/fems-journals/pages/alam_portuguese



RS04

Arsenic-oxidizing bacteria *Ensifer* sp. M14 – from genome characterization to application in pilot plant installation

A Skłodowska¹, L Drewniak¹. ⁽¹⁾ Laboratory of Environmental Pollution Analysis, Faculty of Biology, University of Warsaw. Miecznikowa 1, 02-096 Warsaw, Poland.

Ensifer (*Sinorhizobium*) sp. M14 is an efficient arsenic-oxidizing bacterium (AOB) that displays high resistance to numerous metals and various stressors. Genome analyses showed that nearly all unique genes that are associated with metal resistance and arsenic oxidation are localized within the pSinA and pSinB megaplasmids. The loss of the pSinA plasmid from *Ensifer* sp. M14 cells eliminated the ability to oxidize As(III), and caused deficiencies in resistance to arsenic and heavy metals (Cd, Co, Zn, and Hg). In turn, the introduction of this plasmid into other representatives of the Alphaproteobacteria showed that cells with pSinA acquired the ability to oxidize arsenite and exhibited higher tolerance to arsenite than their parental, pSinA-less, wild-type strains. Structural and functional analysis of pSinB megaplasmid showed that it carries gene clusters involved in heavy metals resistance. Among these are genes encoding efflux pumps, permeases, transporters, and copper oxidases, which are responsible for resistance to arsenic, cobalt, zinc, cadmium, iron, mercury, nickel, copper, and silver. Genome and antibiotic sensitivity analyses suggested that the use of *Ensifer* sp. M14 in biotechnology does not pose serious biosafety risks. Therefore, a novel two-stage installation for remediation of arsenic-contaminated waters was developed. It consists of a microbiological module, where M14 oxidizes As(III) to As(V) ion, followed by an adsorption module for As(V) removal using granulated bog iron ores. During a 40-day pilot-scale test in an abandoned gold mine in Zloty Stok (Poland), water leaving the microbiological module generally contained trace amounts of As(III), and dramatic decreases in total arsenic concentrations were observed after passage through the adsorption module. These results demonstrate the usefulness of *Ensifer* sp. M14 in arsenic removal performed in environmental settings.



RS05

Simultaneous biological oxidation of ferric iron and chemical oxidation of arsenite to produce scorodite

Jan Weijma¹, Silvia Vega Hernandez¹, Cees Buisman¹. ⁽¹⁾ Sub-department of Environmental Technology, Wageningen University & Research.

The immobilization of arsenic as scorodite ($\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) is a suitable method for arsenic disposal. In metallurgical aqueous process streams, arsenite is often the dominant arsenic species, and in order to fixate it as scorodite, the oxidation of arsenite (As(III)) to arsenate (As(V)) is required. In this presentation it is shown that scorodite can be precipitated from a ferrous iron and arsenite containing growth medium inoculated with an ferrous iron oxidizing mixed microbial culture (pH 1.3 and 70°C) in the presence of air and granular activated carbon (GAC) as catalyst for arsenite oxidation. The concept was demonstrated in batch and a laboratory-scale continuous gas-lift reactor. The mixed culture, enriched in the reactor under highly selective conditions, was analysed for phylogenetic diversity. The potential of GAC as catalyst for the oxidation process and the potential of the thermophilic mixed culture explored in this study sets a basis of a novel approach for the treatment of As(III) contaminated streams.



Simposio - ISME

RS06

Microbial ecosystems in Atacama puna extreme environments: biofilms, microbial mats microbialites and endoevaporites Science as the basis for the preservation of the oldest environments on the planet

María Eugenia Farías¹, Manuel Contreras². ⁽¹⁾ Laboratorio de Investigaciones Microbiológicas de Lagunas Andinas (LIMLA), Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI), CCT, CONICET, Tucumán, Argentina. ⁽²⁾ Centro de Ecología Aplicada (CEA) Suecia 3304, Ñuñoa, Santiago, F: 56-2-2741872 Chile

Wetlands and salars of the Central Andes region are unique extreme environments since they are located in high altitude saline deserts, largely influenced by volcanic activity. UV radiation, arsenic content, high salinity, and low dissolved oxygen content, together with extreme daily temperature fluctuations and oligotrophic conditions comprise an environment that recreates the early Earth and even extraterrestrial conditions. The discovery of living microbialites and microbial mats during last decade has increased the interest in this area as an early Earth counterpart. We have, since then, started a search for these kinds of environments in Argentina, Chile and Bolivia wetlands, Salars lakes and Volcanoes. We have prospected around 80 lakes and salt flats, out of which about 30% harbor some kind of Andean Microbial Ecosystem (AME) including microbialites, microbial mats and endoevaporitic domes. In this presentation we review the knowledge of AME microbiology acquired during the last ten years. In that way, environments like Laguna La Brava, Tebenquiche, Chaxas, Barros Negros in the Salar de Atacama, Aguas Calientes, Coposa, Tara, Ollague salars in the Chilean side and Antofalla, Laguna Verde, salars together with Laguna Socompa and Galan volcano in the Argentinean side, are valued and studied under many points of view that include geology, geochemistry, eukaryotic diversity and microbial ecology studies. In that way, through studies of diversity, metagenomic, physiology and molecular biology we were able to establish the main functional characteristics of these microbial ecosystems like: As respiration, alternative to Calvin Carbon fixation pathways, and production of ATP mainly driven by rhodopsin systems. All this knowledge is being the basis for establishing environmental indicators that allow monitoring and preservation of these ecosystems in the context of mining projects that are carried out in the north Andean highlands of Argentina and Chile.



RS07

Cave glacier microbiome and its response to climate change and anthropogenic pollution

Julia Endresen Storesund¹, Lauritsen Stein-Erik², Lise Øvreås¹. ⁽¹⁾ Department of Biological Sciences, University of Bergen, Norway. ⁽²⁾ Department of Earth Sciences, University of Bergen, Norway.

Ice caves consist of perennial ice accumulations and are considered the most enigmatic and least well-known part of the global cryosphere. They occur in places where the combination of cave morphology and climate conditions make favorable habitats for the formation of ice and allows it to persist. Ice caves have proven to be sensitive to today's increasing global temperatures and climatic changes. In fact, many of present-day ice caves are threatened by these factors, which are jeopardizing their existence in the future. We have analyzed 750 year old glacier ice from Svarthamarhola ice cave (N67.13'E15.31' at 295 m a.s.l.) located near Fauske, north of the Arctic circle, in Norway. This is the largest ice cave in Fennoscandia and contains the largest cave chamber (300x90x40 m/lwh) in this region, possibly also in Northern Europe. The ice mass was divided into 7 different layers and sample sites, based on prior knowledge about the stratification and dating of the ice, with the oldest ice samples near the cave floor, and the youngest at the top of the ice mass. We found a high microbial diversity, and novelty in the 7 ice layers, however an obvious trend in community composition and structure along the chronosequences regarding age and biochemistry were not found. A high degree of culturability was observed and many actinobacteria (spore formers known for high producing secondary metabolites) were recovered. Surprisingly high degrees of Planctomycetes sequences were found in all layers along the chronosequence. Thawed ice was thus used as inoculum in enrichments for isolation of Planctomycetes strains. Four Planctomycetes strains were obtained in axenic culture, and all strains showed both morphological and physiological differences. Phylogenetic analyses of the strains' 16S rRNA gene revealed two novel genera, within the phylum Planctomycetes. In a screening assay we found that these strains were able to produce compounds with intermediate cytotoxicity towards two human cancer cell lines and also high antibiotic resistance. These results suggest that organisms retrieved from old cave ice are able to produce bioactive molecules that provide advantages towards other organisms competing for resources in their indigenous environment.

This project was funded by the Norwegian Research council (NRC).



RS08

Microbiome from late glacial perennial ice of Scarisoara ice cave

Victoria I Paun¹, Corina Iltcus¹, Constantin Marin², Aurel Persoiu³, Paris Lavin⁴, Traian Brad³, Gonzalo Icaza⁴, Cristina Dorador⁴, Antonio Mondini¹, Johanna Donhauser⁵, Beat Frey⁵, Cristina Purcarea¹. ⁽¹⁾ Institute of Biology, Bucharest, Romania. ⁽²⁾ Emil Racovita Institute of Speleology, Bucharest, Romania. ⁽³⁾ Emil Racovita Institute of Speleology, Cluj-Napoca, Romania. ⁽⁴⁾ Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile. ⁽⁵⁾ Swiss Federal Research Group WSL, Birmensdorf, Switzerland.

Ice caves are highly preserved secluded glacial habitats harboring perennial ice deposits that constitute palaeoclimate archives. The distribution of total and active bacterial and fungal communities in 13,000 years BP ice core of Scarisoara Ice Cave (Romania) was assessed by Illumina sequencing of 16S rRNA and ITS2 genes. Culturable bacteria and fungi were also isolated from various ice layers and identified by 16S rDNA and 18S rDNA gene sequencing, respectively. Geochemical parameters of the ice core samples selected at 1000 years interval showed large variations in the last 1500 years BP ice layers, and high contents of major and minor elements for the 4.5-5,000 years BP ice sample. High concentrations of TOC, calcium and sulphate were found in ice deposits formed during MWP, while low values corresponded to LIA periods. Bacterial community from the ice core was dominated by Proteobacteria and Actinobacteria, with taxa variations based on age and geochemistry of ice deposits. Active bacterial community was mainly represented by Bacteroidetes in older strata. Fungal community revealed both cultured and uncultured species of Ascomycota, Basidiomycota, Cryptomycota, Zygomycota phyla, with the dominance of Basidiomycota in LIA, and Ascomycota in MWP formed ice strata. Archaeal communities identified across the ice block were dominated by distinct phyla for each of the LIA and MWP ice formed period. TOC-dependence of the microbial abundance and taxa distribution throughout the cave ice cores sustain the effect of climate variations and depositional and post-depositional processes on modeling the microbiome composition. This first investigation of cave ice microbiome from Late Glacial through Holocene perennial ice core revealed a complex bacterial, fungal and archaeal community and a specific active bacterial distribution related to the geochemical signature and past climatic events during the last 13,000 years.

This study was financially supported by H2020 EraNet-LAC ELAC2014/DCC0178 Joint Program.



Simposio - SLAMTB

RS09

Mycobacteria efflux, from supporting to best actor

Almeida Da Silva Pedro E¹, Andrea Von Groll¹, Daniela Ramos¹, Ivy Ramis¹. ⁽¹⁾ Nucleo de pesquisa em Microbiologia Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, BR.

The emergence of MDR and XDR Mycobacterium tuberculosis increased the necessity of strengthening the knowledge about drug resistance mechanisms in this microorganism. In recent years, it has become clear that drug resistance in mycobacteria is more than the result of specific SNPs. Since the nineties, when the first efflux pumps were described in mycobacteria, there has been significant advances on the comprehension about the efflux mechanism in this microorganism and, particularly, about its role in drug resistance. In this sense, several efflux pumps have been described, and their association with drug resistance has been largely showed. The drugs that are efflux targets, range from first choice drugs as isoniazid, rifampicin, streptomycin to those used in MDR and XDR treatment as clofazimine and bedaquiline. Also, in other mycobacterial species, like *M. abscessus*, efflux has been shown to participate actively in drug resistance. With the rising of the knowledge on the contribution of efflux in drug resistance, increased attention has been given to the use of compounds that act as efflux inhibitors. These drugs could be adjuvants to TB therapy, thus providing the possibility of new therapeutic strategies.

CNPq, CAPES

RS10

Metilación en el ADN y su relación con la resistencia a levofloxacin en *Mycobacterium tuberculosis*

Nataly Alvarez^{1,2}, Jaime Robledo^{1,2}, Francois Rouzaud^{2,3}. ⁽¹⁾ Facultad de Medicina, Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, CO. ⁽²⁾ Bacteriología y Micobacterias, Corporación para Investigaciones Biológicas. ⁽³⁾ Equal, Equal Opportunity Life Sciences, Saint-Etienne, FR.

Introducción: Las metilaciones en el ADN son eventos epigenéticos que modifican la plasticidad fenotípica sin modificar la secuencia de ADN. En *E.coli* se ha descrito que la herencia epigenética genera resistencia a bajos niveles antibióticos y, aunque este fenómeno es reversible, facilita la selección de mutantes espontáneos los cuales, posteriormente, serán resistentes a altos niveles de antibióticos. En procariontes, la metilación es el principal mecanismo epigenético; las ADN metiltransferasas son las encargadas de adicionar el grupo metilo a la cadena de ADN. Actualmente, se disponen de pocos datos acerca de este fenómeno epigenético en MTB. **Objetivo:** Determinar si los eventos epigenéticos en *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) están asociados con la resistencia a la levofloxacin. **Métodos:** Se estudiaron seis aislamientos clínicos de MTB (3-MDR y 3-XDR). Los aislamientos se cultivaron en medio líquido Middlebrook 7H9 con y sin levofloxacin. Las concentraciones de levofloxacin utilizadas durante 5 días de exposición fueron de 1µg/mL y 2µg/mL para los aislamientos MDR y XDR respectivamente. A continuación, se extrajo ADN para secuenciación utilizando Illumina y Maxi-metil seq y ARN para microarreglos de expresión génica y RT-PCR. **Resultados:** Se encontró un gen hipermetilado (p-valor 0.03272), Rv2488c, que pertenece al regulador transcripcional familiar LuxR y un gen hipometilado (p-valor 0.001127), Rv3482c, que es una proteína de membrana. No hubo diferencias estadísticas en los niveles de metilación entre los aislamientos expuestos y no expuestos a levofloxacin, sin embargo, existe una tendencia de metilación entre los aislamientos expuestos al antibiótico. En el análisis de expresión, *mamA* (Rv3263) que codifica una adenina-metiltransferasa y otras tres metiltransferasas (Rv1316c, Rv3204, Rv2756c) se sobre-expresaron. *mamA* FC 4.49 y Rv1316c, Rv3204, Rv2756c con FC de 1.92, 8.42, 4.13 respectivamente, indicando un aumento en la metilación. **Conclusion:** Estos datos sugieren que la metilación puede estar implicada en la resistencia de MTB a la levofloxacin, porque la sobreexpresión de los genes Rv1316c, Rv3204, Rv2756c y Rv3263 sugiere que hay metilación tras la exposición de MTB a LVX. Sin embargo es necesario ampliar los conocimientos en este campo con más muestras y otras técnicas de detección de metilación, ya que hasta la fecha ha sido poco explorado en MTB.

Colciencias cod: 2213-40820408



RS11

Evaluación de productos naturales como inhibidores del crecimiento micobacteriano

Aranaga Carlos A¹, Aura Falco¹, Howard Takiff². ⁽¹⁾ Programa de Microbiología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Santiago de Cali, Cali, CO. ⁽²⁾ Laboratorio de Genética Molecular, Centro de Microbiología y Biología Celular, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, VE.

Las micobacterias se adscriben taxonómicamente al género *Mycobacterium*, único de la familia Mycobacteriaceae. En la actualidad, más de 120 especies pertenecientes a este género causan enfermedades en el humano. El principal patógeno es *Mycobacterium tuberculosis*, el agente causal de la tuberculosis, una enfermedad que causa más que un millón y medio de muertes cada año. Otras micobacterias de importancia clínica son las llamadas micobacterias no tuberculosas, las cuales en su mayoría son patógenos oportunistas, cuya enfermedad depende del grado de exposición a la misma y del estado inmunitario del huésped. Debido a las características de impermeabilidad de su pared celular, las micobacterias tienen una resistencia innata a muchos antibióticos y desinfectantes, y además acumulan mutaciones que también les confieren resistencia. Es por esto que es imprescindible la búsqueda de nuevos fármacos para el tratamiento y control de estos microorganismos patógenos. En este trabajo se evaluaron 125 extractos de plantas venezolanas contra el crecimiento de *M. smegmatis*, dando como resultado que 14 de ellos lograron inhibir en más de un 50% el crecimiento de esta bacteria a una concentración de 200 µg/ml. Estos extractos seleccionados serán evaluados contra el crecimiento de *M. bovis* BCG, *M. tuberculosis* mc26020, *M. abscesus* y *M. chelonie* para determinar su potencial como agentes antimicobacterianos y posteriormente aislar e identificar sus componentes activos.



RS12

¿Qué hay de nuevo sobre la infección inicial por *Mycobacterium tuberculosis*?

María Elvira Balcells¹. ⁽¹⁾ Enfermedades Infecciosas del Adulto, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, CL.

La tuberculosis (TB) constituye una enorme carga de salud a nivel global, sin embargo poco conocemos aún sobre los determinantes iniciales y marcadores de susceptibilidad o protección para adquirir esta infección. Se piensa que existen individuos que pese a exposición sostenida a *Mycobacterium tuberculosis* no adquieren o lograrían eliminar espontáneamente esta bacteria, sin embargo la evidencia científica al respecto es muy escasa. En esta sesión se revisará evidencia reciente sobre posibles factores protectores poco explorados, incluyendo el rol de inmunidad de mucosas y rol de anticuerpos en las etapas iniciales de adquisición de *M. tuberculosis*.

CONICYT, FONDECYT Regular 1171570

RS13

Whole genome sequencing of the monomorphic pathogen *Mycobacterium bovis* reveals local differentiation of cattle clinical isolates

Moira Lasserre³, Pablo Fresia¹, Gonzalo Greif³, Miguel Castro-Ramos², Arturo Juambeltz², Álvaro Nuñez², Hugo Naya¹, Carlos Robello³, Luisa Berná³. ⁽¹⁾ Montevideo, Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, UY. ⁽²⁾ Departamento de Bacteriología, División de Laboratorios Veterinarios (DI.LA.VE.) Miguel C. Rubino, Montevideo, UY. ⁽³⁾ Montevideo, Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, UY

Background: Bovine tuberculosis (bTB) poses serious risks to animal welfare and economy, as well as to public health as a zoonosis. Its etiological agent, *Mycobacterium bovis*, belongs to the *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC), a group of genetically monomorphic organisms featured by a remarkably high overall nucleotide identity (99.9%). Indeed, this characteristic is of major concern for correct typing and determination of strain-specific traits based on sequence diversity. Due to its historical economic dependence on cattle production, Uruguay is deeply affected by the prevailing incidence of *M. bovis*. With the world's highest number of cattle per human, and its intensive cattle production, Uruguay represents a particularly suited setting to evaluate genomic variability among isolates, and the diversity traits associated to this pathogen. Results: We compared 186 genomes from MTBC strains isolated worldwide, and found a highly structured population in *M. bovis*. The analysis of 23 new *M. bovis* genomes, belonging to strains isolated in Uruguay evidenced three groups present in the country. Despite presenting an expected highly conserved genomic structure and sequence, these strains segregate into a clustered manner within the worldwide phylogeny. Analysis of the non-pe/ppe differential areas against a reference genome defined four main sources of variability, namely: regions of difference (RD), variable genes, duplications and novel genes. RDs and variant analysis segregated the strains into clusters that are concordant with their spoligotype identities. Due to its high homoplasy rate, spoligotyping failed to reflect the true genomic diversity among worldwide representative strains, however, it remains a good indicator for closely related populations. Conclusions: This study introduces a comprehensive population structure analysis of worldwide *M. bovis* isolates. The incorporation and analysis of 23 novel Uruguayan *M. bovis* genomes, sheds light onto the genomic diversity of this pathogen, evidencing the existence of greater genetic variability among strains than previously contemplated.

Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria (FPTA): grant 328. Agencia Nacional de Investigación e Innovación (UY): grants POS_NAC_2015_1_109466, DCI-ALA/2011/023–502. Fondo Caldeyro Barcia. FOCEM: grant COF 03/11.

RS14

Caracterización del rol en la virulencia de *Mycobacterium bovis* del sistema de dos componentes PhoPR

Elizabeth García², Luciana Villafañe², Federico Blanco², María M Bigi¹, Cristina Vazquez², Fabiana Bigi². ⁽¹⁾ Facultad de Agronomía UBA, AR. ⁽²⁾ Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA.

En numerosos estudios se ha demostrado que el sistema de dos componentes PhoPR regula la expresión de genes implicados en la virulencia de *Mycobacterium tuberculosis*. En *Mycobacterium bovis*, el agente causante de la tuberculosis bovina, el gen que codifica para PhoR presenta una mutación puntual no sinónima que afecta la funcionalidad del sistema PhoPR en *M. bovis*. En este estudio investigamos el papel de PhoPR en la virulencia de dos aislamientos de *M. bovis*. Encontramos que la eliminación de *phoP* reduce la capacidad de *M. bovis* de modular el tráfico intracelular en macrófagos bovinos y por lo tanto su persistencia intracelular. En un modelo de infección de ratones BALBc, las mutantes en *phoP* mostraron menor replicación en órganos que las cepas salvajes. Mediante análisis de expresión génica, demostramos que PhoP regula la expresión de una posible lípido desaturasa Mb1404-Mb1405, proteínas implicadas en el estrés redox (AhpC, AhpD), el transportador de sulfolípidos Mmpl8 y el antígeno secretado ESAT-6. Además, la falta de PhoP aumenta la sensibilidad al estrés ácido y altera la formación de biofilms/ películas de *M. bovis*. Asimismo, usada como inmunógeno, una de las cepas mutantes en *phoP* confirió mayor protección que BCG frente al desafío de ratones con *M. bovis* virulenta. Estos resultados demuestran que el sistema de dos componentes PhoPR, a pesar de su aparente pérdida de funcionalidad, es requerido para la virulencia de *M. bovis* y podría jugar un papel en los mecanismos que despliegan para mantener su balance redox.

PICT-2013 0623, ANPCyT

PNBIO1131034-INTA

RS15

Caracterización inmunológica y funcional de la proteína recombinante HBHA de *Mycobacterium tuberculosis* expresada en *Rhodococcus erythropolis*

Clara Espitia¹. ⁽¹⁾ Inmunología, Instituto de investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, MX .

La glicosilación y la metilación son modificaciones pos-traduccionales de las proteínas, de importancia en la interacción patógeno-hospedero. *Mycobacterium tuberculosis* posee numerosas proteínas modificadas con azúcares que participan tanto en la respuesta inmune humoral como celular inducida por el bacilo. Contrastando con la abundancia de proteínas glicosiladas, a la fecha en *M. tuberculosis* únicamente se conocen 2 proteínas metiladas, la hemaglutinina de unión a heparina (Hbha) y la proteína tipo histona (Hlp). Las dos poseen lisinas metiladas en el carboxilo terminal y han sido involucradas con invasividad. Interesantemente, la metilación en la Hbha se ha asociado con la inducción de una respuesta inmune protectora en tuberculosis. Puesto que tanto la glicosilación como la metilación se pierden en las proteínas recombinantes expresadas en *Echerichia coli*, en nuestro laboratorio, hemos utilizado bacterias sustitutas pertenecientes al grupo de las actinobacterias, como el *Streptomyces lividans* y el *Rhodococcus erythropolis*, para producir estas moléculas. Es así como logramos obtener a la proteína Hbha, metilada. Interesantemente, existe un ortólogo de la Hbha en *Rhodococcus*, que participa en la biogénesis de los cuerpos lipídicos, y protege a la bacteria de condiciones de stress. Al igual que esta proteína, la Hbha se encontró formando parte de los cuerpos lipídicos inducidos cuando la bacteria hospedera se creció en condiciones de limitación de nitrógeno y exceso de carbono, sugiriendo estos resultados, un papel putativo para la Hbha en la formación de los cuerpos lipídicos. Las proteínas recombinantes fueron reconocidas por los sueros de individuos con tuberculosis y/o individuos vacunados con BCG e indujeron una respuesta inmune humoral y celular en animales de experimentación. Actualmente se está evaluando la capacidad de la Hbha metilada como posible inductora de la respuesta inmune protectora en un modelo murino de infección por aerosol. Nuestros resultados señalan a *R. erythropolis* como bacteria sustituta para expresar antígenos que permitan estudiar el papel que estas moléculas tienen en la interacción bacteria hospedero y así mismo evaluar el potencial como posibles como vacunas de subunidades.

Instituto de Investigaciones Biomédicas UNAM Programa de Investigación “Nuevas Alternativas de Tratamiento para Enfermedades Infecciosas” (NUATEI)

PAPIIT-UNAM: IN207717. Universidad Nacional Autónoma de México.

RS16

Concentraciones elevadas de glucosa modulan la expresión de PPAR α y PPAR γ en macrófagos estimulados con Mtb y adicionados o no con cortisol

Fernández Rocío Dv¹, Ariana Díaz¹, Bettina Bongiovanni¹, Vanesa Pitasny¹, Emilia Hails¹, Luciano D'Attilio¹, Oscar Bottasso¹, María Luisa Bay¹. ⁽¹⁾ IDICER CONICET, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, AR.

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) constituye un factor de riesgo para el desarrollo de la tuberculosis pulmonar (TB). Previamente observamos que los pacientes con TB+DM2 presentaban mayor desregulación inmunoendócrina respecto de aquellos con TB únicamente (concentraciones plasmáticas elevadas de IFN- γ , IL-6 y cortisol). Atento a ello y considerando que el macrófago (Mf) alveolar es la principal célula blanco del Mycobacterium tuberculosis (Mtb), nos propusimos investigar el efecto de la hiperglicemia (glucosa 10, 20, 40mM) ante situaciones de estrés (cortisol 1 μ M) sobre la respuesta de Mf enfrentados a Mtb (cepa H37rv muerto por radiación γ). Así los Mf derivados de la línea celular THP1 se sometieron a los distintos tratamientos. Los cultivos (24h) sólo estimulados con Mtb presentaron altos niveles de IL-1 β (ELISA), para cada una de las dosis de glucosa utilizadas ($p < 0,005$). Aquellos también expuestos a cortisol mostraron los niveles más bajos de este mediador, independientemente de las dosis de glucosa ($p < 0,008$). En los cultivos estimulados, tratados o no con cortisol, los niveles de esta citocina se correlacionaron negativamente con las concentraciones de glucosa ($p < 0,01$). La cuantificación por RT-qPCR de los receptores activados por factores de proliferación peroxisomal, PPAR γ y PPAR α (moduladores de la respuesta inflamatoria y anti-bacteriana, entre otras) en los cultivos estimulados sin cortisol, evidenció mayor expresión de PPAR α ($p = 0,007$) sin modificar la de PPAR γ , excepto frente a la dosis más alta de glucosa ($p = 0,008$). El tratamiento con cortisol aumentó y disminuyó los niveles de PPAR γ ($p = 0,005$) y PPAR α ($p = 0,006$), respectivamente. Ambos transcritos se correlacionaron positivamente con las dosis suprafisiológicas de glucosa ($p < 0,04$) mientras que la expresión de PPAR γ se asoció negativamente con IL-1 β ($p < 0,01$), en los cultivos de Mf estimulados y tratados con cortisol. De los resultados se desprende que, frente al estímulo específico concentraciones suprafisiológicas de glucosa favorecerían la expresión de ambos PPARs. Sin embargo, en una situación de estrés la modulación negativa de PPAR α , (proteína involucrada en la generación del autofagosoma) junto con un marcado descenso en los niveles de IL-1 β generarían un ambiente desfavorable para la eliminación de la micobacteria por parte de los Mf.

Fundación de Ciencias Médicas de Rosario "Prof.Dr. Rafael M. Pineda", Rosario, Santa Fe, Argentina



RS17

Antivirulence drugs as an alternative to antibiotics to treat tuberculosis

Paulina Fernandez Soto¹, Jennifer Cavet², Lydia Tabernero². ⁽¹⁾ School of Biological Sciences, Faculty of Biology, Medicine and Health, The University of Manchester, Manchester, GB. ⁽²⁾ School of Biological Science, Faculty of Biology, Medicine and Health, The University of Manchester, Manchester, GB.

Tuberculosis (TB) is among the ten top diseases causing death worldwide. An appropriate treatment and early diagnostic could shorten the number of TB cases. However, TB treatment is constantly threatened by the emergence of new drug resistance mechanisms. To date, cases of total drug-resistance TB (TDR-TB) have been reported; this is resistance to all currently available drugs. By 2017, the World Health Organization (WHO) reported that only seven agents for TB treatment are currently on clinical trials, from which only one is in phase-3. This is critical, as success in treatment of TB is based on the combination of at least three antibiotics. Therefore, efforts to improve TB treatment should be directed towards shortening the time of treatment by combining therapeutic regimes with drugs with novel mechanism of action. Antivirulence drugs are a new strategy to battle antibiotic resistance. The novelty is based on the ability of neutralizing key virulence factors that allow pathogens to establish the infection. *Mycobacterium tuberculosis*, the causative agent of Tuberculosis (TB), secretes three phosphatases MtpA, MtpB and SapM that are involved at different stages of the phagosome-lysosome fusion. These phosphatases are attractive targets for new drugs as blocking their action has been reported to reduce bacterial burden in-vitro and in-vivo. We are currently exploring the development of small molecules to inhibit these phosphatases with the aim to overcome important mechanisms of survival of *M. tuberculosis* in the host. Combination of our antivirulence agents along with conventional TB drugs is a novel way that can be adapted to shorten TB treatment and overcome resistance.

SENESCYT - Scholarship granted by the Ecuadorian government



RS18

Transcriptional regulation of fatty acid metabolism in *Mycobacterium tuberculosis*: identification and validation of new drug targets

Gabriela Gago¹. ⁽¹⁾ Laboratorio de Fisiología y Genética de Actinomicetes, Fac. de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR).

Besides the relevance of lipid derived molecules in Mtb pathogenicity, little is known about the environmental signals and regulatory cascades involved in the global regulation of lipid metabolism in this bacterium, and how lipid homeostasis is maintained for Mtb survival and during infection. Our work is directed to fulfill some of these gaps by studying in detail the elements and mechanisms that regulate lipid homeostasis in Mtb, how they impact in the biosynthesis and composition of its cell wall and how the host-pathogen lipid metabolisms interact. Mycobacteria are unusual in possessing two fatty acid synthase (FAS) systems. To demonstrate that FAS I and FAS II systems are strictly co-regulated in order to maintain lipid homeostasis in Mtb, we initiated our research project with the identification and characterization of the components of the transcriptional network that keeps the two FAS systems tightly regulated. For this, we identified and characterized a specific regulator that binds above P_{fas} and named it FasR. FasR is a positive regulator of the *fas-*acpS** operon genes and is essential in *M. smegmatis*. We have now constructed a conditional *fasR* mutant in *M. tuberculosis* and found that this strain has severe growth defects in the absence of fatty acids in the growth medium. A combined transcriptomic, proteomic and lipidomic analysis was performed on the mutant strain. Altogether, the results indicate that under fatty acid biosynthesis inhibition there is a strong remodeling of the cell wall components. Moreover, preliminary results indicate that the *fasR* mutant strain is attenuated in mouse infection experiments. Our studies provide a wealth of information that will let us evaluate how Mtb responds to the alteration, or absence, of the *de novo* FA and MA acid biosynthesis, and how important is to maintain lipid homeostasis in the context of the macrophage environment and in the progression of the infection. Furthermore, we have now confirmed the interaction of a C20-CoA with FasR by structural and biochemical studies. Thus, the crystal structure of FasR and FasR-C20-CoA could help us search and identify structure-based inhibitors that could then be tested as a new category of antimycobacterial compounds.

NIH (1R01AI095183-01), ANPCyT: PICT- 2015-2022; PICT 2015-0796



RS19

Schwann cells lipid metabolism impairs neuronal physiology after *Mycobacterium leprae* infection

Karina Girardi¹, Bruno Mietto ¹, Rychelle Medeiros¹, Rosa Patricia Sammarco², Johnjoe McFadden³, Maria Cristina Pessolani¹, Lara Flávio Alves¹. ⁽¹⁾ Department of Leprosy, Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Institute, Rio de Janeiro, BR. ⁽²⁾ Department of Pathology, Lauro de Souza Lima Institute, São Paulo, BR. ⁽³⁾ Faculty of Health and Medical Sciences, University of Surrey, Guildford, GB.

Leprosy is a dermatoneurological disease, caused by *Mycobacterium leprae*. Leprosy hallmarks such as Schwann cell demyelination and axopathy are not fully understood. Our group have demonstrated that *M. leprae* is able to modulate Schwann cells metabolism, increasing glucose uptake, glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) activity and impairs lactate generation and release. Also, we described a mitochondria shutdown and swelling in infected Schwann cells in unmyelinated and myelinated patients axons. In the present work we used primary neurons from dorsal root ganglia of postnatal mice and SK-N-SH human neuronal cells treated with supernatant of Schwann cell infected with *M. leprae*. We demonstrated that infected Schwann cell supernatant impairs neurite outgrowth in primary neurons. Conversely, treatment with G6PD inhibitor (6-ANAM) partially restored neurites elongation. In order to characterize the neurotoxic agent in infected Schwann cell-conditioned medium, we fractionated it into a gel filtration HPLC. We observed that a 65KDa fraction, rich in albumin, concentrated the neurotoxic activity. Finally, we demonstrated that only the lipid fraction of *M. leprae*-infected Schwann cell-conditioned medium presents neurotoxic activity. Interestingly, it was demonstrated in patients nerve biopsy that *M. leprae* induce and recruit lipid droplets (LDs), composed of host-derived oxidized phospholipids, fatty acids, and cholesterol, both in Schwann cells and macrophages. Collectively, our results indicate that infected-Schwann cells lipid metabolism could be related with early neuronal damage in leprosy neuropathy.

CNPq, Capes, IOC.



RS20

Interaction between innate immune cells to generate the specific immune response towards a tuberculosis recombinant vaccine

Ana Paula Junqueira¹, Monalisa Trentini¹, Lazaro Neto M¹, Kipnis Andre¹. ⁽¹⁾ Imunologia, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, BR.

One third of the world population is infected with *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), tuberculosis (TB) causative agent. The only form of prevention for this disease is the Bacillus Calmette-Guerin (BCG) vaccine, which protects children from the most aggressive forms of the disease. Nonetheless, the vaccine efficacy among youth and adults is highly variable, thus there is urgent need of new vaccine development. Our group developed the recombinant *M. smegmatis* mc2-CMX vaccine that is capable of inducing higher protection than the BCG vaccine, mediated by Th1 and Th17 specific T cells. It was to investigate the role of neutrophils and NK cell in the induction of the protective immune response by this recombinant vaccine. Neutrophils were crucial and participate in the induction of the specific immune response toward mc2-CMX. After C57BL/6 mice vaccination, NK cells were activated and present in the site of vaccination, spleen and draining lymph nodes indicating possible role of these cells. To verify NK cells involvement, NK cells were depleted and the number of neutrophils and DCs in the different organs evaluated, although similar cell migration were observed, the DCs were less activated in the absence of NK cells. In conclusion, NK cells are also important for the generation of a specific immune response towards the mc2-CMX vaccine.

CNPq

RS21

Mycobacterium abscessus iron homeostasis: evolution or adaptation?

Alcântara Nayra A.¹, Oliveira Fábio M.¹, Ana Paula Junqueira-Kipnis², Andre Kipnis². ⁽¹⁾ DEBIOTEC, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, BR. ⁽²⁾ DEBIOTEC, Professor, Universidade Federal de Goiás, Goiania, BR.

Mycobacterium abscessus subsp. *massiliense* (Mycma) is a rapidly growing *Mycobacterium* that is capable of causing chronic pulmonary and soft tissue infections in immunocompetent individuals. Since Mycma is resistant to most antitubercular drugs, the treatment of those infections is difficult and sometimes needs invasive approaches to resolve the infection. Then the development of new drugs against the Mycma is crucial, and requires understanding of the virulence mechanisms of this pathogen. It was already demonstrated the essentiality of iron as a nutrient for Mycma, and this bacterium has two ferritin coding genes, instead of one bacterioferritin and one ferritin coding genes observed in other mycobacteria. However, the meaning of bacterioferritin gene absence in Mycma remains unclear. Could this bacterium have another mechanism of iron homeostasis besides the two ferritins? The goal of this study was to determine if the introduction of a bacterioferritin gene in Mycma could provide more resistance to oxidative stress and if this bacterium has another mechanism for that. We show that the expression of recombinant bacterioferritin improved the growth rate of recombinant Mycma_BfrA under iron excess, as compared to wild type. Recombinant Mycma_BfrA presented a significant increase in the resistance to oxidative stress produced by hydrogen peroxide in vitro. Our preliminary results suggest that the presence of recombinant bacterioferritin confers to Mycma growth advantages only under extremely stressful in vitro conditions, such as in the presence of high iron and hydrogen peroxide concentrations. Additionally, we observed the Mycma has the mycma_03135 gene, which codes for the mini-ferritin Dps (DNA-binding proteins from starved cells). The purified recombinant mycma_03135 protein had the ability to bind DNA and protect it from damage in vitro, as observed in the others Dps. In conclusion, the expression of recombinant bacterioferritin by Mycma seems to be important for the resistance to stress conditions, and besides that, this bacterium has another protein possibly involved in that resistance also. Nevertheless, further studies using in vivo model of infection are necessary to determine if the observed in vitro improvement conditions could increase the resistance of Mycma_BfrA to host defense mechanisms.

CNPq, FAPEG



RS22

Mycobacterium tuberculosis promotes HIV replication in macrophages

Isabelle Maridonneau-Parini¹. ⁽¹⁾ Phagocyte Migration and Differentiation, Institute of Pharmacology & Structural Biology, Institute of Pharmacology & Structural Biology

Mycobacterium tuberculosis (Mtb) and HIV1 are known to act synergistically and impact the progression of one another in coinfecting patients. Yet, the mechanisms by which Mtb exacerbates HIV1 pathogenesis are not well-known. Here, we show that human M(IL-10) anti-inflammatory macrophages, present in TB-associated microenvironments, produced high levels of HIV-1. These macrophages form cell-to-cell tunneling nanotubes (TNTs) that we found involved in virus spread. TNT formation in the TB context required the IL-10/STAT3 signaling pathway and targeted inhibition of TNTs substantially reduced the enhanced HIV-1 cell-to-cell transfer and overproduction. In vivo, M(IL-10) macrophages were expanded in the blood of coinfecting patients and in the lungs of co-infected non-human primates where their number correlated with disease severity. In conclusion, our data identify TNTs as key players in the aggravation of HIV1 pathogenesis during coinfection with Mtb.

CNRS



RS23

NGS in clinical diagnosis of tuberculosis (TB) rapid drug susceptibility testing – a progress report

Guilherme Mendes¹. ⁽¹⁾ Illumina, Inc

Tuberculosis (TB) continues to be a major public health threat despite being a curable disease. The WHO Global Tuberculosis Report from 2017 indicates an estimated 10.4 million people had TB, and 1.8 million people died (1.4 million HIV negative and 400 000 HIV positive). Of further concern is that 480,000 cases of multidrug-resistant (MDR) TB, and a further 100,000 that were estimated to be rifampicin-resistant (RR) TB have occurred in the same period. The rapid and accurate diagnosis of TB infection and disease is critical for timely initiation of treatment and, ultimately, control of the disease. This talk aims to describe how NGS is evolving into a routine test in the clinical setting to provide a comprehensive, scalable and financially feasible method for *M. tuberculosis* complex (MTBC) diagnostics.

RS24

Micobacteriosis asociadas a procesos invasivos e injurias en piel en un Laboratorio de Referencia Nacional en el período 2010-2017. Agentes causales y su perfil de sensibilidad

Roxana Paul¹, Alexandra Sandoval¹, Griselda Lafuente¹, Ingrid Wainmayer¹, Jose Paolo¹, Francisco Mazzeo¹, Norberto Simboli¹.
(1) Departamento de Bacteriología, Servicio Micobacterias, INEI ANLIS "Dr. C. G. Malbrán", Ciudad Autónoma de Buenos Aires, AR

Introducción Las micobacterias no tuberculosis (MNT) rara vez causan patología en individuos inmunocompetentes. En los últimos años se ha observado un incremento de las infecciones por MNT por traumatismos que alteran la barrera cutánea, procedimientos dermoestéticos e intervenciones médicas invasivas. **Materiales y Métodos** Se analizaron los resultados de 222 aislamientos clínicos de pacientes con procedimientos invasivos e injurias en piel causantes de micobacteriosis durante el período 2010-2017. Los aislamientos fueron identificados por PRA y en algunos casos además, por MALDI-TOF y pruebas bioquímicas. Para cada especie se determinó la concentración inhibitoria mínima a los antibióticos recomendados en las normas de la CLSI. **Resultados** De los 222 aislamientos, 49 (22,1%) procedían de pacientes con injurias en piel y 173 (77,9%) de pacientes sometidos a procedimientos invasivos. De estos últimos, 101 (58,4%) se debieron a procedimientos estéticos y 72 (41,6%) a intervenciones médicas. Las especies más frecuentes asociadas a injurias en piel fueron *M. marinum* (n=17); seguida por las especies de rápido desarrollo *M. chelonae* (n=10), *M. fortuitum* (n=8) y *M. abscessus* (n=3). Las especies más frecuentemente asociadas a pacientes con procedimientos invasivos fueron las MNT de rápido desarrollo (92%), *M. fortuitum* (n=67), *M. abscessus* (n=43), *M. chelonae* (n=36), y dentro de las nuevas especies descriptas *M. senegalense* (n=13) y *M. mageritense* (n=8). Más de la mitad de los aislamientos de *M. fortuitum*, *M. abscessus* y *M. mageritense* resultaron resistentes a claritromicina, mientras que *M. chelonae* y *M. senegalense* fueron sensibles. *M. abscessus* es la especie que presenta mayor nivel de resistencia a fluoroquinolonas, amikacina, tobramicina, linezolid y doxiciclina, pero muestra sensibilidad variable a cefoxitina. *M. marinum* resultó sensible a claritromicina, fluoroquinolonas, amikacina y rifampicina, pero aproximadamente el 50% de los aislamientos fueron resistentes a tetraciclinas. **Conclusiones:** Si bien todas las especies de MNT pueden causar infecciones, las micobacterias de rápido crecimiento son los principales agentes causales de las micobacteriosis asociadas a procesos invasivos y *M. marinum* a injurias de la piel. Como muestran una gran variabilidad en su respuesta a los antibióticos, es necesario realizar la identificación a nivel de especie y determinar su perfil de sensibilidad in vitro.



RS25

Reporter mycobacteriophages for rapid TB-diagnosis in sputum samples and screening of new antitubercular drugs

Mariana Piuri¹. ⁽¹⁾ Departamento de Química Biológica- IQUIBICEN CONICET, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, AR

WHO estimates that 40% of tuberculosis cases go undiagnosed and consequently not treated. In 2016, WHO recommended the use of rapid molecular tests to speed up tuberculosis drug susceptibility testing (DST) although due to the cost of equipment and supplies, Ziehl Neelsen staining of *Mycobacterium* spp. in sputum, with subsequent culture to determine viable bacilli and DST using the proportion method is often the method of choice. Fluoromycobacteriophages are reporter mycobacteriophages containing a fluorescent gene. These phages are a simple and rapid mean of revealing the metabolic state of *M.tuberculosis* cells, and their response to antibiotics. We constructed a new Fluoromycobacteriophage, mCherrybombf, with higher sensitivity and less time to detection of signal in *M. tuberculosis*. We developed a simple microscopy-based methodology for detection of viable *Mycobacterium* spp. and phenotypic determination of rifampicin resistance in 3-5 days from sputum sample collection compatible with regularly used protocols in clinical laboratories for TB diagnosis. Paraformaldehyde fixation after infection reduces biohazard risks. We tested mCherrybombf for extended DST of clinical isolates of pre-XDR and XDR-TB strains and we compared the antibiotic resistance profile with those predicted by whole genome sequencing emphasizing the utility of a phenotypic test for *M. tuberculosis*. We had also set up the conditions for infection of pure cultures in a multiwell format in the presence of increasing concentrations of drugs monitoring the appearance of fluorescence as a function of time using a fluorimeter. Complete DST of *M. tb* could be done from pure culture in 6 or 30 hs (when pre-incubation with the drug was required). Overall, we have developed a simple and inexpensive assay for rapid detection and determination of rifampicin resistance of *M.tb* in sputum samples. This new method could facilitate therapy and prevent the spread of drug-resistant strains in low resource settings. Finally, we had optimized the conditions for an automated phenotypic assay to test in a short time susceptibility of pure cultures to different drugs used for TB treatment. The implementation of this standardized methodology will also contribute to the development of a rapid, easy and high sensitive method for HTS of new anti TB drugs.

ANPCyT PICT2009-009, CONICET PIP 2011-0222 ANPCyT PICT2015-3861



RS26

ATPasas tipo P como dianas para el diseño de compuestos antibacterianos

Lorena Novoa¹, Andrés León ¹, Paola Santos¹, Milena Maya¹, Marcela López¹, Cristian Rosales¹, Laudy Quitian¹, Carlos Ayala¹, Fabián López-Vallejo¹, Soto Carlos Yesid¹. ⁽¹⁾ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, CO.

Actualmente, se considera a las proteínas de membrana plasmática como dianas muy interesantes para el diseño de antimicrobianos, debido a su implicación biológica, y al ser más fácilmente accesibles a compuestos activos. Nuestro grupo de investigación se dedica, entre otros, a evaluar el potencial de las ATPasas tipo P como blancos de viabilidad y atenuación en *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), toda vez que estas enzimas se activan en respuesta de las concentraciones altas de metales al interior del macrófago. Aproximaciones bioinformáticas, nos permitieron clasificar las ATPasas tipo P de Mtb de acuerdo a la especificidad del posible catión transportado. En este sentido, análisis del comportamiento transcripcional y otros análisis funcionales al someter las micobacterias, y algunos mutantes de estos transportadores, a concentraciones tóxicas de metales, estrés nitrosativo, estrés oxidativo e hipoxia, condiciones similares al interior del macrófago infectado, sugieren que las ATPasas tipo P CtpF/CtpH y CtpE de Mtb estarían implicadas con el eflujo y la tolerancia a concentraciones tóxicas de Ca^{2+} y Na^+ , respectivamente. Además CtpE se activaría en respuesta al choque osmótico. Respecto al transporte de metales pesados, establecimos una estrecha relación entre la actividad de CtpA/CtpB y CtpG de Mtb y la tolerancia de las micobacterias a concentraciones tóxicas de Cu^{2+} y Cd^{2+} , respectivamente. Específicamente CtpA/CtpB estarían relacionadas con la metalación de proteínas extracitoplasmáticas. Finalmente, estudios de espacio químico y cribado virtual, basado en un modelo de farmacóforo, comprobaría que las ATPasas tipo P son dianas drogables, que nos han permitido postular algunos compuestos que interaccionan con alta afinidad al sitio de unión al catión, como posibles compuestos antibacterianos.

Este trabajo ha sido financiado por la División de Investigación Bogotá, Universidad Nacional de Colombia (Proyectos 15835, 26754, 40816, 35885, 27754, 23667, 18726 y 18534) y Colciencias (Proyecto 110171250419)



RS27

Diseño y optimización de una poliproteína de fusión para el diagnóstico diferencial de Tuberculosis y Paratuberculosis bovina, y su potencial uso como vacuna.

Moyano RD¹, Alonso N¹, Mon ML¹, Griffa N¹, Cuerda X¹, Colombatti A¹, Santangelo MP¹, Romano MI¹. ¹ IABIMO, Instituto Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular del CICVyA INTA, Buenos Aires, Argentina.

El control de la paratuberculosis (PTB) requiere desarrollar nuevas soluciones para el diagnóstico y vacunas. Actualmente, la técnica del estándar de oro es el cultivo bacteriano; sin embargo, es una estrategia compleja dado el lento crecimiento de *Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis (Map). En este contexto, el objetivo del presente trabajo es desarrollar una herramienta de diagnóstico basada en un ELISA y una inmunocromatografía de flujo lateral (LFIC) que permita el diagnóstico específico de paratuberculosis. Para ese propósito, antígenos previamente identificados y caracterizados por nuestro grupo se sintetizaron como poliproteínas y expresaron en *E. coli* BL21. Para el desarrollo del ELISA, se utilizaron 100 μ l de la poliproteína (0,25 mg / ml) y se evaluaron sueros correspondientes a animales sanos, bovinos infectados con Map y bovinos infectados con *M. bovis*. Paralelamente, se analizó los mismos sueros con otro ELISA utilizando un antígeno comercial (PPA-3). Nuestros hallazgos mostraron que ELISA-PPA-3 reacciona con sueros de animales infectados con *M. bovis*, mientras que la poliproteína es sensible y específica para el diagnóstico de PTB. Para el desarrollo del LFIC, la proteína G se conjugó con oro coloidal, se usaron inmunoglobulinas bovinas purificadas (0,05 μ g / μ l) en la línea de control y la poliproteína (0,5 μ g / μ l) se usó como línea de prueba. Se evaluaron los mismos sueros y se logró una correlación con los resultados del ELISA utilizando la poliproteína.

En cuanto a las vacunas comerciales contra la PTB, como Silirum, reducen la enfermedad clínica y la excreción fecal de (MAP). Sin embargo, existen restricciones reglamentarias sobre el uso de esta vacuna porque interfieren con la prueba cutánea de tuberculina. En este trabajo evaluamos en el modelo de ratón: 3 grupos de ratones BALB / c hembra A) control: grupo no vacunado, B) vacunado con la poliproteína, C) vacunados con una cepa local inactivada con un booster con MVA85A. Un mes después de la última dosis de vacuna, los ratones se sometieron a un desafío con 1×10^8 CFU de una cepa Map virulenta. Los resultados indican que nuestra vacuna en los ratones induce una respuesta inmune y protección.



RS28

Contribution of molecular tools in cases of recurrent tuberculosis

Andrea Von Groll¹, Jaciara Diniz¹, Neves Yasmin C.I.¹, Almeida Da Silva Pedro E.¹ ⁽¹⁾ Núcleo de Pesquisa em Microbiologia Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, BR

Tuberculosis (TB) recurrence in patients who completed the treatment is a challenge to control the disease. Around 8% of the new tuberculosis (TB) cases in Brazil are from patients with recurrence, which is a new case of the disease in patients who developed TB in the past, and for whom the bacteriological confirmation of cure and / or treatment was completed. Recurrent TB is a challenge for the control of this disease, since its high rate is associated with a high prevalence of TB, co-infection with human immunodeficiency virus (HIV) and antimicrobial resistance. Recurrent episodes of TB can occur through endogenous reactivation of the bacillus *Mycobacterium tuberculosis* that persisted in the host even after treatment or by exogenous reinfection through a new bacillary load. Both situations are clinically indistinguishable, but their definition may indicate the effectiveness of treatment or control of bacillus transmission in a given population. For the definition of recurrence cases, the *Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit (MIRU)* genotyping method is the most used because of its high discriminatory power and ease of comparison of genotypes. However, it may underestimate the frequency of reinfection by not distinguishing a new infection with a strain that has the same genotypic profile as the previous episode. The tool that best defines the type of recurrence is the Whole Genome Sequencing (WGS) and that due to the new technologies for sequencing and bioinformatics for assembly and genome analysis; it has become more accessible and applied on a large scale. Through WGS, it is possible to discriminate more accurately reactivation and reinfection, as well as mixed infection by more than one strain and heterogeneity (microevolution of a strain in the host). In addition, when isogenic isolates are obtained in different infection episodes, the genetic alterations can be determined due to the selective pressures faced by the microorganism in the host, by either the consumption of antimicrobial, other drugs, comorbidities or the host immune system. These variations can lead to the development of resistance and alter the fitness of the bacillus, influencing its capacity for multiplication, infection and pathogenicity.

CNPq/Universal, process n. 432901/2016-7

Infección de macrófagos con *Mycobacterium tuberculosis* latente: análisis transcripcional

Samantha Yong-Mendoza¹, Zaga-Clavellina Claudia V.², Moisés León-Juárez², Rodrigo García-Herrera³, Sandra Rivera-Gutiérrez¹, Jorge Cerna-Cortés¹, González-y-Merchand Jorge A.¹, Cecilia Helguera-Repetto². ⁽¹⁾ Microbiología Molecular, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, CDMX, MX ⁽²⁾ Inmunobioquímica, Torre de investigación, Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, CDMX, MX. ⁽³⁾ Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad, Instituto de Ecología, Universidad Autónoma de México, CDMX, MX

La tuberculosis, causada por *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), representa un problema de salud a nivel mundial. Durante la infección los macrófagos son la primera línea de defensa y, en la mayoría de los casos, la respuesta inmune controla la infección mediante el granuloma, en cuyo interior se encuentran las micobacterias sometidas a condiciones de estrés que inducen un estado de persistencia. El objetivo de este trabajo fue analizar la expresión global de Mtb y de un grupo de genes humanos relacionados con la respuesta inmune innata, durante la infección de macrófagos cuando la micobacteria proviene de un estado de latencia in vitro. Para lo cual, se utilizó el modelo de Wayne y Hayes para inducir la latencia y se infectaron macrófagos THP-1. Se obtuvo el RNA total, tanto de las micobacterias intracelulares como de los macrófagos infectados, y se analizó la expresión genética mediante un microarreglo. Se encontró que los genes micobacterianos *wag31* y *kdpC* se sobre-expresaron durante la infección temprana con ambas fases de latencia (NRP1 y NRP2) respecto a la infección con la fase Log y que 18 genes se sobre-expresaron durante la infección con la fase NRP1 respecto a la infección con la fase NRP2; entre estos genes se resaltan: *vapC17*, *parE2*, *relG*, *tgS4* y *Rv2484c*. Durante la infección con bacilos latentes las categorías funcionales correspondientes a: metabolismo de lípidos, vías de señalización, síntesis de pared celular y procesos celulares, intermediarios del metabolismo y la respiración y proteínas hipotéticas conservadas mostraron un mayor número de genes sobre-expresados que durante la infección con bacilos activos. La infección con las micobacterias latentes indujo la sobre-expresión de un mayor número de genes de los macrófagos que la infección con los bacilos activos. Los más expresados fueron: *HLA-DQB1*, *PGK1*, *FTO*, *CASP7*, *RAB7A*, *HLA-DRB3*, *IL23A* y *VAMP7*. En conclusión, proponemos nuevos marcadores moleculares de la infección temprana con micobacterias latentes y se sugiere que la persistencia de Mtb durante la infección está mediada por sistemas toxina-antitoxina y por los genes *tgS4* y *Rv2484c*. Además, confirmamos que Mtb latente puede manipular la respuesta inmune del macrófago para generar un microambiente adecuado para su persistencia.



RS30

Microbiota, Salud y Tuberculosis María Mercedes Zambrano¹. ¹ Departamento de Genética Molecular, Corporación CorpoGen, Bogotá, Colombia.

Hoy entendemos que las comunidades microbianas son un componente esencial de cualquier ecosistema. En el humano estamos apreciando cada vez más que esta microbiota puede tener un papel importante en el estado de salud de su hospedero. Un nicho de gran relevancia es el tracto respiratorio, el cual alberga gran cantidad de microorganismos tanto en individuos sanos como en personas con enfermedades respiratorias. El reto actual es entender el papel que juegan estas comunidades en enfermedades como la tuberculosis ya que alteraciones en estas comunidades puede tener efecto sobre el proceso de infección y el desenlace de una enfermedad. En esta presentación daré una visión general sobre estas comunidades microbianas y su posible impacto en el estado de salud y de enfermedades como la tuberculosis.

Este trabajo ha sido financiado en parte por Colciencias (proyectos 639676359556 y 63967255342).



RS31

Comparative genomics of strains used in BCG vaccine production

Leila Mendonça-Lima

Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz - Rio de Janeiro, RJ Brazil

Mycobacterium bovis BCG remains the only vaccine available against tuberculosis, and has been in use for over ninety years. Molecular characterization and genome sequencing shows that the different BCG strains used worldwide for vaccine production differ genetically, with potential impacts on vaccine efficacy. In Brazil, BCG strain Moreau has been in use since 1928 - the vaccine is given at birth and is provided freely by the Ministry of Health. Our aim is to understand the functional impact of selected mutations, mapped through comparative genomic analysis, contributing to the detailed molecular characterization of the Brazilian vaccine strain.



AUTHORS INDEX

SOMICH Auspiciador



FERAMELO BIOTEC

GENE/RESS

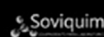
GRUPOBIO



AROQUIM INNOVACIÓN



BIOMÉRIEUX



ThermoFisher SCIENTIFIC



SOMICH Patrocinador



ASOCHIN Auspiciador



Media Partner



Colaborador

