IV Jornadas Latinoamericanas de Bacteriófagos

LIBRO DE RESÚMENES

Montevideo, Uruguay - 12 y 13 de marzo de 2026

Institut Pasteur de Montevideo

FACULTAD DE CIENCIAS
UDELAR | fcien.edu.uy

kinzbio®

Charlas

Ordenadas alfabéticamente por apellido del orador

Uso de bacteriófagos como antimicrobianos en la agricultura: experiencias y desafíos

Sesión 4 ★ *Conferencia plenaria*

Bastias, Roberto[1]

[1] *Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV), Valparaíso, Chile*

Chile es uno de los principales productores de frutos del hemisferio sur. Entre sus principales exportaciones destacan el kiwi y el cerezo. Sin embargo, esta industria se enfrenta constantemente a distintos desafíos que le restan competitividad, entre los que se destacan las infecciones producidas por bacterias del complejo *Pseudomonas syringae*. Estas infecciones normalmente se combaten con compuestos basados en cobre e incluso antibióticos, sin embargo, estos compuestos generan resistencia bacteriana, contaminan el ambiente y pueden generar fitotoxicidad. En este contexto, se ha propuesto el uso de bacteriófagos como biocontroladores naturales de las bacterias.

Nuestro equipo aisló y caracterizó fagos contra *Pseudomonas syringae* pv. actinidiae (Psa) responsable del cancro bacteriano del kiwi. Con base en estos fagos se desarrolló una formulación capaz de combatir la bacteria en condiciones in vitro y en tejido vegetal de kiwi, reduciendo la carga bacteriana y la sintomatología. Se evaluó el efecto protector de distintos compuestos para aumentar la viabilidad de los fagos frente a condiciones ambientales adversas y de almacenamiento, observándose además, que los fagos pueden distribuirse sistémicamente en la planta de kiwi. Los fagos fueron evaluados durante dos temporadas en huertos productivos de kiwi, mostrando un mejor desempeño que los tratamientos habituales basados en cobre. Finalmente, también se evaluó la coevolución entre un fago y una cepa de Psa observándose que el fago puede persistir junto a la bacteria en distintos entornos.

Por otro lado, también se generó un banco de bacteriófagos capaces de infectar bacterias del complejo *Pseudomonas syringae* asociadas a cerezos. Estos fagos fueron caracterizados y mostraron capacidad de infectar distintas cepas de *Pseudomonas syringae* pv. syringae*, Pseudomonas syringae* pv. morsprunorum y *Pseudomonas viridiflava*, validando su potencial para su uso como biocontroladores en cerezos.

Estos antecedentes muestran que los bacteriófagos constituyen una alternativa viable para controlar infecciones bacterianas que afectan a la producción de frutales, contribuyendo así a la sustentabilidad de la industria agrícola.

Financiamiento: FONDEF ID15I20032, FONDEF ID24I10127

Harnessing Evolution at the Bench and Bedside to Combat Antimicrobial Resistant Infections

Sesión 5 ★ *Conferencia plenaria*

Chan, Benjamin[1]

[1] *Yale University, New Haven, Estados Unidos*

Antimicrobial resistance is one of the most urgent threats in modern medicine, demanding new strategies that do more than simply kill pathogens. Our research focuses on harnessing evolution itself as a therapeutic tool, using bacteriophages and evolutionary trade-offs to steer bacterial populations toward less resistant, less virulent, and more treatable states. Spanning work at the bench and bedside, this approach integrates basic evolutionary microbiology, phage discovery and engineering, translational therapeutic development, and clinical implementation in patients with multidrug-resistant infections. In this talk, I will discuss how evolution-guided phage therapy can be used not only to target resistant pathogens directly, but also to reshape their adaptive trajectories in ways that restore antibiotic sensitivity and expand treatment options. Together, these studies illustrate how evolutionary principles can be transformed into practical anti-infective strategies for the clinic.

Development of a bacteriophage-based electrochemical biosensor for Salmonella enterica detection

Sesión 1 ▸ *Presentación oral seleccionada*

Chinchilla Sarmiento, Sebastian[1], Nontoa Navarrete, Oscar Andrés[1], Osma Cruz, Johann Faccelo[2], Vives, Martha[3]

[1] *Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia*
[2] *Department of Electrical and Electronic Engineering, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia*
[3] *Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia*

Salmonella species cause approximately 94 million cases of gastroenteritis and 155,000 deaths worldwide each year. In Colombia, *Salmonella shows* a high prevalence in poultry production systems, reaching up to 41%, with *Salmonella enterica* serotypes Typhimurium and Enteritidis being the most frequently reported. Rapid, sensitive, and on-site detection of this pathogen remains a major challenge for food safety and public health.

Bacteriophages have emerged as highly specific and cost-effective biorecognition elements for biosensor development due to their natural host specificity and robustness. In this study, we developed an electrochemical biosensor based on the immobilization of the *Salmonella enterica-infecting* bacteriophage φSan23 onto an electrode surface for the detection and quantification of viable bacterial cells.

Surface functionalization strategies were evaluated to achieve stable bacteriophage immobilization while preserving phage infectivity. The presence and distribution of immobilized bacteriophages on the electrode surface were confirmed by atomic force microscopy (AFM), and their biological activity was validated through infection assays with the host strain. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and cyclic voltammetry (CV) measurements were performed using a portable potentiostat integrated into an Internet of Things (IoT)-based system that transmits electrochemical data to a web-based application via an internet connection. This platform enables real-time signal acquisition, visualization, and analysis using a smartphone or other connected devices, allowing remote access without specialized training.

This configuration allows the biosensor to provide results in approximately five minutes, supporting rapid decision-making to prevent economic losses and unnecessary animal culling in poultry production systems.

The biosensor was evaluated using the bacteriophage host strain at different bacterial concentrations, showing a clear concentration-dependent electrochemical response. Ongoing assays aim to assess the specificity of the biosensor against non-host bacterial strains. The proposed biosensor represents a low-cost, easy-to-use tool for on-site and remote monitoring of *Salmonella enterica* in poultry production and broiler farming environments.

Caracterización estructural y funcional del complejo involucrado en el empaquetamiento de dsDNA en bacteriófagos Caudoviricetes

Sesión 2 ▸ *Presentación oral seleccionada*

Dominguez Antty, Jairo Herlan[1], Sgro, Germán Gustavo[1]

[1] *Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brasil*

Los bacteriófagos de la clase *Caudoviricetes* desempeñan un papel clave en la dinámica microbiana y poseen un gran potencial biotecnológico, especialmente en el contexto de la fagoterapia. Un paso crítico en el ciclo lítico de estos virus es el empaquetamiento del ADN viral en la cápside, un proceso mediado por el complejo de terminasas. Este proyecto tiene como objetivo caracterizar estructural y funcionalmente las terminasas de fagos representativos de las familias *Podoviridae* (ZC03 y ΦXacm4-11), *Siphoviridae* (ZC01) y *Myoviridae* (LafX), aislados en el laboratorio del promotor. El enfoque experimental incluye la clonación heteróloga y la expresión de genes codificantes de terminasas, la purificación de las subunidades y el análisis de las interacciones del ADN mediante técnicas bioquímicas y biofísicas (como EMSA, ITC y DSF), así como ensayos de actividad de ATPasa y endonucleasa. El análisis estructural se realizará mediante microscopía electrónica de transmisión con tinción negativa y crio-microscopía electrónica (crio-EM). Hasta el momento, se ha logrado la construcción y expresión de dos vectores, cada uno portador de una proteína del complejo de terminasas del fago ZC01, además de obtener las primeras imágenes mediante microscopía electrónica. Actualmente se continúa con las metodologías necesarias para la obtención de los vectores correspondientes a cada fago. Se espera que este proyecto genere datos estructurales y funcionales que permitan comparar los mecanismos moleculares empleados por las terminasas de diferentes familias virales, contribuyendo así a la comprensión de las estrategias de empaquetamiento del ADN en fagos y abriendo nuevas vías para la aplicación de estas proteínas en biotecnología y terapias basadas en virus.

Impulsando el estudio de fagos contra enterobacterias MDR en Uruguay: primeras experiencias

Sesión 3 ◆ *Charla invitada (investigador joven)*

Echeverría, Natalia[1,2]

[1] *Universidad de la República (UdelaR), Montevideo, Uruguay*

[2] *Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay*

El aumento de la resistencia antimicrobiana ha impulsado la diseminación de enterobacterias multirresistentes (MDR), entre ellas *Klebsiella pneumoniae*, un patógeno clave en infecciones intrahospitalarias. Frente a la disminución de opciones terapéuticas, los bacteriófagos líticos resurgen como alternativas prometedoras para tratamiento y biocontrol hospitalario.

Este trabajo integra estudios destinados a conformar una colección local de fagos y evaluar fagos virulentos aislados en Uruguay y en el Reino Unido frente a aislamientos clínicos MDR representativos de los últimos 15 años en Uruguay. Se analizó un panel de 47 aislamientos clínicos locales de *Klebsiella* spp., junto con cinco cepas de referencia o de Reino Unido. Se aislaron 13 fagos de aguas residuales uruguayas y se evaluaron junto con 42 fagos de la colección KlebPhaCol.

El rango de hospedero y la eficiencia de plaqueo se determinaron mediante ensayos de doble capa de agar, observándose que el 55% de las cepas fueron susceptibles a al menos un fago. Los fagos seleccionados mostraron estabilidad en condiciones fisiológicas y de almacenamiento (pH 5–9/5–11; 4–42°C hasta 60°C), con disminución de títulos en condiciones extremas, y perfiles de infección complementarios que respaldan el diseño de cócteles.

La secuenciación genómica confirmó su naturaleza estrictamente lítica, la ausencia de genes de virulencia y resistencia, e identificó depolimerasas putativas asociadas a reducciones de hasta un 50% en biofilms preformados. En cultivos líquidos se observó inhibición temprana del crecimiento bacteriano, aunque con emergencia de resistencia a las 5–6h.

Los cócteles fágicos mostraron mayor control de bacterias planctónicas (óptimo a MOI 1). En ensayos de descontaminación de superficies de vidrio contaminadas con 10^4 UFC, no se detectaron bacterias viables a los 60 minutos (MOI 1 y 10), con eficacia comparable al etanol al 70%. Estos resultados respaldan su potencial terapéutico y de biocontrol frente a *K. pneumoniae* MDR en Uruguay.

El papel emergente de las vesículas extracelulares en la infección

Sesión 7 ▸ *Presentación oral seleccionada*

Filizzola, Antonella[1], Domínguez Rubio, Ana Paula[1], Piuri, Mariana[1,2]

[1] *Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina*
[2] *HerelleX, Buenos Aires, Argentina*

Las vesículas extracelulares (EVs) son reconocidas como mediadoras clave en la comunicación intercelular, pero su papel en las interacciones bacteria-fago sigue siendo poco comprendido. En el laboratorio estudiamos la influencia de las EVs producidas por *Lacticaseibacillus casei* BL23 en la infección del fago J-1. Nuestra hipótesis es que la inducción de los profagos PLE2 y PLE3, provocada por la exposición de los cultivos bacterianos al antibiótico Mitomicina C (MITC), modificaría tanto la producción como el contenido de las EVs liberadas por *L. casei* BL23, y que estas EVs podrían modular la susceptibilidad de la población bacteriana a la infección por fagos.

En primer lugar, se exploró la internalización de EVs por parte de *L. casei* BL23. Para ello, se aislaron y marcaron las EVs con CFSE y, tras una incubación con bacterias marcadas con Rodamina B se las observó por microscopía confocal.

Por otro lado, se estudió el efecto de las EVs sobre la dinámica de infección por fagos, utilizando EVs derivadas de cultivos inducidos con MITC (EVs-MITC) y de cultivos no tratados. Para ello, se pre-incubaron los cultivos bacterianos con diversas concentraciones de EVs provenientes de ambos tratamientos y se evaluó la supervivencia bacteriana mediante curvas de crecimiento, en presencia o ausencia del fago J-1.

Las EVs control no alteraron de manera significativa el crecimiento bacteriano ni la susceptibilidad al fago J-1; sin embargo, las EVs-MITC sí modificaron la dinámica de la infección. Estos resultados sugieren que las EVs liberadas tras la inducción de los profagos podrían desempeñar un papel modulador en las interacciones entre bacterias y fagos. A futuro, un mayor entendimiento de los mecanismos de comunicación mediada por EVs podría ofrecer nuevas estrategias para el control de fagos, un desafío relevante en las industrias farmacéutica y alimentaria debido a su capacidad para interferir en los procesos biotecnológicos.

A Regional View of Human Gut Phage Diversity in Latin America

Sesión 6 ▸ *Presentación oral seleccionada*

García-Botero, Camilo[1], Reyes, Alejandro[1]

[1] *Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia*

Knowledge of the human gut virome is largely derived from cohorts in Europe, North America, and Asia, while Latin American populations remain underrepresented. This limits our understanding of how gut phage diversity and community structure vary across geographic and socio-demographic contexts. Here, we characterize the virome across Latin America using 606 fecal samples collected from 33 cities in eight countries, spanning a continuous rural–urban gradient.

From this regional dataset, 47,882 viral sequences longer than 10 kb were recovered using metagenomic assembly and multiple independent viral detection approaches, and integrated with the Gut Phage Database (GPD). After dereplication and prevalence- and abundance-based filtering, a final set of 6,183 viral operational taxonomic units (vOTUs) was retained for downstream ecological analyses. Using this vOTU set, community structure was assessed

through beta-diversity analyses, revealing consistent differentiation across the rural–urban gradient and geographic origin. Rural samples showed greater dispersion and higher viral diversity, whereas urban samples clustered more tightly, with Mexico and Ecuador contributing strongly to the observed variation, suggesting an interplay between geography and population-level factors.

To further explore the organization underlying these community-level patterns, the 6,183 vOTUs were grouped using shared gene network analyses with vConTACT3, enabling the inference of putative viral taxonomic clusters. This approach identified 155 orders, 853 families, and 3,865 genera, the majority lacking prior classification, highlighting extensive taxonomic novelty in the Latin American gut virome. Family-level composition, summarized through correlation heatmaps, revealed groups of viral families with contrasting associations to rural and urban contexts and country of origin.

Overall, this study establishes a regional reference framework for the diversity and ecological organization of human-associated bacteriophages in Latin America, revealing variation in gut virome composition associated with demographic factors such as lifestyle and highlighting the need for broader, well-characterized population studies.

First approved and commercially available phage therapy platform in Latin America: clinical progress and perspectives from Kinzbio

Sesión 3 ⬡ *Charla de industria*

Gutiérrez, Victoria[1]

[1] *Kinzbio, Montevideo, Uruguay*

Abstract no disponible.

From Petri dish to patient: Mycobacteriophages and their therapeutic potential

Sesión 3 ★ *Conferencia plenaria*

Hatfull, Graham[1]

[1] *University of Pittsburgh, Pittsburgh, Estados Unidos*

Mycobacteriophages are viruses infecting *Mycobacterium* hosts. Nearly 15,000 phages have been isolated on *Mycobacterium smegmatis* by faculty and students in the broadly implemented SEA-PHAGES program, and nearly 2,800 have been sequenced and annotated. These data provide a very high-resolution view of the diversity of phages infecting a single strain of a single bacterial species and reveal evolutionary mechanisms generating this diversity. *Mycobacterium tuberculosis* and non-tuberculous mycobacteria (NTM) – particularly *Mycobacterium abscessus* – are important human pathogens and are often difficult to treat requiring lengthy regiments with multiple drugs. A subset of the phages isolated on *M. smegmatis* have relatively broad host ranges and infect most *M. tuberculosis* strains, and small subsets of *M. abscessus* clinical isolates. Because few phages have been isolated directly on *M. tuberculosis* or any strain of *M. abscessus*, the *M. smegmatis* phages provide a resource for therapeutic options, although they often require genetic modification or engineering to kill the bacteria efficiently in vitro. Following the first clinical use of phages to treat an *M. abscessus* infection reported in 2019, we have screened approximately 600 clinical isolates from patients with failed antibiotic therapies and have identified and provided phages for treating 50 patients; many have favorable clinical or microbiological outcomes. Future therapeutic use of phages is likely to focus on synthetic virus-like entities built by design and imbued with genetic attributes that broaden and optimize their utility and are devoid of unknown or undesirable attributes. Synthesis, assembly, and rebooting of high GC% mycobacteriophages establishes a foundation for these approaches.

Enfrentando los desafíos sanitarios del agro y los alimentos mediante bacteriófagos

Sesión 4 ⬡ *Charla de industria*

Hernández, Santiago[1]

[1] *SciPhage, Bogotá, Colombia*

The increasing pressure to reduce antibiotic use in animal production has accelerated the search for alternative strategies to control bacterial diseases while maintaining productivity and food safety. Bacteriophages represent a promising tool due to their specificity, safety, and compatibility with sustainable production systems. However, translating phage technology from the laboratory to real production systems requires not only scientific development but also close interaction with producers and a deep understanding of the industry.

In this talk, we present the development pathway of SciPhage, a biotechnology company focused on bacteriophage-based solutions for the agricultural sector. We describe the experience gained during the development and field

implementation of a phage-based product targeting *Salmonella* in poultry, highlighting its impact on both sanitary and productive parameters. Field results show that phage application can reduce *Salmonella* prevalence while improving key production indicators, demonstrating that phage-based strategies can simultaneously contribute to animal health, food safety, and farm profitability.

Beyond technical results, we share key lessons learned from working directly with producers, veterinarians, and industry stakeholders. These include challenges related to the perception of phages as viruses, misconceptions about specificity and resistance, and the importance of continuous surveillance, data generation, and communication with the production sector. Finally, we discuss how these lessons have guided the development of new phage-based solutions targeting pathogens relevant to poultry, livestock, and food safety, reinforcing the role of phage technology within a One Health framework.

Structural similarity–based discovery of *Klebsiella pneumoniae* bacteriophage depolymerases with anti-biofilm activity

Sesión 6 ◆ *Charla invitada (investigador joven)*

Liste, Guadalupe[1], **Megrian, Daniela**[1]

[1] *Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay*

Antimicrobial resistance is a major global health threat, exacerbated by the capacity of pathogens such as *Klebsiella pneumoniae* to form biofilms that increase tolerance to antibiotics and immune clearance. Bacteriophage-encoded depolymerases are promising anti-virulence agents because they can degrade extracellular polysaccharide matrices, weakening biofilms and improving bacterial removal.

Here, we present an integrated pipeline to identify and characterize *K. pneumoniae* phage depolymerases by combining genomic and structural information with experimental validation. We compiled 8,435 complete bacteriophage genomes and performed gene prediction and annotation. We also assembled reference sets of experimentally validated depolymerases and phage proteins, and generated 3D structural models using AlphaFold. Candidate depolymerases were prioritized using three complementary strategies: (i) conserved-domain detection, (ii) structural similarity search with Foldseek, and (iii) analysis of hypervariable genomic regions. Performance was benchmarked against machine-learning approaches (DePP and PhageDPO).

Structural similarity–based screening achieved the best overall precision and the lowest false-positive rate, highlighting its advantage over sequence-only methods. Experimentally, we sequenced eight local bacteriophages using Oxford Nanopore technology and identified two functional depolymerases in phage KP8, consistent with plaque lysis phenotypes. This work provides a robust framework for depolymerase discovery and validation, supporting the development of anti-virulence strategies against multidrug-resistant K. pneumoniae.

Guardians of yogurt and cheese: Meet the defensome of Streptococcus thermophilus

Sesión 5 ★ *Conferencia plenaria*

Moineau, Sylvain[1]

[1] *Université Laval, Quebec, Canadá*

Streptococcus thermophilus (ST) is an industrially relevant Gram-positive lactic acid bacterium widely used in the dairy industry as a starter culture to produce yogurt and various cheeses. However, dairy facilities face a constant risk of fermentation failures caused by virulent phages, that can inactivate these selected ST cells. The presence of such phages can lead to manufacturing delays, reduced product quality, or, in the worst cases, complete production loss. To prevent this, rigorous phage monitoring and strict anti-phage strategies are essential. One of the most effective approaches is the use phage-resistant bacterial strains. Among the different resistance mechanisms, CRISPR-Cas systems are by far the most significant in ST, and CRISPR-based phage-resistant ST strains are now used worldwide. Nevertheless, the emergence of virulent phages that encode anti-CRISPR (ACR) proteins capable of neutralizing CRISPR-Cas defenses, threatens the effectiveness of this primary strategy for developing phage-resistant ST cultures. In this presentation, I will discuss additional non-GMO strategies used to enhance the phage resistance of ST strains.

In vitro and in vivo evaluation of phage therapy and plant extracts for effective eradication of Vibrio-associated biofilms in shrimp aquaculture: an eco-friendly approach

Sesión 4 ▸ *Presentación oral seleccionada*

Nolivos-Rodríguez, Karla[1], Gualle, Arleth[2], Orejuela-Escobar, Lourdes[2], Tejera, Eduardo[3], Feijoo, Marcia[4], Vargas, Domenica[4], Aguilera-Pesantes, Daniel[4], Melo, Luis D. R.[5,6], Machado, António[1,7]

[1] *Instituto de Microbiología, COCIBA, Universidad San Francisco de Quito (USFQ), Quito, Ecuador*
[2] *Applied Circular Engineering & Simulation Group (GICAS), Colegio de Ciencias e Ingenierías, USFQ, Quito, Ecuador*
[3] *Grupo de Bioquimioinformática, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias Aplicadas, Universidad de Las Américas (UDLA), Quito, Ecuador*
[4] *Laboratorio de Microbiología, Research, Development and Strategic Planning Department, APB-BIO C.A., Guayas, Ecuador*
[5] *Centro de Engenharia Biológica (CEB), Universidade do Minho, Braga, Portugal*
[6] *Faculty of Pharmacy, University of Coimbra, Coimbra, Portugal*
[7] *Centro de Biotecnologia dos Açores (CBA), Departamento de Biologia, Universidade dos Açores, Ponta Delgada, Portugal*

The extensive use of antibiotics in shrimp aquaculture to control vibriosis has raised serious concerns due to antibiotic residues in food products and the emergence of antimicrobial-resistant bacteria, resulting in substantial economic losses. Consequently, the development of effective and environmentally sustainable alternatives is urgently required. Bacteriophage therapy and plant-derived extracts have emerged as promising strategies, particularly when combined to enhance antimicrobial efficacy. This study aimed to evaluate the antibacterial, antibiofilm, and therapeutic effect of plant extracts and bacteriophages, individually and in combination, through both *in vitro* and *in vivo* approaches. In vitro assays examined the eradication of mature 72-h *Vibrio biofilms* using epifluorescence Live/Dead staining and checkerboard assays to determine treatment interactions, revealing a synergistic effect between the phage cocktail and eucalyptus extract (FICI ≤ 0.5) and an additive effect with guava extract (0.5 < FICI ≤ 1.0). High concentrations of guava extract reduced phage viability, likely due to tannins contents, whereas eucalyptus extract exhibited stronger antimicrobial activity and greater phages compatibility. The eucalyptus–phage combination achieved up to 72% biofilm eradication in dual-species biofilms and up to 99% reduction in CFU counts. In vivo assays using experimentally infected juvenile shrimp were monitored over 120 h following treatment administration 24 h post-infection, demonstrating improved survival, with the phage cocktail (70%) and the phage–eucalyptus combination (62%) produced the highest survival rates compared to untreated controls, without significant toxicity. Overall, these findings suggest that the integration of phage therapy and phytotherapy represents a promising and sustainable alternative for controlling vibriosis in aquaculture. Furthermore, studies are needed to validate these results, and elucidate molecular mechanisms, metabolomics interactions, and gene expression responses associated with combined treatments in Vibrio-related biofilms.

Can Phages Change the Way We Diagnose and Treat Tuberculosis?

Sesión 1 ⬡ *Charla de industria*

Payaslián, Florencia[1]
[1] *HerelleX, Buenos Aires, Argentina*

HerelleX es una empresa biotecnológica que surge del grupo de investigación del Laboratorio de Bacteriófagos y Aplicaciones Biotecnológicas de la Universidad de Buenos Aires. La misión de Herellex es el desarrollo de una plataforma de soluciones innovadoras para la tuberculosis basadas en bacteriófagos. A partir de más de dos décadas de investigación en biología de fagos y micobacterias, la empresa explora el potencial de los fagos y de proteínas derivadas de fagos para aplicaciones en diagnóstico, descubrimiento de fármacos y desarrollo de nuevas estrategias antimicrobianas dirigidas contra *Mycobacterium tuberculosis*.

En esta presentación se describirá el desarrollo de un sistema diagnóstico basado en bacteriófagos reporteros capaz de detectar micobacterias viables y determinar susceptibilidad fenotípica a rifampicina directamente a partir de muestras clínicas en pocos días, reduciendo significativamente los tiempos requeridos por los métodos convencionales basados en cultivo. Asimismo, se presentarán líneas de investigación en desarrollo que exploran el uso de endolisinas de micobacteriófagos y plataformas basadas en fagos para el screening fenotípico de compuestos activos contra *Mycobacterium tuberculosis*.

Genetic and evolutionary determinants of mutation rate in bacteriophage φx174

Sesión 7 ◆ *Charla invitada (investigador joven)*

Pereira-Gómez, Marianoel[1]
[1] *Universidad de la República (UdelaR), Montevideo, Uruguay*

La mutación es la fuente última de variabilidad genética y, aunque resulta esencial para la adaptación, la mayoría de las mutaciones son deletéreas y generan lastre genético. La teoría evolutiva predice la existencia de una tasa óptima de mutación que equilibra adaptación y carga genética. Los virus constituyen modelos ideales para estudiar este equilibrio debido a su pequeño tamaño genómico, grandes poblaciones, rápido crecimiento y elevadas tasas de mutación. Estas oscilan entre 10^{-8} y 10^{-4} sustituciones por nucleótido y ronda de replicación, dependiendo principalmente de las enzimas replicativas. Los virus con genomas de ARN presentan mayores tasas por la ausencia de corrección de errores. En organismos con ADN se observa una tasa cercana a 0,003 sustituciones por genoma y ronda, inversamente relacionada con el tamaño genómico (regla de Drake).

El bacteriófago φX174, un virus de ADN monocatenario de ~6 kb, posee una de las tasas de mutación más altas entre virus de ADN y utiliza la polimerasa del hospedador para replicarse, lo que lo convierte en un modelo adecuado para estudiar mecanismos regulatorios no dependientes de la polimerasa viral.

En este trabajo se investigaron dos mecanismos de regulación de la tasa de mutación. Primero, se demostró que mutaciones en el gen de la proteína de lisis E, que retrasan el tiempo de lisis, aumentan el tamaño de la progenie y reducen aproximadamente a la mitad la tasa de mutación en presencia del mutágeno 5-fluorouracilo (5-FU), al disminuir el número de ciclos replicativos necesarios para expandir la población.

Segundo, se analizó el papel del sistema de reparación de apareamientos incorrectos (MMR) del hospedador. La introducción de sitios GATC en el genoma viral redujo hasta 50 veces la tasa de mutación en condiciones estándar, aunque el efecto dependió de su número y localización. Sin embargo, bajo estrés (alta temperatura o 5-FU) este efecto se revirtió y, en experimentos de evolución experimental, la presencia de GATC limitó la capacidad adaptativa en un nuevo hospedador. En conjunto, los resultados muestran que φX174 puede modular su tasa de mutación mediante cambios en rasgos del ciclo de vida y en la interacción con los sistemas de reparación del hospedador.

Deciphering the host recognition machinery of *Lacticaseibacillus casei* phage J-1

Sesión 7 ★ *Conferencia plenaria*

Piuri, Mariana[1]

[1] *Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina*

Bacteriophage J-1 was isolated in 1965 from an abortive fermentation of the Japanese beverage Yakult, which uses *Lacticaseibacillus casei* “Shirota” as a starter culture. Although J-1 has been extensively studied, its genome had not been sequenced. Genome sequencing and annotation revealed two putative tail proteins, gp16 and gp17. Immunoelectron microscopy confirmed that gp16 is located at the distal end of the tail. Structural modeling showed that gp16 is an “evolved” Dit (distal tail) protein containing two carbohydrate-binding modules (CBMs), one of which (CBM2) was structurally resolved by X-ray crystallography. The N-terminal region of gp17 resembles tail-associated lysins (Tal proteins), followed by a long tail fiber with a C-terminal CBM that is structurally similar to receptor-binding proteins (RBPs) from other Gram-positive phages.

Binding assays, using fluorescent protein fusions, demonstrated that gp16 and gp17 specifically recognize bacteria from the *Lacticaseibacillus casei*/*paracasei* group, and that purified cell wall polysaccharides rich in L-rhamnose inhibit phage adsorption and CBM2 binding.

Previous structural analysis combining electron microscopy and X-ray diffraction revealed a baseplate composed of a gp16 hexamer associated with a gp17 trimer, lacking canonical receptor-binding proteins found in other lactic acid bacteria phages.

We further purified J-1 phage particles by ultracentrifugation and OptiPrep gradient separation, optimizing conditions for cryo-electron microscopy analysis. Data collection on a Titan Krios microscope yielded over 37,000 micrographs, and image processing using CryoSPARC produced an overall 2.72 Å reconstruction of the baseplate. The resulting map confirmed the architecture of six Dit subunits surrounding a trimeric Tal hub, while the high-resolution density enabled reassignment of the two CBMs within the baseplate, clarifying their functional arrangement and confirming CBM2 as the most distal module and as a bona fide antireceptor of J-1.

Functional studies to validate the role of the CBM present in the gp17 tail fiber as an antireceptor are currently ongoing.

Altogether, these results advance our understanding of host recognition in *Lacticaseibacillus* phages and provide a structural framework for future studies on the molecular basis of phage–host interactions.

Viruses to modulate the gut microbiota, fiction or reality

Sesión 6 ★ *Conferencia plenaria*

Reyes, Alejandro[1]

[1] *Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia*

Bacteriophages are the most abundant biological entities in the human gut and play important ecological and evolutionary roles in shaping microbial communities. Despite their potential relevance to health and disease, most viral diversity in the gut remains poorly characterized, and the functional consequences of phage–bacteria interactions *in vivo* remain incompletely understood. Studies of healthy individuals show that the gut virome is highly personalized yet remarkably stable over time. Most dominant viruses correspond to temperate phages integrated as prophages within bacterial genomes. These prophages are typically shed at low abundance and closely track the dynamics of their bacterial hosts. Consequently, changes in the microbiome are often mirrored by shifts in the virome. Under stable conditions, both microbial and viral communities remain relatively constant, whereas perturbations such as antibiotic exposure can trigger prophage induction and increase community divergence.

Notably, bacterial communities often recover after disturbance, while viral communities can exhibit longer-lasting changes. Phage populations can also provide higher-resolution insight into microbial dynamics. Similar to the stability observed in bacterial insertion sequence (IS) elements, phage populations remain relatively constant in healthy individuals but become modified during major perturbations. These properties suggest that virome dynamics may serve as a sensitive indicator of microbial ecosystem change.

Experimental studies using gnotobiotic mouse models with defined bacterial communities demonstrate that phages derived from healthy human donors can infect resident bacteria and induce prophage activation *in vivo*. However, these interactions produce only modest changes in overall community composition, indicating that established microbial communities are often resilient to phage predation. To investigate whether phages could facilitate microbiome modulation, we examined their effect on bacterial colonization in the context of microbiome immaturity associated with childhood malnutrition. In gnotobiotic mice colonized with an immature microbial community, the addition of viral communities from healthy or malnourished donors together with a therapeutic bacterial consortium influenced colonization dynamics, with several consortium members showing improved engraftment. However, responses varied across animals, and we observed no detectable host phenotypic changes within the experimental timeframe. Together, these findings suggest that phages can influence microbial colonization dynamics and may accelerate ecological transitions, but they are unlikely to deterministically restructure complex microbial communities. Continued advances in sequencing technologies and analytical approaches will enable more detailed investigation of phage–bacteria interactions in vivo and help clarify the potential of phages as tools for microbiome modulation.

Desde el campo a la mesa: brechas regulatorias para implementar bacteriófagos en sistemas alimentarios en Sudamérica

Sesión 4 ◆ *Charla invitada (investigador joven)*

Rivera, Dácil[1]

[1] *Universidad de Las Américas (UDLA), Santiago, Chile*

Antimicrobial resistance (AMR) is increasing pressure on food systems in South America and accelerating the need for specific, scalable biocontrol tools across the farm-to-fork continuum. Bacteriophages offer highly selective interventions at key stages, including primary food production (animal production), processing and manufacturing (ready-to-eat foods), and environmental interfaces (wastewater and effluents), with the potential to reduce bacterial loads and support prudent antibiotic use under a One Health approach. However, regional implementation remains constrained by regulatory uncertainty and the lack of harmonized pathways to authorize products, validate matrix-specific efficacy, and manage updates to phage cocktails without restarting full approval processes.

This talk presents a public policy–oriented synthesis integrating three indicators to prioritize regulatory action by country: (i) AMR intensity and visibility and associated surveillance, (ii) scientific capacity and collaboration structures in phage research, and (iii) signals of innovation and technology transfer (biotechnology initiatives and patents with farm-to-fork claims). These indicators reveal marked heterogeneity across the region, with hubs of capacity and innovation alongside countries facing gaps in surveillance and intersectoral integration.

Finally, a Codex-oriented roadmap is proposed, including minimum quality and safety requirements, risk-proportionate efficacy criteria, formal mechanisms to update formulations, and post-market monitoring to enable the safe, consistent, and scalable adoption of bacteriophages in South America.

Estrategias fago-dirigidas para prevenir la formación de biopelículas en patógenos bacterianos de prioridad crítica: Staphylococcus aureus resistente a meticilina y Pseudomonas aeruginosa resistente a carbapenémicos

Sesión 3 ▸ *Presentación oral seleccionada*

Salazar Ospina, Lorena[1], Téllez-Carrasquilla, Sara[1], Jiménez Quiceno, J. Natalia[1]

[1] *Línea de Epidemiología Molecular y Resistencia Bacteriana, Grupo de Investigación en Microbiología Básica y Aplicada (MICROBA), Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia*

Introducción: Los bacteriófagos se han considerado como una alternativa innovadora para el biocontrol de biopelículas en diferentes entornos. Este estudio evalúa la efectividad de los bacteriófagos para prevenir la formación de biopelículas de *S. aureus* y *P. aeruginosa* resistentes a betalactámicos.

Metodología: Se seleccionó una cepa de *S. aureus* resistente a meticilina del CC8 (SARM-CC8), una sensible a meticilina resistente a tetraciclina-CC8 (SASM-CC8) y una de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos (VIM). Todas las bacterias expresaban una formación fuerte de biopelícula. Se realizaron tratamientos preventivos con bacteriófagos individuales y cocteles de fagos utilizando MOI 0.01 y 1 para *S. aureus* y 10 y 100 para *P. aeruginosa*. Para el caso de *S. aureus* se combinaron fagos con tetraciclina. Posterior al tratamiento (24h) se determinó la cantidad de biomasa mediante el método de cristal violeta.

Resultados: Para la cepa de SARM-CC8, el bacteriófago FSA4 previno la formación de biopelículas hasta un 21.6%(MOI1) y los bacteriófagos FSA6 y FSA5 (MOI1), por el contrario promovieron su formación hasta un 20.7%. El tratamiento de SASM-CC8 con fagos individuales no evitó la formación de biopelículas con ninguna de las dos MOI; sin embargo, la combinación de FSA4 (MOI1 y 0.01) con tetraciclina (8ug/mL) tuvo una acción sinérgica y evitó la formación de biopelículas en un 100%. En el caso de *P. aeruginosa*, el bacteriófago FPA1 (MOI100) logro prevenir la formación de biopelículas en un 90.9%; mientras que el fago FPA7 promovió la formación en 34% cuando se incrementó la MOI a 100. El coctel (FPA1, FPA7) no mostro una mejor actividad en comparación con los fagos individuales y previno la formación de biopelículas hasta un 29.9%(MOI 10).

Conclusiones: Los bacteriófagos mostraron un potencial variable para prevenir biopelículas, dependiendo del fago, la cepa y la MOI. La sinergia fago–antibiótico permitió una inhibición completa en *S. aureus*, destacando las estrategias combinadas como más prometedoras.

Structural organization of lytic bacteriophages

Sesión 2 ★ *Conferencia plenaria*

Sgro, Germán[1]

[1] *Departamento de Ciências Biomoleculares, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil*

Bacteriophages (phages) are viruses that infect bacteria, and are the smallest and most abundant biological entities on Earth. To replicate, they use the bacterial host machinery to either i) immediately produce new progeny after infection which leads to the death of the infected cell (lytic pathway), or ii) integrate into the bacterial chromosome as a prophage which allows establish a symbiotic relationship between the parties (lysogenic pathway). The interaction begins with the recognition and adsorption of the phage on the surface of the bacterium, which determines the specificity and host range. Most known phages have a narrow host range, usually infecting specific strains or isolates of a particular bacterial species. For such recognition, virions have specific proteins that bind to receptors located on the bacterial surface, such as LPS, EPS, outer membrane proteins, fimbriae, pili and flagella. In recent decades, the interest in the use of phages as therapeutic agents (phage therapy) in the biological control of infections by multidrug-resistant bacteria has increased, as well as in the development of strategies for the biocontrol of pathogenic species in agricultural crops. In this context, understanding the molecular mechanisms underlying phage-bacteria interactions is crucial to obtain information on how phages affect microbial populations and how they can be used in clinical and biotechnological applications. Here, I present our results about the high-resolution molecular structures involved in the infectious process of lytic bacteriophages that interact and infect bacterial strains of relevance in medicine and agriculture. This work was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP #2020/11189-0, FAPESP #2021/10577-0 and FAPESP #2022/03018-7).

Manufacturing Perspective: Road from isolation of 1 phage, to routine production of highly pure 1E16 phages for various applications

Sesión 1 ⬡ *Charla de industria On-Line*

Smrekar, Frenk[1]

[1] *JAFRAL, Liubliana, Eslovenia*

Abstract no disponible.

A tale of flagella and phages

Sesión 2 ★ *Conferencia plenaria*

Taylor, Nicholas M.[1]

[1] *University of Copenhagen, Copenhague, Dinamarca*

It is thought that about half of all bacteria are motile, often through flagella, large filaments powered by a rotary motor. As I will show in my talk, there are some very interesting evolutionary adaptations between phages and proteins related to flagellar machineries, of which I will highlight two interesting instances. First, I will discuss the insights we obtained into an anti-phage defense system, Zorya, that relies on a molecular motor related to the miniature motors that drive the flagellar motor. Second, I will present structural data on how a flagellotropic phage can use flagella to infect bacteria.

An extensive antiviral arsenal in ocular Corynebacterium macginleyi: genomic barrier against prophage integration

Sesión 5 ▸ *Presentación oral seleccionada*

Urrutia Colileo, Catherine[1], Abanto Marín, Michel[2]

[1] *Programa de Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera (UFRO), Temuco, Chile*

[2] *Laboratorio de Genómica Computacional de Microorganismos, Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Universidad de La Frontera (UFRO), Temuco, Chile*

Corynebacterium macginleyi is a common inhabitant of the ocular conjunctiva, although it is also associated with opportunistic infections. Its exact role in ocular homeostasis or pathology remains unclear. Given that bacteriophages (phages) are key vectors for horizontal gene transfer, including virulence genes, characterizing the interaction of *C. macginleyi* with its virome is crucial for understanding its ecology. Our hypothesis postulates that *C. macginleyi* possesses an arsenal of bacterial defense systems that efficiently limit prophage integration, thereby restricting the acquisition of virulence factors and favoring a stable genomic profile compatible with commensalism. This study aims to characterize the repertoire of defense systems, prophage load, and virulence gene content in available *C. macginleyi* genomes. Twenty-seven complete *C. macginleyi* genomes from NCBI were analyzed. Phylogenetic analysis using parsnp and IQ-TREE was performed, the pangenome was calculated with Panaroo and Anvio, and defense systems were identified via DefenseFinder and PADLOC. Prophage and mobile genetic element detection was carried out using VIBRANT, Genomad, and PhiSpy. A stable pangenome and an extensive defensive arsenal were identified, including the Type I Wadjet anti-plasmid system and CRISPR-Cas systems homologous to *C. accolens*, suggesting a defensive adaptation in the naso-ocular niche. This robust immunity correlates with a low prophage load of 8, lacking virulence or resistance genes. Additionally, a low frequency of classical virulence factors and antimicrobial resistance genes was confirmed in the complete genomes. *C. macginleyi* presents an effective immunological barrier that drastically restricts prophage integration and virus-mediated genomic plasticity. This suggests that its success as an ocular colonizer relies on genomic stability and persistence, rather than the acquisition of exogenous virulence, supporting its primary character as an opportunistic commensal.

Bacteriófagos para el control de patógenos, modulación de la microbiota y la respuesta inmune

Sesión 1 ★ *Conferencia plenaria*

Vives, Martha[1]

[1] *Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia*

Los bacteriófagos son virus que pueden ser utilizados para el control de contaminación o de infecciones causadas por bacterias. Diversos trabajos realizados por el grupo de Microbiología Ambiental y Bioprospección de la Universidad de los Andes, Colombia, han mostrado que los fagos controlan *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella* sp. en sistemas in vitro e in vivo, *Klebsiella pneumoniae* MDR en superficies de materiales de hospitales, y *Cutibacterium acnes* en queratinocitos, confirmando que los fagos son una alternativa para el control de bacterias resistentes y la reducción del uso de antibióticos. Además, se ha evidenciado la capacidad de los fagos para modular la microbiota en el tracto intestinal animal y la producción de IL-1b por queratinocitos, impulsando la exploración de sus efectos benéficos más allá del control del crecimiento bacteriano. En esta charla se presentarán las experiencias del grupo en su trabajo con las cuatro bacterias mencionadas y las perspectivas futuras para el avance de la fagoterapia en el país.

Posters

Ordenados alfabéticamente por apellido del presentador

[P-01] Del gen al ecosistema: cómo bacterias casi idénticas enfrentan de distinta forma a sus fagos

Ecología y evolución viral

Afione di Cristofano, Constanza[1,2], Erijman, Leonardo[2,3], Guerrero, Leandro Demian[2,3], Wehrendt, Diana[2,3]

[1] *Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina*
[2] *Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular "Dr. Héctor N. Torres" (INGEBI), Buenos Aires, Argentina*
[3] *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina*

Los bacteriófagos son reconocidos por su capacidad de moldear la diversidad microbiana, pero poco se conoce sobre los mecanismos que permiten la coexistencia entre poblaciones de bacterias y fagos en sistemas naturales. Esta pregunta es crucial, dado que la composición de las comunidades microbianas sustenta funciones esenciales de los ecosistemas.

El objetivo de este estudio es investigar cómo la interacción entre una especie bacteriana y sus fagos afecta su estructura poblacional. Se utilizó como modelo de ecosistema microbiano una planta de tratamiento de líquidos cloacales, a partir de la cual se aislaron bacterias del género *Simplicispira* y sus fagos. Se combinaron ensayos de infectividad cruzada con análisis genómicos, con el fin de evaluar cómo las variaciones genómicas de bacterias y fagos influyen en los patrones de susceptibilidad a la infección.

Se aislaron 10 cepas bacterianas y 21 fagos, y se secuenciaron sus genomas completos. Las cepas bacterianas presentaron una elevada similitud genómica (ANI > 99,7%), mientras que los fagos compartían una identidad y estructura genética conservadas, lo que sugiere que los representantes de cada grupo tienen un origen común. Sin embargo, se observaron diferencias en la susceptibilidad de las cepas bacterianas frente a los distintos fagos.

El análisis genómico detallado de insertos genómicos enriquecidos en mecanismos de defensa bacterianos, de los genes virales asociados a la respuesta frente a dichos mecanismos, de la diversificación de los profagos presentes en cada cepa y de la variabilidad en genes involucrados en la interacción a nivel de adsorción permite interpretar una relación compleja que involucra múltiples variables y refleja un patrón evolutivo moldeado por la transferencia horizontal de genes. Este enfoque integrador permite avanzar en la comprensión de los determinantes genéticos que modulan los patrones de infectividad en ambientes microbianos complejos.

[P-02] Formulación racional de un cóctel de bacteriófagos y su potenciación con biopolímeros para inhibir *Salmonella enterica* en pabellones avícolas

Aplicaciones Biotecnológicas

Alvarez Espejo, Diana Claudia Marcela[1], Barrón-Montenegro, Rocío[1], Suarez, Marcia[1], Martínez Padilla, Cristobal[1], Fiallos-Nuñez, Johanna[2], Herrera Vergini, Ignacia[1], Valenzuela, Loreto M.[2], Moreno Switt, Andrea[1]

[1] *Facultades de Medicina, Agronomía y Sistemas Naturales, y Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile*
[2] *Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile*

Antecedentes: La contaminación por *Salmonella enterica* en pabellones avícolas requiere estrategias serovar-específicas, seguras y efectivas que complementen o reemplacen desinfectantes, especialmente ante cepas con resistencia a antibióticos y sanitizantes.

Objetivo: Formular racionalmente un cóctel de bacteriófagos contra *Salmonella* Enteritidis, S. Agona, S. Infantis y S. Typhimurium y evaluar su desempeño en combinación con biopolímeros para ser usado en pabellones avícolas.

Metodología: Se evaluó el rango hospedero de seis fagos candidatos mediante (i) eficiencia de plaqueo (EOP) en los cuatro serovares relevantes y (ii) PHIDA (Phage-Host Interaction Data Analyzer), cuantificando la inhibición/retraso del crecimiento en dos cepas ambientales por serovar durante 24 horas. Se realizaron ensayos de sinergia (duplas de fagos) y se compararon tres formulaciones de cócteles midiendo inhibición del crecimiento bacteriano por 10 horas. El cóctel seleccionado se probó frente a aislados de S. Agona y S. Infantis aislados en planta de faenado y en combinación con los biopolímeros BP1, BP2, BP3 y BP4.

Resultados: Tres fagos (SC1, SC4, SC6) se descartaron por rango de hospedero (RH) estrecho. Se seleccionaron SC2, SC3 y SC5 (RH amplio) y se incorporó un fago adicional para ampliar actividad lítica contra el serovar Infantis. No se observó antagonismo relevante, salvo en cepas puntuales (p. ej., F3–SC2). El cóctel F3+SC2+SC3+SC5 inhibió el crecimiento de 8/9 aislados de S. Agona y 8/9 de S. Infantis de planta de faenado. La combinación BP3 más fagos mostró la mayor inhibición de las cepas de S. Infantis y S. Agona aislados en planta de faenado.

Conclusiones: La formulación racional permitió seleccionar un cóctel robusto, con baja interferencia entre fagos y alta actividad frente a cepas aisladas en ambiente y planta de faenado; los biopolímeros, especialmente BP3, potencian su eficacia. Los resultados obtenidos justifican evaluar la estabilidad bajo condiciones ambientales del pabellón: pH, temperatura, desinfectantes y carga orgánica.

[P-03] Antarctic coastal viromes as a reservoir of diverse endolysins with biotechnological potential

Genómica, metagenómica e IA aplicada a fagos

Araneda Reveco, Daniel[1], Bastías Romo, Roberto[1]

[1] *Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV), Valparaíso, Chile*

Antarctic marine ecosystems harbor diverse and largely uncharacterized viral communities, representing a significant reservoir of novel antimicrobial enzymes. We performed a comparative metaviromic analysis of viral assemblages from two Antarctic coastal sites with contrasting levels of anthropogenic influence: the more impacted Base Prat and the remote, pristine Base Yelcho. Using an integrated pipeline, we identified approximately 4,000 representative viral operational taxonomic units (vOTUs) for downstream analysis.

Taxonomic profiling revealed a similar viral class composition at both sites, dominated by *Caudoviricetes*. At the order level, however, most sequences were unclassified, indicating substantial novelty and the presence of putative new lineages within the *Caudoviricetes*. Family-level patterns revealed site-specific differences, including a relative increase in *Kyanoviridae* and a reduced representation of *Peduoviridae* at Yelcho compared to Prat. Predicted host distributions also diverged: Prat's community was dominated by viruses associated with *Pseudomonas and* Pseudoalteromonas, whereas Yelcho exhibited a more even host distribution spanning genera such as Algibacter and Aureispira.

Normalized Pfam domain profiles uncovered distinct functional signatures. The Yelcho virome was enriched in domains associated with recombination and DNA processing (e.g., AAA+ ATPases, HNH endonucleases), suggesting heightened genomic plasticity. Notably, Yelcho also showed a significantly higher relative abundance of lysis-associated domains, including Peptidase_M23, Peptidase_M10, CHAP, and LysM, consistent with greater endolysin diversity and lytic potential. In contrast, the Prat virome was enriched in structural viral domains, such as portal and capsid proteins, pointing to a more stable viral assemblage. Lysis-related domains in Prat were predominantly amidases and cell-wall modification enzymes rather than canonical endopeptidases. Several Antarctic endolysins exhibited sequence and structural similarity to enzymes active against pathogens of interest, including *Pseudomonas*, *Klebsiella*, and *Acinetobacter*.

Our findings demonstrate that Antarctic coastal viromes are structurally and functionally shaped by local ecological conditions and constitute a promising source of novel endolysins with potential biotechnological and antimicrobial applications.

[P-04] Metagenomic-guided bioprospection of bacteriophages for lactic acid bacteria control in bioethanol refineries.

Biología Básica de fagos

Balaban, Cecilia Lucía[1,2], Lomanto, Camila[1,2], Pievaroli, Giovanna[1,3], Tondo, María Laura[1,2]

[1] *Instituto de Investigaciones en Ingeniería Ambiental, Química y Biotecnología Aplicada (INGEBIO), Universidad Católica Argentina (UCA), Rosario, Argentina*

[2] *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina*

[3] *Universidad Nacional de Rosario (UNR), Rosario, Argentina*

Microbial contamination is a major challenge for industrial bioethanol production, leading to reduced fermentation yields through adverse effects on yeast viability. Antibiotics are regularly used to control bacterial growth, but their sustained application promotes the emergence of antibiotic-resistant bacteria, compromising process efficiency, and raising public health concerns. To address the need for safer and effective antimicrobial strategies in the bioethanol industry, this study aimed to enable the targeted bioprospection of bacteriophages against locally prevalent bacterial genera, based on an initial metagenomic characterization of bacterial communities in two Argentinean corn-based biorefineries. Microbiome analysis was performed on samples collected at different stages of the production process. Genomic DNA was extracted, amplified using V3–V4 16S rRNA gene primers, and sequenced on an Illumina platform. High-quality paired-end reads were processed using a custom bioinformatics pipeline. Based on microbiome data, relevant environmental samples were screened for bacteriophages targeting dominant bacterial genera in fermenters. Phage activity was assessed using double-layer agar plaque assays with molecularly identified indigenous host strains isolated from biorefinery samples. Subsequently, purified lysates were subjected to host range analysis and transmission electron microscopy (TEM). Both ethanol facilities exhibited high bacterial diversity. At the fermenter stage, communities were dominated by lactic acid bacteria (LAB) but differed in their prevailing genera, with *Levilactobacillus* dominating one biorefinery and *Limosilactobacillus* the other. Bacteriophages active

against three different isolates of *Levilactobacillus brevis* were detected in digestate samples from an industrial organic waste treatment plant. Phage lysates displayed overlapping host ranges within *L. brevis* isolates, while no lytic activity was observed against *Limosilactobacillus fermentum*. TEM analysis revealed viral particles with isometric capsids and non-contractile tails, consistent with a siphovirus-like morphology. Overall, these findings indicate that metagenomic characterization of biorefinery bacterial assemblages provides a rational framework for the targeted bioprospection of bacteriophages key to sustainable LAB control in bioethanol production.

[P-05] Genomic Characterization of *Staphylococcus* spp. Associated with Bovine Mastitis and Exploration of Bacteriophages as Targeted Biocontrol Agents

Aplicaciones Biotecnológicas

Baserga, Ana Catalina[1], Moreno, Juan[2], Iribarnegaray, Victoria[2], Echeverría, Natalia[3,4], Megrian, Daniela[1]

[1] *Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay*
[2] *Departamento de Patobiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay*
[3] *Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay*
[4] *Laboratorio de Evolución Experimental de Virus, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay*

Bovine mastitis is the most prevalent disease in dairy production worldwide and a major cause of economic losses in the livestock sector. In Uruguay, a leading milk exporter, mastitis negatively affects animal health, milk yield and quality, and requires costly therapeutic interventions. *Staphylococcus* species, including *Staphylococcus aureus* and *non-aureus staphylococci* (NAS), are among the most frequently isolated pathogens. Their ability to form biofilms represents a key virulence mechanism, conferring tolerance to antimicrobial treatments and host immune responses and contributing to chronic and recurrent infections. The widespread use of antibiotics has promoted the emergence of multidrug-resistant strains, highlighting the need for alternative and sustainable control strategies.

This study aims to characterize the genomic diversity of *Staphylococcus spp*. isolated from bovine mastitis cases in Uruguay and to predict their biofilm-forming capacity based on genomic content, with a view to developing phage-based biocontrol strategies. A representative subset of 48 isolates will be selected from a national collection of previously characterized strains, integrating phylogenetic, genotypic, and phenotypic data. Complete genome sequencing will be performed using Oxford Nanopore long-read technology to obtain high-quality chromosomal and plasmid assemblies. Comparative genomic analyses will be conducted to identify genetic determinants associated with biofilm formation, including alternative mechanisms in strains lacking canonical genes such as *icaA* or *bap*. Supervised machine learning models will be developed to predict biofilm-forming capacity from genomic features. In parallel, bacteriophages will be isolated and evaluated for lytic activity and *in vitro* antibiofilm potential against local *Staphylococcus* strains.

This integrative approach is expected to generate complete and well-annotated genomes representative of *Staphylococcus* diversity in Uruguayan dairy systems, predictive tools for biofilm formation, and a preliminary panel of antibiofilm bacteriophages, contributing to improved surveillance and alternative control strategies for bovine mastitis.

Keywords: bovine mastitis, *Staphylococcus spp.*, biofilm formation, bacteriophages, machine learning, antimicrobial resistance.

[P-06] Caracterización Fenotípica y Genética de Mutantes Resistentes a Bacteriófagos en Clones de Alto Riesgo de *Pseudomonas aeruginosa*

Mecanismos de resistencia a fagos

Beltran Luna, Eimi Cielo[1], Bastías Romo, Roberto[1], Olivares Pacheco, Jorge[1]

[1] *Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV), Valparaíso, Chile*

Antecedentes: *Pseudomonas aeruginosa*, patógeno oportunista de alta relevancia clínica, responsable de infecciones nosocomiales y caracterizado por la diseminación global de clones de alto riesgo, entre los que destacan el ST235, reconocido como el de mayor relevancia y distribución mundial, portador de ExoU, toxina potencialmente letal y el ST111, segundo más difundido globalmente. Estos linajes combinan múltiples genes de resistencia antimicrobiana con elevada capacidad adaptativa frente a presiones selectivas, lo que ha impulsado el interés en terapias alternativas como la fagoterapia. Sin embargo, la eficacia de esta estrategia puede limitarse por la presencia y diversidad de mecanismos de defensa antivirales.

Objetivos: El proyecto de tesis busca caracterizar la emergencia de mutantes resistentes a bacteriófagos en clones de alto riesgo de *P. aeruginosa* y evaluar su impacto sobre susceptibilidad antimicrobiana y virulencia. Como primera aproximación, este trabajo se centra en identificar los sistemas de defensa antivirales preexistentes en los genomas de ST111 y ST235.

Metodología: Se analizaron genomas completos de aislamientos clínicos representativos mediante herramientas bioinformáticas como DefenseFinder para la identificación de repertorios completos de sistemas de defensa antivirales.

Resultados: El ST111 presenta un repertorio amplio, diverso y altamente redundante con 20 sistemas completos, incluyendo restricción–modificación tipos I–IV, múltiples sistemas de infección abortiva, sistemas de señalización tipo CBASS y sistemas asociados a membrana como Zorya y Wadjet. En contraste, el ST235 mostró un repertorio reducido con 6 sistemas completos, incluyendo restricción–modificación tipo I y IIG, sistemas intracelulares Gabija y Druantia II, un sistema toxina–antitoxina y el sistema monogénico Prometheus.

Conclusiones: Las diferencias muestran estrategias evolutivas contrastantes frente a la presión por bacteriófagos, desde sistemas complejos y redundantes hasta repertorios simplificados y de bajo costo genómico. Dando un marco interpretativo para la comprensión de sistemas de defensa preexistentes, aspecto fundamental para interpretar patrones de resistencia a fagos que puedan surgir experimentalmente.

[P-07] Bacteriófagos como reservorios potenciales de genes asociados a interacciones planta–bacteria

Ecología y evolución viral

Bruna, Pablo[1], Leyton, Benjamin[1], Barra, Patricio Javier[1,2], Mora, María de La Luz[1], Abanto, Michel[1]

[1] *Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile*
[2] *Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medioambiente, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile*

La interacción entre microorganismos y plantas es un componente clave del funcionamiento de los agroecosistemas y está mediada por una amplia diversidad de rutas metabólicas microbianas. Si bien estas interacciones han sido tradicionalmente estudiadas desde la perspectiva bacteriana, los bacteriófagos capaces de modular la ecología, evolución y repertorio genético de sus hospedadores, podrían desempeñar un rol indirecto pero relevante en dichos procesos. El objetivo de este trabajo fue identificar genes virales homólogos a rutas bacterianas implicadas en interacciones planta–bacteria. Para ello, se analizaron secuencias representativas de bacteriófagos (vOTUs) obtenidas desde VirJenDB, una plataforma curada que integra secuencias virales y metadatos provenientes de múltiples repositorios públicos. Las regiones codificantes fueron predichas utilizando Pharokka y las proteínas resultantes se anotaron mediante EcoFoldDB, una herramienta de anotación funcional basada en homología estructural que permite identificar funciones ecológicamente relevantes en proteínas evolutivamente divergentes. Hasta el momento, se han identificado 87 vOTUs de 50.000 que codifican proteínas homólogas a enzimas bacterianas involucradas en la modulación metabólica y hormonal vegetal, incluyendo producción de fitohormonas, metabolismo de poliaminas, señalización mediada por ácido γ-aminobutírico (GABA) y supresión del etileno mediante ACC-desaminasa. Estos genes se encontraron mayoritariamente en bacteriófagos temperados asociados a hospedadores bacterianos pertenecientes a géneros ampliamente distribuidos como *Klebsiella*, *Pseudomonas* y *Acinetobacter*. En conjunto, estos resultados aportan evidencia genómica de que los bacteriófagos podrían actuar como reservorios potenciales de genes asociados a interacciones planta–bacteria. Si bien la función ecológica directa de estos genes en el contexto de los fagos permanece por dilucidar, su presencia amplía la comprensión del potencial rol de los virus bacterianos en la dinámica funcional de los microbiomas y abre nuevas preguntas sobre su contribución indirecta a procesos relevantes en agroecosistemas, particularmente aquellos relacionados con la respuesta de las plantas frente a condiciones de estrés, como la sequía o limitación de nutrientes.

[P-08] Field evaluation of Alphagos: AI-optimized bacteriophage cocktails to prevent *Enterococcus cecorum* infections in broilers

Aplicaciones Biotecnológicas

Burgan, Julia[1], Di Gioacchino, Andrea[1], Elinani, Jihane[1], Feyereisen, Marine[1], Flack, Ana[1], James, Adèle[1], Lemasson, Manon[1], Oukaci, Houa[1]

[1] *Phagos, París, Francia*

Enterococcus cecorum has emerged as an opportunistic pathogen causing arthritis, femoral head necrosis, vertebral osteomyelitis, and septicaemia in broiler chickens, with considerable economic and animal welfare consequences. Current control strategies focus mainly on early antibiotic treatment, although limited data exist on its effectiveness, contributing to antimicrobial resistance and limiting long-term efficacy. In this context, bacteriophages represent a promising and sustainable alternative for preventing and controlling bacterial infections in poultry production, and this is the approach pursued by **Phagos**.

Alphagos consists of tailor-made phage cocktails designed for specific commercial broiler farms using an AI-driven platform that strategically selects and optimizes phage combinations. Cocktails were developed against representative *E. cecorum* strains isolated from each participating farm. During the field trials, **Alphagos** was administered regularly. Health parameters, incidence of *E. cecorum*-associated clinical signs, mortality, and productive performance were monitored throughout production cycles. Outcomes were compared with historical data from previous cycles, including healthy flocks and flocks affected by *E. cecorum* and treated with antibiotics.

Healthy flocks receiving **Alphagos** exhibited significantly lower mortality compared with historical healthy flocks. In addition, phage-treated flocks showed improved zootechnical performance, reduced incidence of clinical signs

associated with *E. cecorum* infection, and no need for antibiotics. In most cases, phages were recovered from feces and, even, from different organs. No adverse effects related to phage administration were observed, supporting the safety of the intervention under commercial production conditions.

These trials suggest that AI-designed, farm-specific bacteriophage cocktails are a safe and promising approach for preventing *E. cecorum* infections in broiler production. **Alphagos** shows potential as a sustainable alternative to antibiotics, contributing to improved animal health and supporting responsible antimicrobial stewardship.

[P-09] Aislamiento de bacteriófagos líticos como alternativa biológica para el manejo de enfermedades bacterianas causadas por *Xanthomonas* spp.

Aplicaciones Biotecnológicas

Coimbra Baglivo, Lucía[1], Olivares Terrones, Rubén Antonio[2], Clavijo, Felipe[1], Costa, Andres[1], Raimonda, Camila[1], Labaste, Ronald[1], De Armas, Stefanie[1], Ferreira, María Virginia[1], Quiñones-Aguilar, Evangelina Esmeralda[2], Pereyra, Silvia[3], Rincón Enriquez, Gabriel[2], Siri, María Inés[1]

[1] *Área Microbiología, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay*
[2] *Laboratorio de Fitopatología, Unidad de Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ), Zapopan, Jalisco, México*
[3] *Sistema Agrícola-Ganadero, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Estación Experimental La Estanzuela, Colonia, Uruguay*

Las enfermedades bacterianas representan una limitante creciente para la producción de trigo (*Triticum aestivum L.*). *Xanthomonas translucens pv. undulosa* es el agente causal de la estría bacteriana, mientras que *Xanthomonas prunicola* ha sido reportada recientemente como patógeno emergente de trigo. La coexistencia de estos patógenos y la ausencia de estrategias de control específicas impulsan la búsqueda de alternativas sustentables, entre las cuales los bacteriófagos líticos constituyen una opción promisoria por su alta especificidad y bajo impacto ambiental.

El objetivo de este trabajo fue aislar bacteriófagos líticos infectivos para *Xanthomonas* spp. a partir de suelos agrícolas y evaluar su rango de hospederos.

Se utilizaron muestras de suelo de parcelas experimentales de trigo inoculado con ambos patógenos en INIA-La Estanzuela. Adicionalmente, se incluyeron para el enriquecimiento, especies de *Xanthomonas* patógenas de tomate disponibles en el laboratorio. Los bacteriófagos se aislaron mediante la técnica de doble capa y su rango de hospederos se evaluó frente a un panel más amplio de cepas incluyendo a las especies *X. translucens* (4), *X. prunicola* (1), *X. euvesicatoria* (1), *X. vesicatoria* (4) y *X. hortorum pv. gardneri* (1).

Se detectó actividad lítica en una sola de las parcelas muestreadas, aislando seis fagos infectivos para *X. translucens pv. undulosa* y seis fagos infectivos para *X. vesicatoria*. Los primeros, presentaron un amplio rango de hospederos afectando a todas las cepas evaluadas. En contraste, los fagos aislados a partir del enriquecimiento con *X. vesicatoria* mostraron rangos de hospedero variables, algunos restringidos y otros con capacidad de infectar múltiples especies de *Xanthomonas*.

En conjunto, estos resultados confirman la presencia de bacteriófagos líticos activos contra *Xanthomonas* spp. en suelos agrícolas y constituyen una base sólida para estudios futuros orientados a su caracterización y evaluación como potenciales agentes de biocontrol de enfermedades bacterianas causadas por especies de *Xanthomonas* patógenas.

[P-10] Combinación de Bacteriófagos y Terapia Fotodinámica contra Biofilms Polimicrobianos Relacionados a Úlceras de Pie Diabético

Aplicaciones Biotecnológicas

Costilla, Celeste Rocío[1,2], Galván, Estela María[1,3]

[1] *Centro de Estudios Biomédicos Básicos, Aplicados y Desarrollo (CEBBAD), Universidad Maimónides (UMAI), Buenos Aires, Argentina*
[2] *Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina*
[3] *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina*

Existe una alta incidencia de *Enterococcus faecalis* (Ef) co-aislada con *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) y *Escherichia coli* (Ec) en infecciones de úlcera de pie diabético (UPD); complicación prevalente de la diabetes mellitus y ambiente ideal para el establecimiento de biofilms. En nuestro laboratorio hemos estudiado biofilms polimicrobianos *in vitro* en condiciones que simulan las UPD, utilizando aislados clínicos provenientes de pacientes del Hospital de Clínicas de la Universidad de Buenos Aires. Se observó que, con el paso del tiempo, Ef provoca la pérdida de viabilidad de Ec, pero no de Pa. El desafío de biofilms mixtos Ef-Pa con antibióticos efectivos en estadío planctónico (ampicilina y amikacina) no afectó la viabilidad de las bacterias en el biofilm. Al combinar este tratamiento antibiótico con terapia fotodinámica utilizando azul de metileno e irradiación con luz LED roja, Pa fue prácticamente eliminada mientras que la viabilidad de Ef no se vio afectada. En este contexto, como opción terapéutica contra Ef, se propone incorporar la fagoterapia. Nuestro primer objetivo será aislar fagos con actividad lítica contra aislados clínicos de Ef, a partir de aguas residuales del Hospital de Clínicas. Posteriormente, se estudiará la amplitud de rango de

huésped de dichos fagos y se seleccionarán aquellos de más amplio rango. Se investigará el efecto de los bacteriófagos elegidos contra Ef en biofilms simples y mixtos. En una segunda etapa, estos fagos se utilizarán como complemento de los tratamientos con antibióticos y terapia fotodinámica. De tener éxito, se procederá a explorar el diseño de cócteles de fagos dirigidos a más de una especie dentro de los biofilms, con la intención de reducir el uso de antibióticos. El desarrollo de estas nuevas estrategias terapéuticas resulta fundamental en la lucha contra las infecciones causadas por bacterias multirresistentes y que forman biofilms.

[P-11] Aislamiento de bacteriófagos líticos con potencial para el control biológico de *Pantoea* patógenas de cebolla

Aplicaciones Biotecnológicas

De Armas Falcone, Stefanie[1], Olivares Terrones, Rubén Antonio[2], Clavijo, Felipe[1], Coimbra, Lucía[1], Costa, Andrés[1], Ferreira, María Virginia[1], Galván, Guillermo[3], Labaste, Ronald[1], Quiñones-Aguilar, Evangelina Esmeralda[2], Raimonda, Camila[1], Rincón Enriquez, Gabriel[2], Siri, María Inés[1], Vicente, Esteban[4]

[1] *Área Microbiología, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay*
[2] *Laboratorio de Fitopatología, Unidad de Biotecnología Vegetal, CIATEJ, Zapopan, Jalisco, México*
[3] *Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay*
[4] *Estación Experimental Salto Grande, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Salto, Uruguay*

Las bacteriosis asociadas al cultivo de cebolla (Allium cepa L.) constituyen una problemática sanitaria relevante y con escasas alternativas de manejo. En estudios previos, nuestro grupo caracterizó bacterias asociadas a síntomas foliares y a pudriciones de bulbos en cultivos comerciales de cebolla de las regiones norte y sur del país, identificando al género *Pantoea como* el principal responsable. Las especies patógenas detectadas incluyen *Pantoea ananatis*, *P. agglomerans* y *P. allii*, contando con una colección representativa de aislados provenientes de diferentes órganos y regiones productivas.

En este contexto, el objetivo del presente trabajo es iniciar la exploración del uso de bacteriófagos como potenciales agentes de control biológico de *Pantoea* patógenas de cebolla, mediante el aislamiento y caracterización preliminar de fagos líticos presentes en suelos agrícolas.

Para ello, se realizó un muestreo de suelos en dos predios comerciales de Salto, donde se registraron anteriormente, brotes de bacteriosis asociados a *P. agglomerans.* En cada predio se recolectaron 3-5 muestras de suelo, que fueron homogeneizadas y tamizadas. El aislamiento de bacteriófagos se realizó mediante un paso de enriquecimiento, incubando las muestras de suelo en medio líquido en presencia de aislados representativos de *P. ananatis*, *P. agglomerans* o *P. allii* como cultivos hospedero. La detección de fagos se realizó mediante el método de doble capa de agar, sembrando diluciones seriadas del filtrado crudo sobre cada cepa objetivo. Se observaron placas de lisis transparentes indicativas de la presencia de fagos líticos, exclusivamente en los enriquecimientos realizados con *P. agglomerans.* A partir de estas placas se purificaron tres bacteriófagos con morfologías de lisis diferenciadas. Estudios futuros permitirán evaluar su rango de hospedadores dentro del género *Pantoea* y avanzar en su caracterización fenotípica y genómica, así como en ensayos preliminares de actividad, con vistas a su potencial aplicación en estrategias de manejo biológico de bacteriosis en cebolla.

[P-12] Dual RNA-seq Reveals Distinct Infection Dynamics of Two Lytic Phages in *Pseudomonas aeruginosa* PA14

Biología Básica de fagos

De Lima Cardoso, Guilherme Wenceslau[1], Setubal, João Carlos[1], Farage Martins, Layla[1], Baldini, Regina Lúcia[1], Nobre Pacheco Rossi, Fernando[1], Pereira dos Santos Júnior, Ariosvaldo[1], Uceda Campos, Guillermo[1]

[1] *University of São Paulo (USP), São Paulo, Brasil*

Bacteriophages are viruses that infect bacteria and play central roles in microbial ecology and evolution, while gaining increasing importance in biotechnology and therapeutic applications. During infection, phages reprogram host transcription and metabolism, to support viral replication. Despite their importance, the molecular mechanisms underlying these processes remain poorly understood. Elucidating them is relevant both for fundamental biology and for the development of phage-based therapeutic strategies. Here, we aim to characterize the temporal dynamics of gene expression during infection of *Pseudomonas aeruginosa* PA14 by the lytic phages ZC01 (Bradleyvirinae; Abidjanvirus) and ZC03 (Schitoviridae; Zicotriavirus), using dual RNA sequencing to simultaneously capture phage and host gene expression throughout the infection cycle. Bacterial cultures were independently infected with each phage, and samples were collected at multiple time points across the latent period. Transcriptomic profiling revealed distinct temporal expression programs: ZC01 displayed predominantly early and late transcriptional phases, and induced rapid, extensive host transcriptional remodeling within 5 minutes post-infection, consistent with an aggressive metabolic takeover. In contrast, ZC03 followed a canonical early–middle–late expression program and promoted a more gradual host reprogramming, with pronounced metabolic disruption emerging after 30 minutes. Despite divergent temporal dynamics, both phages converged on common host response, including iron acquisition, quorum sensing and Pf1-like prophage content highlighting conserved response of lytic infection. Together, our

findings demonstrate that genetically distinct phages deploy contrasting takeover kinetics while targeting common metabolic hubs in *P. aeruginosa* PA14, providing mechanistic insights into phage-driven host reprogramming with implications in phage-based applications.

[P-13] Antimicrobial and regenerative potential of a combined formulation of *Calendula officinalis* extract and bacteriophage F1 in a *Pseudomonas aeruginosa*–infected burn wound model

Biología Básica de fagos

Dueñas Rodríguez, Mariana[1], Vives, Martha[1]

[1] *Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia*

Antimicrobial resistance is one of the most significant global public health threats, posing a critical challenge in the treatment of burn wound infections. Worldwide, burns cause nearly 300,000 deaths annually, with approximately 75% of cases associated with infections. Among the causative agents, *Pseudomonas aeruginosa* stands out as one of the most prevalent pathogens, exhibiting increasing resistance to commonly used antibiotics. In this context, the development of alternative therapeutic strategies is a pressing priority.

The aim of this study is to evaluate the antimicrobial and regenerative potential of a combined formulation of phage F1, specific to *Pseudomonas aeruginosa*, and a commercial *Calendula officinalis extract* (ECO), under the hypothesis that their combined action yields a superior effect compared to individual treatments. The methodology includes recovery of the *P. aeruginosa* P4 strain, determination of phage F1 stability in the presence of different solvents and ECO using double-layer agar titration assays, evaluation of the antibacterial activity of different formulations through agar inhibition assays, and assessment of the combined antimicrobial and regenerative effects in a *Galleria mellonella* burn wound model.

Stability assays demonstrated that, although high extract concentrations moderately reduced F1 titre, mean values remained above 10^6 PFU/mL, supporting its feasibility for combined formulations. Moreover, the ECO/F1 combination is expected to exhibit antimicrobial activity comparable to or greater than that of individual treatments and commonly used antibiotics. Finally, in the infected burn model, it is anticipated that the treatment will result in increased larval survival, reduced bacterial burden, and improved macroscopic wound healing. Overall, this study proposes a phage-based therapeutic approach as a promising alternative for the treatment of burn wound infections.

[P-14] Caracterización Computacional y Experimental de la Inmunogenicidad del Bacteriófago φSan23 y T4

Inmunidad a fagos

Fajardo Poveda, Johan David[1], Valderrama Aguirre, Augusto Elias[1], Vives Florez, Martha Josefina[1]

[1] *Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia*

Este proyecto tiene como objetivo caracterizar de manera computacional y experimental la inmunogenicidad de proteínas del virión de bacteriófagos, utilizando como modelo principal el bacteriófago φSan23, que infecta *Salmonella enterica*, y comparándolo con el bacteriófago T4, un modelo previamente estudiado. Dado el creciente interés en el uso de bacteriófagos como alternativa terapéutica frente a bacterias resistentes a antibióticos, comprender y predecir su inmunogenicidad resulta clave para garantizar su uso seguro y eficaz.

El estudio integra un enfoque in silico innovador que combina predicción de epítopos de células B, modelado estructural tridimensional y métricas propias de exposición estructural para estimar la inmunogenicidad de proteínas completas del virión. Este pipeline bioinformático será validado mediante comparaciones con proteínas de referencia conocidas y herramientas existentes, así como mediante análisis estadísticos sobre conjuntos de datos independientes.

De forma complementaria, se realizará una validación *in vivo* en modelos murinos, evaluando la respuesta inmune humoral inducida por los bacteriófagos φSan23 y T4 a lo largo del tiempo. La producción de anticuerpos específicos será analizada mediante ensayos serológicos e inmunoblot, permitiendo correlacionar los resultados experimentales con las predicciones computacionales.

En conjunto, este proyecto busca establecer un marco escalable y confiable para predecir la inmunogenicidad de proteínas de bacteriófagos, lo que permitirá reducir el uso futuro de animales en investigación, orientar el diseño racional de fagos con perfiles inmunológicos favorables y contribuir al desarrollo de terapias basadas en bacteriófagos.

[P-15] Diversidad de cianófagos en el Parque del Lago de Salto, Uruguay, analizada mediante metagenómica.

Ecología y evolución viral

Fernandez, Camila[1], Bortagaray, Viviana[1], Castells, Matías[1], Victoria, Matías[1]

[1] *Laboratorio de Virología, Cenur Litoral Norte, Universidad de la República, Salto, Uruguay*

Las floraciones de cianobacterias en ambientes acuáticos representan un problema creciente para la salud ambiental y pública, específicamente en sistemas urbanos. Los cianófagos, virus que infectan específicamente cianobacterias, desempeñan un rol clave en la regulación de sus poblaciones. Sin embargo, la diversidad y circulación de estos virus en ambientes acuáticos de Uruguay aún se encuentra poco caracterizada.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar la diversidad de bacteriófagos, con énfasis en cianófagos, presentes en el Parque del Lago, localizado en el departamento de Salto, Uruguay, mediante un enfoque metagenómico, aportando información sobre ecología viral local.

Se analizaron doce muestras ambientales de agua recolectadas en el Parque del Lago, correspondientes a los meses de verano de dos períodos consecutivos (2022-2023 y 2023-2024). A partir de estas muestras, se realizó un pool y se obtuvo ADN total, que fue sometido a secuenciación metagenómica. El procesamiento y análisis bioinformático de los datos se realizó utilizando la plataforma Galaxy, e incluyó etapas de control de calidad de las lecturas, ensamblado metagenómico y clasificación taxonómica de secuencias virales. El análisis permitió detectar una elevada diversidad viral, destacándose cianófagos asociados a cianobacterias de relevancia ecológica. La presencia consistente de cianófagos en las muestras analizadas sugiere una circulación activa de estos virus en la región estudiada. Asimismo, el enfoque metagenómico permitió identificar grupos virales que suelen quedar subrepresentados en estudios basados en aislamiento, resaltando su utilidad para el estudio de la diversidad viral ambiental.

Este trabajo constituye una primera aproximación al estudio de la diversidad de cianófagos en ambientes acuáticos de Uruguay, y sienta las bases para futuras investigaciones orientadas a comprender su rol ecológico y su potencial aplicación en el control biológico de las floraciones cianobacterianas.

[P-16] Detección de mecanismos de defensa antifágicos transferibles vinculados a genes de resistencia a los antibióticos con un enfoque "Una Salud".

Mecanismos de resistencia a fagos

Ferreira, Federica[1], Papa-Ezdra, Romina[1], Cordeiro, Nicolás[1], Garcia-Fulgueiras, Virginia[1], Seija, Verónica[2], Vignoli, Rafael[1], Bado, Inés[1]

[1] *Unidad Académica de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República (UdelaR), Montevideo, Uruguay*

[2] *Hospital de Clínicas, Montevideo, Uruguay*

El aumento de la resistencia a los antimicrobianos constituye un desafío global desde el enfoque One Health, que afecta a humanos, animales y al ambiente. Ante la disminución de las opciones terapéuticas, los bacteriófagos representan una alternativa prometedora; sin embargo, los mecanismos de defensa bacterianos y sus implicancias ecológicas generan preocupación. En este estudio se investigaron los mecanismos de defensa antífagos (APDM) en bacterias multirresistentes (MDR).

Se realizó secuenciación del genoma completo (WGS) utilizando plataformas Illumina y MinION Nanopore en aislamientos obtenidos de muestras clínicas de un hospital universitario en Uruguay, así como de muestras fecales de perros y gallinas. Los ensamblados híbridos se generaron mediante Unicycler y se emplearon ResFinder, PlasmidFinder y DefenseFinder para identificar genes de resistencia a antibióticos, grupos de incompatibilidad plasmídica y APDM.

Se analizaron 26 aislamientos que contenían 45 plásmidos pertenecientes a 17 grupos de incompatibilidad. Todos los aislamientos presentaron al menos tres APDM (media: 8 por aislamiento). En total, se identificaron 213 APDM correspondientes a 32 tipos diferentes. De los 45 plásmidos, 26 portaban 76 APDM, principalmente asociados a los grupos IncHI2A, IncN2, IncC, IncFII, IncT, IncQ, IncU, IncL/M, IncR, IncM, IncI1, IncI2 e IncFIB. Los plásmidos IncQ presentaron la mayor carga de APDM (8,5 por plásmido en promedio), seguidos por IncHI2A (3,5) e IncFIB, IncFIC e IncR (3 cada uno).

Los APDM más frecuentes incluyeron sistemas de restricción-modificación por metilación, sistemas toxina–antitoxina Mok-Hok-Sok dirigidos contra fagos T4 y sistemas MazEF que inhiben la propagación del fago P1. Los plásmidos que codifican APDM también portaban genes de resistencia a betalactámicos, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, macrólidos, colistina, trimetoprim, sulfonamidas y cloranfenicol. La circulación de estos sistemas entre especies resalta la necesidad de un enfoque One Health y de estudios genómicos para optimizar la terapia fágica.

[P-17] Presencia de mecanismos de defensa antifágicos en cepas productoras de carbapenemasas aisladas de hemocultivos.

Mecanismos de resistencia a fagos

Ferreira, Federica[1], Papa-Ezdra, Romina[1], Cordeiro, Nicolás[1], Munilla, Santiago[2], Outeda, Matilde[2], Seija, Verónica[2], Vignoli, Rafael[1], Bado, Inés[1]

[1] *Unidad Académica de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República (UdelaR), Montevideo, Uruguay*

[2] *Hospital de Clínicas, Montevideo, Uruguay*

El aumento de la resistencia a los antimicrobianos representa un problema significativo y las opciones terapéuticas para tratar bacterias multirresistentes en entornos clínicos son cada vez más limitadas. Nuevas alternativas, como los bacteriófagos, muestran potencial, aunque las defensas microbianas generan preocupación sobre su eficacia.

Se investigaron los mecanismos de defensa contra fagos en Enterobacterales productoras de carbapenemasas (CPE). Se realizó secuenciación del genoma completo con tecnología Illumina en 27 aislamientos de CPE obtenidos de hemocultivos de un hospital universitario en Uruguay. Cinco aislamientos se seleccionaron para secuenciación con Nanopore MinION, seguida de ensamblado híbrido mediante Unicycler. La presencia de mecanismos de resistencia a antibióticos, grupos de incompatibilidad y sistemas de defensa contra fagos se analizó usando ResFinder, PlasmidFinder y DefenseFinder.

Se analizaron 27 aislamientos, incluyendo VIM-2 (n=1), KPC-2 (n=6) y NDM-1 (n=20). Todos presentaron tres o más mecanismos de defensa antífagos. En total, se identificaron 153 mecanismos distribuidos en 36 tipos, siendo el sistema de restricción-modificación (RM) mediante metilación el más frecuente, seguido del sistema toxina-antitoxina Mok-Hok-Sok, que protege contra fagos T4. También se observaron los sistemas PD-Lambda/PD-T4, que inhiben la replicación del fago, y Abi, que induce muerte celular programada, así como MazEF, Retron, Hachiman y Gabija.

Estos mecanismos se localizaron en el cromosoma y en plásmidos de los grupos IncHI2A, IncN2, IncC, IncFII e IncFIB, junto con genes de resistencia a beta-lactámicos (*blaOXA-1*, blaCTX-M-9, blaCTX-M-15), aminoglucósidos (aadA2, aac(6')-Ib-cr, ant(2")-Ia, aph(6)-Id, aph(3")-Ib), fluoroquinolonas (qnrA1, qnrB1), macrólidos (*mphA*), colistina (*mcr-9*), trimetoprim (dfrA14, dfrA16), sulfametoxazol (sul1, sul2) y cloranfenicol (catB3).

Aunque la terapia con fagos es prometedora frente a infecciones por microorganismos multirresistentes, las bacterias muestran mecanismos que degradan ADN/ARN de fagos, bloquean replicación viral, inducen muerte celular, modifican ADN bacteriano y activan respuestas inmunes, tanto en plásmidos como en cromosoma. Estudiar estos sistemas es esencial para desarrollar terapias fágicas efectivas.

[P-18] Consorcio viral como estrategia de biocontrol frente a *Pseudomonas syringae*.

Aplicaciones Biotecnológicas

Gacitúa Espinoza, Fernanda[1], Merino Guzman, Carolina[1]

[1] *Universidad de La Frontera, Temuco, Chile*

Los bacteriófagos representan una estrategia de biocontrol altamente específica para el manejo de enfermedades bacterianas en la agricultura. En este contexto, el cancro bacteriano en cerezos, es causado por la bacteria *Pseudomonas syringae*, que constituye una de las principales enfermedades fitosanitarias del cultivo, siendo los patovares *syringae* y *morsprunorum* los más relevantes. Esta enfermedad genera grandes pérdidas económicas en sistemas productivos, alcanzando hasta un 75% en los primeros años de plantación, y entre un 10-20% en huertos establecidos. El manejo actual se basa principalmente en la aplicación de compuestos cúpricos y antibióticos de uso agrícola, sin embargo, su uso prolongado conlleva riesgos ambientales como la acumulación de cobre, fitotoxicidad y aumento de resistencia bacteriana, proyectando una disminución progresiva de la efectividad de las estrategias de control convencionales.

El objetivo de este estudio fue desarrollar y caracterizar un consorcio de bacteriófagos líticos estable y eficaz contra *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* y *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*, evaluando su potencial como herramienta de biocontrol, bajo la hipótesis de que un consorcio de bacteriófagos líticos específicos permite un control eficiente y selectivo de ambos patovares de *Pseudomonas syringae*. Se aislaron bacteriófagos a partir de muestras de suelo provenientes de distintas zonas de Chile, los cuales fueron aislados y caracterizados mediante análisis genómico por secuenciación, ensayos de especificidad de hospedero y pruebas de infectividad fago–bacteria. Como resultado, se obtuvo el aislamiento de bacteriófagos con actividad lítica específica contra ambos patovares, evidenciando una alta eficiencia de infección y lisis, lo que permite la selección de candidatos con mayor potencial para la formulación del consorcio viral. En conclusión, el proyecto y sus resultados respaldan y contribuyen al área agrícola mediante el desarrollo y la validación de una alternativa de control bacteriano selectivo y de bajo impacto ambiental.

[P-19] Influencia de la temperatura en la coevolución antagonista de *Vibrio anguillarum* PF4 y el fago lítico CHOED a nivel genómico.

Biología Básica de fagos

García, Daniela[1], Vargas, Neri[1], Leon, Marcela[1], Gacitua, Santiago[1], Bastías, Roberto[1]

[1] *Grupo de bacteriófagos e interacciones microbianas (BIM), Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV), Valparaíso, Chile*

La temperatura es un factor ambiental clave que puede alterar la trayectoria coevolutiva entre bacterias y los virus que las infectan (fagos), un proceso con profundas implicancias para el uso de estos virus como agentes de control biológico. *Vibrio anguillarum* es uno de los agentes etiológicos de la vibriosis, una enfermedad con alto impacto en la acuicultura de organismos marinos. Si bien la capacidad de infectividad de la cepa *V. anguillarum* PF4 no se restringe a un único rango de temperatura, se ha documentado que este factor abiótico modula la abundancia poblacional y, crucialmente, sus interacciones con depredadores como los fagos. La literatura ha determinado que la temperatura influye en las interacciones entre las bacterias y los fagos, modulando la trayectoria evolutiva de ambos. En este contexto, el fago lítico CHOED, ha demostrado ser clave al impulsar la diversificación de *V. anguillarum* PF4. El objetivo general del estudio es determinar cómo la temperatura afecta la dinámica coevolutiva entre *V. anguillarum* PF4 y el fago CHOED a nivel genómico, siendo la hipótesis del estudio que el aumento de temperatura influye en la dinámica coevolutiva de *Vibrio anguillarum* PF4 y el fago lítico CHOED, impactando en las mutaciones que ocurren en la bacteria y el fago durante su interacción. El ensayo de coevolución se realizó durante 21 días a tres temperaturas experimentales (14, 25 y 37 °C) con multiplicidad de infección 0,01. De este experimento, se extraerá ADN de muestras seleccionadas y se realizará secuenciación y análisis bioinformático para detectar variantes genómicas. La dinámica de las bacterias y los fagos se evaluará mediante frecuencias alélicas, Gráficos de Müller, y métricas cuantitativas: Índice de Jaccard, tasa de fijación y reversión mutacional. Este trabajo contribuirá al fundamento para optimizar el uso de fagos líticos contra *V. anguillarum*, al mostrar que la temperatura ambiental puede ser un factor decisivo que moldea la respuesta evolutiva de ambos.

[P-20] Clasificación filogenética de profagos de *Streptococcus agalactiae* revela nuevos géneros y especies virales y su relación con los tipos profágicos.

Ecología y evolución viral

Giacomini, Chiara[1], Zaiatz, Verónica[1], López Pombo, Luna[1], Kovacec, Verónica[1], Mollerach, Marta[1,2], Di Gregorio, Sabrina[1,2], López Leal, Gamaliel[3], Bonofiglio, Laura[1,2]

[1] *Cátedra de Microbiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina*

[2] *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina*

[3] *Laboratorio de Biología Computacional y Virómica Integrativa, Centro de Investigación en Dinámica Celular, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), Cuernavaca, México*

Los bacteriófagos desempeñan un papel clave en la diversidad genética y epidemiológica de *Streptococcus agalactiae* (EGB), principal agente de infecciones neonatales e invasivas en adultos. Previamente, caracterizamos los profagos presentes en 365 EGB provenientes de Argentina y propusimos un sistema de tipificación basado en las integrasas y las relaciones filogenéticas.

En este trabajo, integramos la tipificación previa con la clasificación filogenómica de género y especie, siguiendo los estándares del ICTV, con el objetivo de situar los profagos de EGB en un marco taxonómico comparable y explorar su relación con los tipos profágicos. Se utilizó vClust, y TaxMyPhage. Los resultados se integraron y se visualizaron con Microreact. Los agrupamientos basados en criterios ICTV revelaron correspondencia variable entre los tipos profágicos (TP) y los taxones virales. Todos los profagos detectados son potencialmente nuevas especies y géneros. Algunos TP se asociaron a clados mientras que otros agruparon profagos pertenecientes a múltiples géneros virales. En este sentido, identificamos 63 y 30 especies y géneros de fagos, respectivamente. Respecto de la asociación entre TP y géneros, el TP-A se distribuyó en dos géneros (0 y 4), asociados mayoritariamente a los complejos clonales (CC) CC29 y CC23. El TP-B se asoció en su mayoría al género 2 y CC17. El TP-C se encontró exclusivamente en el género 7 y en los C17, CC19 y CC23. El TP-D presentó una elevada diversidad de géneros con baja abundancia. El TP-E1 se asoció principalmente al género 1, mientras que el TP-E2 se vinculó mayoritariamente al género 5. El TP-F1 se asoció exclusivamente al género 3, aunque se distribuyó en múltiples complejos clonales. La clasificación filogenómica permitió discriminar unidades taxonómicas no resolubles mediante la tipificación, evidenciando mayor resolución genómica y destacando la complementariedad entre ambos enfoques para estudios evolutivos y epidemiológicos de profagos en EGB.

[P-21] Caracterización estructural y funcional de las proteínas de reconocimiento del hospedador en el fago J-1 de *Lacticaseibacillus*

Biología Básica de fagos

Gradaschi, Victoria[1], Piuri, Mariana[1,2]

[1] *Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina*
[2] *HerelleX, Buenos Aires, Argentina*

Las infecciones por fagos en *Lacticaseibacillus* constituyen un problema grave en la industria láctea, causando fallas en la fermentación y pérdidas económicas significativas. A pesar de esto, los mecanismos moleculares detrás del reconocimiento del hospedador en estos fagos permanecen en gran parte inexplorados. En J-1, se sabe que este reconocimiento depende de proteínas de la placa base, donde se describió por primera vez una Dit (gp16) que, además de cumplir un rol de andamiaje, posee módulos de unión a carbohidratos (CBMs). Específicamente, el módulo CBM2 presenta una probada interacción con la superficie bacteriana. Además, la proteína Tal (gp17) exhibe un extremo C-terminal fibrilar candidato a interactuar con receptores, el cual podría mediar un reconocimiento primario previo al contacto de CBM2.

Este trabajo tiene como objetivo caracterizar estos componentes para definir su rol en la infección. Mediante un enfoque multidisciplinario, confirmamos inicialmente la adhesión específica de Tal a la superficie bacteriana utilizando una fusión con GFP. Para profundizar el análisis, identificamos mediante comparación estructural un potencial dominio de interacción en Tal y diseñamos variantes recombinantes. Esto permitió obtener trímeros solubles, validados por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC), aptos para confirmar experimentalmente que la actividad de unión reside en dicho dominio.

Paralelamente, resolvimos la estructura de la placa base *in situ* mediante microscopía electrónica criogénica (Cryo EM) a una resolución global de 2,72 Å. Esto permitió el modelado atómico *de novo* del anillo hexamérico de Dit y el dominio N-terminal de Tal. La alta resolución reveló una inversión en la posición de los dominios de Dit respecto a modelos previos, situando a CBM2 en una orientación topológicamente favorable para el contacto con el hospedador. Estos hallazgos profundizan la comprensión sobre cómo estos fagos reconocen a sus hospedadores y sientan las bases para futuros estudios orientados a la prevención de infecciones.

[P-22] Desarrollo de un cocktail de fagos para biocontrol de *Klebsiella pneumoniae* MDR en superficies abióticas

Biología Básica de fagos

Gurmendez Carluccio, Julieta[1,2], Echeverria, Natalia[1,2]

[1] *Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay*
[2] *Facultad de Ciencias, Universidad de la República (UdelaR), Montevideo, Uruguay*

El uso excesivo de antibióticos ha favorecido la emergencia y diseminación de bacterias multirresistentes (MDR), entre ellas *Klebsiella pneumoniae*, un patógeno oportunista asociado a diversas infecciones intrahospitalarias, en particular frente a la creciente resistencia a antibióticos. En este contexto, los bacteriófagos han resurgido como una alternativa prometedora para eliminar cepas MDR y para el biocontrol potencial en superficies hospitalarias.

Este proyecto evaluó diez fagos virulentos de la colección KlebPhaCol (Reino Unido) como agentes de biocontrol en superficies abióticas contaminadas con *K. pneumoniae.* Se analizaron frente a 46 cepas clínicas locales de *Klebsiella* spp. MDR y cepas de referencia, determinándose el rango de hospedero (RH) y la eficiencia de plaqueo (EOP) mediante spot test. Aquellos fagos con mejor desempeño fueron seleccionados para estudios de estabilidad a distintos valores de pH y temperatura, con el objetivo de formular cócteles fágicos estables y comparar su eficacia descontaminante con la del etanol al 70%.

Los resultados evidenciaron susceptibilidad de varias cepas clínicas y de referencia. En particular, los fagos Roth26, Roth27 y Roth93 se destacaron por presentar los RH más amplios y elevada virulencia (EOP > 0,1), mostrando estabilidad entre 4°C-60°C y en un rango de pH de 5-11, aunque con disminución de títulos a 60°C y pH 11. Los cócteles fágicos mostraron un mayor control del crecimiento bacteriano, siendo más eficientes a MOI 1. Mediante el Índice de Centroide se identificó al cóctel Roth27+Roth93 como el más eficiente. En ensayos de descontaminación de superficies de vidrio, previamente contaminadas con 10^4 UFC, se observó la ausencia de bacterias viables a los 60 minutos post-tratamiento (MOI 1 y 10), con resultados comparables al etanol. Se encuentran en curso ensayos para evaluar el efecto tras 24 horas de acción. Estos resultados respaldan el potencial de los cócteles fágicos como abordajes alternativos para la descontaminación hospitalaria.

[P-23] Cuantificación de la disminución de *Cutibacterium acnes* inducida por bacteriófagos en cocultivo con queratinocitos humanos

Aplicaciones Biotecnológicas

Hernandez Garavito, Natalia[1], Vives Florez, Martha Josefina[1], Farfán Esquivel, Juan Camilo[2]

[1] *Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia*
[2] *Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia*

Cutibacterium acnes es una bacteria comensal de la piel humana asociada con procesos inflamatorios como el acné vulgar y otras patologías cutáneas. El uso prolongado de antibióticos para su control ha contribuido al aumento

de cepas resistentes, lo que hace necesario explorar estrategias terapéuticas alternativas. En este contexto, los bacteriófagos emergen como una herramienta prometedora debido a su alta especificidad contra bacterias, lo que permite un control dirigido con menor impacto sobre la microbiota.

En este trabajo se cuantificó la disminución de células de *C. acnes* inducida por el bacteriófago Φ7.3 en un cocultivo con queratinocitos humanos, mediante análisis de imágenes con ImageJ. Los resultados demuestran el potencial de estos fagos como estrategia de control bacteriano en un modelo *in vitro* que simula la interacción entre la bacteria y las células de la piel.

[P-25] Dinámica Ecológica y Potencial Funcional del Viroma en la Periimplantitis: Evaluación de Estilos de Vida y Genes Metabólicos Auxiliares

Biología Básica de fagos

Leyton Carcaman, Benjamin[1], Abanto Marin, Michel[1], Beltran Varas, Victor[2]

[1] *Laboratorio de Genómica Computacional de Microorganismos, Universidad de La Frontera (UFRO), Temuco, Chile*
[2] *Facultad de Odontología, Universidad de La Frontera (UFRO), Temuco, Chile*

La periimplantitis constituye una entidad patológica definida por una disbiosis polimicrobiana compleja en la interfase tejido-titanio, distinguible de la periodontitis por las propiedades fisicoquímicas de superficie y su perfil inmunopatológico. Si bien el microbioma ha sido caracterizado exhaustivamente, el rol del viroma en la modulación de esta arquitectura comunitaria permanece poco explorado, desconociéndose si la presión viral obedece a dinámicas de control de biomasa o de mutualismo adaptativo. El presente estudio evalúa la hipótesis de que el microambiente periimplantario ejerce una presión selectiva que favorece la prevalencia de fagos temperados integrados en patógenos clave (e.g., Porphyromonas, Fusobacterium), los cuales confieren ventajas adaptativas mediante la transferencia de Genes Metabólicos Auxiliares (AMGs). Metodológicamente, se ejecutará un análisis comparativo de metagenomas shotgun procedentes de saliva y placa subgingival en cohortes clínicas de salud e implantes patológicos. El flujo de trabajo bioinformático integra la identificación de contigs virales mediante GeNomad y CheckV. La cuantificación de abundancia diferencial mediante CoverM. Se emplearán algoritmos basados en aprendizaje profundo (PhaBOX) para predecir el estilo de vida viral (lítico vs. lisogénico), taxonomía y host esperado. Ademas, se empleará checkAMG para realizar la anotación funcional profunda de AMGs. Se espera que los resultados permitan determinar si existen diferencias estructurales en la comunidad viral asociadas al estado clínico y evaluar la capacidad codificante del viroma para influir en procesos como el metabolismo de biofilm o la respuesta a estrés ambiental.

[P-26] Conformación de una fagoteca con actividad lítica frente a patógenos clínicos prioritarios

Biología Básica de fagos

Aguilera Arreola, Ma. Guadalupe[1], **Loera Piedra, Alejandra Aidee**[1], Becerra Mejía, Isamar Leticia[1], Contreras Rodríguez, Araceli[1], Luna Herrera, Julieta[1], Martínez Díaz, Sergio Francisco[1], Osuna López, Silvia Concesa[1], Del Valle Balbuena, Salvador[1], Ángeles González, Arantxa Monserrat[1]

[1] *Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México*

El incremento sostenido de la resistencia a los antibióticos ha reducido de manera crítica las opciones terapéuticas frente a patógenos bacterianos de relevancia clínica. En este contexto, nuestro grupo de trabajo ha desarrollado una línea de investigación orientada a la exploración de diversas fuentes ambientales y clínicas para el aislamiento y estudio de nuevos bacteriófagos con potencial terapéutico. El objetivo de esta estrategia ha sido conformar y caracterizar una colección de bacteriófagos líticos (fagoteca) dirigida a patógenos clínicos prioritarios, incluidos el grupo ESKAPE y otros de importancia médica.

Los bacteriófagos fueron aislados a partir de agua residual, agua corriente sin contaminación evidente y muestras clínicas de orina, combinando metodologías de microbiología clásica y análisis genómico. En total, se aislaron 60 bacteriófagos líticos con actividad frente a microorganismos de importancia clínica, incluyendo *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Acinetobacter baumannii, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Raoultella ornithinolytica*, y *Klebsiella aerogenes*. Sin embargo, los de *P. aeruginosa* y *S. aureus* perdieron viabilidad antes de ser caracterizados.

De manera general, los bacteriófagos aislados mostraron viabilidad en un intervalo de pH de 5 a 11 y temperaturas entre 4 a 50 °C. Los periodos de latencia oscilaron entre 10 y 50 minutos, con tiempos de estallido entre 30 a 200 minutos y tamaños de estallido variables, desde 40 UFP/cel para *R. ornithinolytica* hasta 4.14x10^7 UFP/cel para *E. faecalis*. El análisis morfológico mediante microscopía electrónica indicó que los bacteriófagos aislados pertenecientes a la familia *Siphoviridae* y *Myoviridae*. El análisis genómico de un subconjunto de bacteriófagos identificó a Eclo2, Kp8, vB_RorM_F4 y vB_EfaS_LOK1 como estrictamente líticos y sin genes de virulencia y/o resistencia.

En conjunto, estos resultados respaldan la consolidación una fagoteca diversa y funcional, que constituye una plataforma para el desarrollo de estrategias de terapia fágica y biocontrol bacteriano frente a patógenos clínicos multirresistentes.

[P-27] Elucidating the High-Resolution Structure of Pseudomonas ZC01 Bacteriophage by Cryo-EM: Implications for Biotechnology and Bacteriophagic Therapy

Biología Básica de fagos

Lopez Sisley, Josue Manuel[1], Sgro, German[2], Talachia Rosa, Leonardo[1]

[1] *Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), São Paulo, Brasil*

[2] *Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brasil*

The increasing resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to multiple antibiotics represents a critical public health challenge, complicating the treatment of nosocomial infections. In this context, bacteriophages, which specifically infect bacteria, emerge as a promising therapeutic alternative. Bacteriophage ZC01, isolated from compost and belonging to the *Siphoviridae* family, is an interesting candidate for investigation due to its potential in phage therapy. This research focuses on the structural characterization of ZC01 using cryo-electron microscopy (Cryo-EM). The aim is to optimize sample preparation techniques, process the phage components through Single Particle Analysis, and model its capsid, tail, and portal complex. Initially, negative-stain transmission electron microscopy will be performed to assess sample quality and phage integrity. Vitrification will be optimized using glow-discharged holey carbon grids, adjusting blotting conditions and buffer composition to ensure good particle distribution and avoid preferred orientation. High-resolution Cryo-EM data will be collected using advanced microscopes, including a Talos Arctica operating at 200 kV for initial screening and a Titan Krios operating at 300 kV, equipped with a BioQuantum energy filter and K3 direct electron detector, for high-throughput data acquisition. The collected micrographs will be processed using state-of-the-art SPA workflows in CryoSPARC for particle picking, 2D classification, 3D reconstruction, and refinement. The resulting density maps of the capsid, tail, and portal will be interpreted through atomic model building. For this, available structural templates will be used where possible, and novel components will be modeled using AlphaFold, particularly for proteins without homologous structures. Model fitting and refinement into the density maps will be performed using tools such as Phenix, ChimeraX, and Coot. This molecular characterization of phage ZC01 is expected to reveal critical insights into its structural organization and infection mechanisms. The findings will contribute to the development of targeted phage therapy strategies and may also facilitate the engineering of phage-derived biotechnological tools.

[P-28] Aislamiento y caracterización de bacteriófagos para el control de cepas de *Acinetobacter baumannii* MDR

Aplicaciones Biotecnológicas

Martínez Enciso, Santiago[1], Aguila Ramírez, Noemí[1], Aguilera Arreola, Ma. Guadalupe[2], Del Valle Balbuena, Salvador[1], Luna Herrera, Julieta[3], Ángeles González, Arantxa Monserrat[5], Hernández Chávez, Jesús Angel, Cano Europa[3], Edgar, Sanchez Angulo, Andrea Minelly[1], Martínez Díaz, Sergio Francisco[1]

[1] *Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, Baja California Sur, México*

[2] *Laboratorio de Bacteriología Médica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México*

[3] *Laboratorio de Inmunoquímica II, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México*

Acinetobacter baumannii se ha consolidado como uno de los patógenos oportunistas de mayor relevancia en el ámbito hospitalario, al estar estrechamente vinculado a infecciones nosocomiales graves como neumonía asociada a ventilación mecánica, bacteriemias y sepsis. La creciente frecuencia de cepas multidrogoresistentes (MDR) ha reducido de forma crítica las opciones terapéuticas disponibles, representando un riesgo significativo para la salud pública. En este contexto, la terapia con bacteriófagos emerge como una alternativa promisoria para contrarrestar los efectos negativos derivados de la resistencia antimicrobiana, debido a su especificidad bacteriana y capacidad lítica.

El propósito de este trabajo fue aislar y caracterizar bacteriófagos específicos contra *A. baumannii* con el objetivo de integrar un cóctel de fagos potencialmente efectivo contra cepas MDR. A partir de muestras de aguas residuales se aislaron un total de 85 bacteriófagos líticos, los cuales fueron sometidos a procesos de caracterización biológica y evaluación de espectro de hospedero. Para ello, se emplearon 25 cepas bacterianas de origen hospitalario como hospedadores de enriquecimiento y detección. Con base en estos análisis, se diseñaron diferentes cócteles y se evaluó su eficacia in vitro en el control del crecimiento de *A. baumannii*.

Adicionalmente se evaluó la capacidad de los bacteriófagos individuales y en coctel para la reducción de la formación de biopelículas. Posteriormente, el coctél con mejores atributos será evaluado en un modelo murino infectado con *A. baumannii*, donde se espera una disminución significativa en la mortalidad asociada a la infección. Estos resultados respaldan el potencial de los cocteles de fagos como estrategia terapéutica complementaria frente

a infecciones causadas por *A. baumannii* MDR y refuerzan la necesidad de continuar su desarrollo preclínico y clínico.

[P-29] Characterization of φESI: a prophage associated with the Emergent-Multidrug Resistant *Salmonella* Infantis

Ecología y evolución viral

Martínez Padilla, Cristobal[1], Barrón-Montenegro, Rocío[1], Tichy, Daniel[2], Herrera Vergini, Ignacia[1], Álvarez Espejo, Diana[1], Piña Iturbe, Alejandro[1], Moreno Switt, Andrea[1]

[1] *Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile*
[2] *Universidad Andrés Bello (UNAB), Santiago, Chile*

Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Infantis (SI) is an emerging foodborne pathogen with a global distribution. Emergent SI (ESI) strains carry the megaplasmids pESI which harbors multiple antibiotic and disinfectant resistance genes, as well as virulence factors. Previously, in our laboratory we isolated a bacteriophage from a coculture between ESI strain PM57 and non-emergent strain (n-ESI) DR006. Genome sequencing and bioinformatic analyses showed that this bacteriophage, designated φESI, shared 100% nucleotide sequence identity with an uncharacterized prophage integrated in the genome of ESI strain PM57, and was absent in the n-ESI strain DR006. In this study, we further characterized φESI and evaluated its role in the ESI/n-ESI interaction. Genomic characterization revealed that φESI is temperate phage of 46,490 bp and 49.3% of GC content, with genes associated with lysogeny. Moreover, φESI is integrated at the 3'-end of the tRNA-Arg gene as a prophage in the chromosome of the ESI strain. Further genomic analysis of over 9,000 global SI genomes revealed a significant association ($\chi 2$; $p<0.001$) between the presence of pESI megaplasmids and the prophage φESI. We observed that during coculture, induction of the prophage in a subpopulation of ESI cells led to the release of viral particles, which through the lytic cycle infect the n-ESI strain (n=3). Susceptibility assays using the efficiency of plating method with 6 ESI strains and 15 n-ESI strains showed that strains carrying the φESI prophage are resistant to φESI-mediated lytic infection. Finally, competition assays between the ESI strain PM57 and the n-ESI strain DR006, revealed a competitive advantage for the ESI strain (0.8 $\log_{10}$ CFU/mL difference), which correlated with φESI amplification. Our results indicate that φESI favors competition of ESI strain against n-ESI strain, suggesting that the prophage may have played a role in the emergence and success of the emergent SI lineage.

[P-30] Caracterización de Colifagos Provenientes de un Ambiente Estuarino Tropical y Su Posible Aplicación en el Control de *Escherichia coli*

Biología Básica de fagos

Montiel Romero, Marynes[1], Debut, Alexis[2], Toaquiza-Vilca, María Belén[1], Ávila, Diego Fernando[1]

[1] *Facultad Ciencias de la Vida, Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), Guayaquil, Ecuador*
[2] *Centro de Nanociencia y Nanotecnología, Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE), Sangolquí, Ecuador*

En estuarios se ha reportado la presencia de bacteriófagos de la clase *Caudoviricetes*, predominando morfologías tipo *Myoviridae*, *Siphoviridae* y *Podoviridae*. A pesar de la diversidad y abundancia de bacteriófagos que se encuentran comúnmente en estuarios, no todos son adecuados para el control biológico de *E. coli*, requiriéndose fagos estrictamente líticos con características genómicas y estabilidad específica. El objetivo de la presente investigación fue caracterizar colifagos provenientes de muestras de agua y sedimento del estero El Salado (Guayaquil, Ecuador) para su posible aplicación en el biocontrol de *E. coli.* Los fagos fueron aislados utilizando la técnica de capa simple y se purificaron según la diversidad morfológica de las placas. A partir de las placas seleccionadas, se determinó el título y se realizó análisis de PCR para la identificación de géneros líticos mediante la amplificación del gen de la proteína de la cápside. Se determinó el rango de huésped utilizando la técnica de spot frente a cepas de *E. coli* con diferentes grados de sensibilidad a antibióticos. Los genomas de dos fagos más representativos se secuenciaron usando Illumina® y se determinó su estabilidad térmica y de pH. La morfología viral se confirmó mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM). De un total de 50 virus líticos obtenidos, el 58% se identificó como *Siphoviridae*-Dhillonvirus, un 2% *Myoviridae*- Felixounavirus y un 40% no pudo ser molecularmente identificado. El análisis genómico reveló que uno de los fagos no identificados por PCR pertenece al género Justusliebigvirus y otro al género Dhillonvirus. En relación con su estabilidad, ambos fagos son capaces de resistir hasta alrededor de 60 °C y un pH entre 5 y 9. El análisis genómico revela ausencia de genes asociados con resistencia a antibióticos, lisogenia y toxinas. Todas estas características los perfilan como posibles opciones en la fagoterapia para el control de *E. coli.*

[P-31] Enhancing Viral Protein-Protein Interactions by Fusing the Rosetta Suite and an Elitist Genetic Algorithm

Genómica, metagenómica e IA aplicada a fagos

Motoche, Cristofer[1], Armas, Tito[1], Castillo, José[1], Hidrobo, Francisco[1]
[1] *Yachay Tech University, Urcuquí, Ecuador*

This study presents a proof-of-concept for enhancing protein-protein interactions using a single-objective elitist evolutionary algorithm. The research focuses on a *de novo* structural complex formed by the bacteriophage Rs551's Receptor Binding Protein (RBP) and the *R. solanacearum* bacterial pilus. The primary objective was to minimize the interaction energy within the defined 38-position interface zone to design a more robust molecular interaction. To achieve this, a genetic algorithm (GA) was integrated with the Rosetta Macromolecular Modeling suite. The algorithm employs a specialized mutation operator that identifies stabilizing and destabilizing residues and probabilistically selects one for replacement, guided by a Multiple Sequence Alignment (MSA) probability matrix that reflects naturally occurring substitutions.

The experimental results demonstrate the effectiveness of this computational approach. Over 16 independent runs and 20 generations, the algorithm consistently found improved designs. A clear convergence was observed, with the average fitness value (interaction energy) decreasing from an initial average of 15.78 to -2.77 in the final generation, indicating a significant enhancement in binding affinity. Analysis of the final 400 solutions revealed specific mutation patterns, identifying key amino acid positions and substitutions that contribute to lower energy states. Interface quality metrics further confirmed that the evolved protein designs had better energy scores without significantly altering the interface's structural packing. This work successfully validates the evolutionary algorithm as a tool for automating the search of optimal solutions in protein design, effectively highlighting energetically favorable mutations. As future work, extensive validation and benchmarks must be incorporated, along with transforming the genetic algorithm from single objective to multi-objective.

[P-32] Determination of protein-protein interactions during phage infection

Biología Básica de fagos

Peña Llontop, César Augusto[1], Sgro, German Gustavo[1]
[1] *Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brasil*

Introduction: This study investigates protein-protein interactions during bacteriophage infection, focusing on modern isolate phages ΦXacm4-11, ZC01 and ZC03 and their bacterial hosts *Xanthomonas citri* and *Pseudomonas aeruginosa*, respectively. Using the adenylate cyclase (AC)-based bacterial two-hybrid (BACTH) system, we aim to identify bacterial proteins interacting with phage proteins, shedding light on infection steps and resistance mechanisms. The findings will aid in developing antimicrobial and biocontrol strategies. Objectives: Construct BATCH-based genomic libraries (preys) for *X. citri* strain 306, *P. aeruginosa* strain PA14, and gene-specific vectors (baits) for ΦXacm4-11, ZC01, and ZC03, and identify protein-protein interactions between ΦXacm4-11/*X. citri* and ZC01/ZC03/*P. aeruginosa.* Materials and methods: Bacterial and phage genomic DNA were extracted using commercial kits. The pKT25 and pUT18 family vectors from the BACTH system, stored in *E. coli* DH5α, were used to construct libraries. Phage genes were amplified by PCR using CloneAmp HiFi PCR Premix (Takara). Vectors were extracted, digested with BamHI, XbaI or SmaI restriction enzymes, and dephosphorylated with FastAP. *X. citri* genomic DNA was fragmented with Sau3AI, while ΦXacm4-11 genes were digested with BamHI, XbaI or SmaI and purified. T4 DNA Ligase was used for ligation, inserting *X. citri* DNA into pUT18 family vectors and phage-derived genes into pKT25. Transformation into *E. coli* DH5α was performed via electroporation. Clone verification was conducted by colony PCR. Results: The genomic DNA of *X. citri* and ΦXacm4-11 were successfully isolated and purified. Partial digestion with Sau3AI optimized fragmentation, obtaining 250-2500-bp fragments, was determined within 30-45 min. PCR amplification of phage genes successfully generated target fragments for cloning. Colony PCR confirmed the correct insertion of fragments into vectors, ensuring adequate genomic coverage.

Conclusions: The bacterial and phage genomic DNA was successfully cloned into the appropriate vectors, ensuring correct insertion. These results validate the experimental strategy for future research on protein-protein interactions.

[P-33] Uso Combinado de Bacteriófagos y Probióticos para el Control de Serovares de *Salmonella* Prevalentes en Industria Avícola

Biología Básica de fagos

Pinilla Ojeda, Alejandro Nicolás[1,2], Infante, Claudia[2], Ulloa, Soledad[2], Cifuentes, Pablo[2], Quatrini, Raquel[1,3]
[1] *Universidad San Sebastián (USS), Chile*
[2] *Phage Lab SpA, Santiago, Chile*
[3] *Fundación Ciencia & Vida, Santiago, Chile*

Antecedentes: La industria avícola enfrenta desafíos importantes, como la presencia de *Salmonella multirresistente*, un problema que se ve agravado por el uso excesivo de antibióticos. Los bacteriófagos y los probióticos han surgido como alternativas prometedoras a los antibióticos: los primeros eliminan bacterias de manera específica, mientras que los segundos mejoran la salud intestinal del hospedador. Sin embargo, su eficacia individual puede ser limitada.

Este proyecto propone combinar ambas estrategias, aprovechando sus efectos complementarios para el control de *Salmonella de* alta prevalencia en industria avícola y, de esta manera, mejorar la productividad y el bienestar animal.

Hipotesis: El uso combinado de probióticos y un cóctel de bacteriófagos, tiene un efecto complementario en el control de Salmonella.

Objetivos:

• Aislar y seleccionar bacterias con potencial probiótico desde muestras ambientales.

• Evaluar el efecto antimicrobiano combinado de probióticos y cóctel de bacteriófagos previamente diseñado contra serovares de *Salmonella* enterica.

Metodología: Se aislaron bacterias desde muestras ambientales, los sobrenadantes libres de células (CFS) fueron evaluados mediante un cribado *in vitro* de alto rendimiento en placas multipocillo. La inhibición de *Salmonella se* determinó por la disminución del área bajo la curva (AUC) tras 18 horas y se confirmó en co-cultivos con células viables. Finalmente, se desarrollaron ensayos combinados en formato multipocillo entre los aislados con actividad inhibitoria y los bacteriófagos para evaluar su efecto conjunto en la inhibición del crecimiento de *Salmonella*.

Resultados: Se seleccionaron 5 aislados con actividad inhibitoria. Mientras que los tratamientos individuales mostraron inhibiciones parciales (0-50%), la aplicación combinada mostró en algunos casos un efecto sinérgico, logrando inhibiciones cercanas al 80% en el crecimiento de *Salmonella*.

Conclusión: Estos hallazgos apoyan que el uso de combinado de probióticos y bacteriófagos es eficaz para el control de *Salmonella*.

[P-34] Untapping prophages' role in antibiotic resistance across the Pseudomonadota human pathogens

Ecología y evolución viral

Plaza, Daniel[1], Sheppard, Sam[1]

[1] *University of Oxford, Oxford, Reino Unido*

Antibiotic resistance is one of the most pressing global health issues, and it is increasing and spreading at an alarming rate. Common infections are becoming hard to treat, and traditional antibiotics are no longer effective against several deadly drug-resistant bacteria. The World Health Organization (WHO) list of critical pathogens includes mostly Gram-negative bacteria, mainly from the Pseudomonadota phylum (formerly Proteobacteria).

Horizontal spread of antibiotic resistance genes (ARGs) mainly occurs via mobile genetic elements (MGE), such as plasmids, transposons, and integrons. Bacteriophages (phages), viruses that infect bacteria, are also capable of mobilising genes across populations. However, the role of phages integrated into their host genomes (prophages) on antibiotic resistance is less clear.

Here, we identified and characterised the prophages present in 27 strains from alpha, beta, and gammaproteobacteria (Pseudomonadota phylum) along with their ARGs. Three different tools were used to predict prophage clusters and the Resistance Gene Identifier (The Comprehensive Antibiotic Resistance Database, CARD) to examine the resistomes.

Each strain contained between one and sixteen putative prophages, mostly from the *Siphoviridae* and *Myoviridae* families, and eighteen in total were not classified. Specific transposon elements are also located within some prophage clusters. Interestingly, six phage-plasmids were predicted for highly perilous pathogens. All the ARGs were found within chromosomes, except for two strains that also have plasmid-harboured genes. A high diversity of ARGs was detected across species, mainly linked to efflux and antibiotic target alteration, with a small set of bacteria sharing clinically relevant genes. Furthermore, dissection of co-localisation and genetic context of prophages and mobile elements provide significant insights into prophages' potential roles in transmission and dissemination of ARGs in harmful human pathogens.

[P-35] Identification of recombinant scFv antibodies against foot-and-mouth disease virus by phage display.

Aplicaciones Biotecnológicas

Randazzo, Cecilia Paola[1,2], Miraglia, Maria Cruz[1,2], Mansilla, Florencia Celeste[1,2], Mangena, Maruping[3], Carignano, Hugo Adrián[1,2], Chitray, Melanie[3,4], Capozzo, Alejandra Victoria[5,2], Pérez-Filgueira, Mariano Daniel[1,2]

[1] *Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires, Argentina*

[2] *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina*

[3] *Vaccines and Diagnostic Development Programme, Agricultural Research Council, Onderstepoort Veterinary Research Institute, Pretoria, Sudáfrica*

[4] *Department of Veterinary Tropical Diseases, Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria, Pretoria, Sudáfrica*

[5] *Centro de Altos Estudios en Ciencias Humanas y de la Salud, Universidad Abierta Interamericana (UAI), Buenos Aires, Argentina*

Foot-and-mouth disease (FMD) is a highly contagious viral disease of cloven-hoofed animals that causes severe economic losses worldwide. In Argentina, serotypes A, O, and C have historically circulated, with A24 being of major local epidemiological relevance and widely used as a reference strain for standardizing serological assays; its antigenic variability makes it an appropriate model for studying immune recognition and improving diagnostic sensitivity. In this context, phage display technology constitutes a robust strategy for identifying specific recombinant antibodies against FMDV, establishing a platform that can be extended to other serotypes of epidemiological importance.

A library of recombinant bovine antibodies against foot-and-mouth disease virus (FMDV) was successfully constructed using a phage display system, based on RNA extracted from prescapular lymph nodes of cattle previously vaccinated with a tetravalent vaccine. The present study focused on the detection and selection of recombinant single-chain variable fragment (scFv) antibodies specific to FMDV serotype A24.

Three consecutive rounds of biopanning were performed against purified A24 viral antigen to enrich specific binders. Enrichment process was monitored by polyclonal phage ELISA after each round and subsequently by monoclonal phage ELISA to identify individual positive clones. Phagemid DNA from selected clones was isolated using a commercial purification kit, and the presence of scFv inserts was confirmed by PCR. Inserts were subjected to automated sequencing using BI 3730 system. Nucleotide sequences were assembled and translated using BioEdit v7.2.5 software.

As a result, 18 recombinant scFv antibodies were selected, and their specificity toward FMDV serotype A24 was confirmed by ELISA. These scFv antibodies represent a valuable repertoire with potential application in the development of serotype-specific diagnostic tools and in FMDV antigenic characterization studies.

Future work will focus on the functional characterization of the selected scFv antibodies, including evaluation of their cross-reactivity with other FMDV serotypes, supporting improved detection and surveillance strategies.

[P-36] Harnessing “phage training” to Bolster the Therapeutic Potential of Bacteriophages

Biología Básica de fagos

Rea, Emilia[1]

[1] *Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina*

Como parte de la evaluación del curso **Bacteriófagos y Aplicaciones Biotecnológicas**, se presenta en este poster el artículo: Torriero-Smith, N., Rogers, B. A., McDonald, M. J., & Barr, J. J. (2026). Harnessing 'phage training' to bolster the therapeutic potential of bacteriophages. *Current opinion in microbiology*, 89, 102696.

Background

Phage therapy is gaining attention as an alternative or complement to antibiotics, but its clinical adoption remains limited by practical and biological challenges: isolating phages that efficiently infect a patient’s strain is labor-intensive, many isolates display low efficiency of plating (EOP), large-scale production of pure, characterised stocks is costly, and bacteria rapidly evolve resistance in response to phage predation that can render a phage ineffective. Phage training exploits the natural evolutionary capacity of phages by exposing them to target bacteria under controlled conditions.

Hypothesis

Phage training can address key limitations of phage therapy by harnessing rapid phage evolution to generate phages with increased infectivity, broader host range, and improved capacity to overcome and delay bacterial resistance.

Methods: Training approaches

Three principal phage training strategies are described in the literature.

Phage evolution involves iterative exposure of phages to evolutionarily naïve bacteria while suppressing host evolution, selecting for increased infectivity or host range.

Phage–bacterial co-evolution allows both phage and host to evolve, enabling phages to counter bacterial resistance and delay its emergence.

Appelman’s protocol employs serial dilution of mixed phage populations against multiple bacterial strains, pooling lytic wells to promote host range expansion and genetic diversification.

Key results

Phage training has repeatedly demonstrated improved therapeutic traits. Phage evolution increased lytic activity and EOP (Subedi *et al.*). Co-evolution improved infectivity, suppressed bacterial growth, and delayed resistance (Ngiam *et al.*). Appelman’s protocol enabled host range expansion and recombination-driven diversification (Burrowes, Molineux, and Fralick).

Concluding remarks

While promising, phage training faces limitations including long timeframes, lack of protocol standardisation, inconsistent use of populations versus single genotypes, and incomplete characterisation. Future studies should

align training strategies with clinical goals and prioritise genetically and phenotypically defined phages. A flexible, patient-tailored application of phage training may be key to integrating phage therapy into clinical practice.

[P-37] Beyond plaque assays: metagenomics reveals rapid phage turnover in intestinal *E. coli*

Ecología y evolución viral

Regalado León, Daniela[1], Trueba, Gabriel[1], Benítez, Denisse[2], Cárdenas, Paúl[2], Muñoz, Erika[2], Rojas, Esteban[1], Sánchez, Adelein[1]

[1] *Laboratorio de Bacteriología, Instituto de Microbiología, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales (COCIBA), Universidad San Francisco de Quito (USFQ), Quito, Ecuador*

[2] *Laboratorio de Bioinformática, Instituto de Microbiología, COCIBA, USFQ, Quito, Ecuador*

Background:

Dominant populations of *Escherichia coli* exhibit rapid turnover in the gut; understanding the mechanisms driving this dynamic could inform strategies to better control intestinal colonization by pathogenic strains. Lytic bacteriophages have been proposed as potential factors influencing this turnover in complex environments such as the gut.

Objectives:

We hypothesized that dominant intestinal *E. coli* strains actively interact with lytic bacteriophages in the avian gut. We aimed to integrate bacteriological and metagenomic approaches to characterize phage turnover, diversity, and host specificity in a longitudinal study.

Methods:

Fecal samples were collected from five chickens at three time points over six weeks. Dominant *E. coli* strains were isolated, genotyped (*fliC*), and tested for susceptibility to phage extracts from the same and different time points using plaque assays. Lytic bacteriophages enriched on phage-sensitive wild-type *E. coli* strains from the first time point were sequenced using Oxford Nanopore Technologies. Viral contigs were assembled, quality-checked, taxonomically classified using ICTV-based frameworks (UHGV), and analyzed for host prediction, abundance, and diversity at the viral operational taxonomic unit (vOTU) level.

Results:

Metagenomic analyses identified 722 non-redundant vOTUs, predominantly double-stranded DNA phages within *Caudoviricetes*. Only ~14% of vOTUs persisted across sampling periods, indicating pronounced temporal turnover. Alpha diversity metrics remained stable, whereas beta diversity analyses revealed strain-level structuring of phage communities. Individual *E. coli* strains were associated with highly diverse, strain-specific phage assemblages, ranging from 6 to 225 vOTUs. Plaque assays detected lytic activity in fewer than half of dominant strains. Approximately 16% of phages exhibited predicted broad host range within *Enterobacteriaceae*.

Conclusions:

Our findings demonstrate that dominant intestinal *E. coli* strains interact with unexpectedly diverse and rapidly dynamic bacteriophage communities. Metagenomic approaches uncover extensive “hidden” phage diversity missed by classical assays, highlighting the complex and strain-specific nature of phage–bacteria interactions in the avian gut.

[P-38] Biocontrol de *Xanthomonas arboricola pv. juglandis* mediante el uso de DuoForte NT en huertos de nogales del Sur de Chile.

Aplicaciones Biotecnológicas

Retamales Lara, Julio Enrique[1], De La Maza, Teresa[1], Lefin, Nicolás[1], Reyes, Cristian[1], Bustos, Jose Manuel[1]

[1] *Exacta Bioscience SpA, Santiago, Chile*

La producción de nogales en Chile enfrenta desafíos fitosanitarios críticos debido a la Peste Negra, causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (Xaj), y su recurrente asociación con el complejo de la necrosis apical café (BAN), donde interactúan hongos de los géneros *Alternaria* y *Fusarium*. Ante la creciente resistencia bacteriana a los tratamientos cúpricos tradicionales y los riesgos de fitotoxicidad asociados, surge la necesidad de validar alternativas biotecnológicas sostenibles. Bajo la hipótesis de que el uso coordinado de agentes biológicos permite una supresión drástica de los patógenos, se evaluó la eficacia en campo del producto comercial DuoForte NT dentro de un programa fitosanitario estándar. Duforte NT es una formulación innovadora que integra un cóctel sinérgico de bacteriófagos líticos y bacterias antagonistas del género *Bacillus velezensis*. Para ello, se emplearon huertos de la variedad ‘Chandler’ en la zona de Coihueco (Región de Ñuble-Chile), donde se recolectaron yemas aleatoriamente para cuantificar la carga de Xaj antes y después del tratamiento. El protocolo incluyó la maceración de tejidos y siembra en medio diferencial YDC para determinar el recuento de Xaj. Los resultados demostraron un óptimo desempeño del bioinsumo, logrando reducir la carga bacteriana de un estado inicial de 2,3e3 a 1,7e2

UFC/yema post-aplicación. Esta disminución representa una eficacia de control del 92,6%, evidenciando la capacidad de los fagos para realizar una lisis directa y efectiva de las poblaciones epífitas y endófitas. Más aún, se detectó cualitativamente una baja carga de hongos post-aplicación. Se concluye que DuoForte NT constituye una herramienta comercial robusta para el manejo integrado de huertos, ya que su modo de acción multiobjetivo no solo controla la peste negra del nogal, sino que establece una barrera biológica contra el complejo BAN, reduciendo la dependencia de pesticidas químicos y asegurando la sanidad del cultivo de manera sostenible.

[P-39] Evaluación de la capacidad lítica de fagos de *Klebsiella pneumoniae* sobre aislamientos resistentes a múltiples drogas y predicción computacional de la especificidad fago-bacteria

Biología Básica de fagos

Rey Asís, Sebastián[1], Gutiérrez Acevedo, María[1,2], Perbolianachis Duarte, Paula[1,2], Megrian, Daniela[3], Echeverría[1,2], Natalia

[1] *Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay*
[2] *Laboratorio de Evolución Experimental de Virus, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay*
[3] *Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay*

El uso de antibióticos fue crucial para el control de las infecciones, pero ha contribuido al desarrollo de organismos multirresistentes, impulsando así el uso de bacteriófagos como alternativa terapéutica.

En este estudio se analizó la actividad lítica de seis fagos de *K. pneumoniae* de la colección KlebPhaCol (Reino Unido) frente a 25 cepas clínicas locales multirresistentes, para identificar agentes de biocontrol frente a cepas circulantes en Uruguay. Mediante ensayos de spot test se determinó que Roth8 y Roth23 presentaron los rangos de hospedero (RH) más amplios, por lo que se les evaluó su estabilidad frente a distintos valores de pH y temperaturas. Ambos fagos resultaron estables a rangos de pH 5-11, y temperaturas 4°C- 42°C.

De las ocho cepas susceptibles, la cepa M1443, productora de carbapenemasa y fuertemente formadora de biofilms fue seleccionada para evaluar la capacidad de Roth23 de erradicar biofilms preformados a distintas concentraciones. Se observó una disminución significativa de la biomasa (≅30%) a la mayor concentración evaluada (8x107UFP/pocillo). Las curvas de infección evidenciaron un control temprano del crecimiento bacteriano, con inhibición completa a MOI 10, aunque con recrecimiento a las 4–5hs post-infección. En conjunto, Roth23 se perfila como un candidato prometedor para el biocontrol de la cepa M1443 de *K. pneumoniae*, pese a su origen geográfico distinto.

Considerando la existencia de datos genómicos y de RH de todos los fagos de la colección Klephacol, así como los datos de RH en cepas locales, nos encontramos desarrollando una herramienta computacional basada en aprendizaje automático que integra todos esos datos para predecir interacciones fago-bacteria. Este proyecto contribuirá a optimizar recursos experimentales y a acelerar el desarrollo de estrategias terapéuticas basadas en fagos.

[P-40] Caracterización genómica y evaluación del efecto antibiofilm de un bacteriófago jumbo sobre cepas STEC

Aplicaciones Biotecnológicas

Rodríguez, Victoria Antonella[1,2], Navarro, Nicolás[3], Jorge Cruz, Erlen[3], González, María José[3], Canales Huerta, Nicole[3], Scavone, Paola[3], Krüger, Alejandra[1,2], Lucchesi, Paula María Alejandra[2]

[1] *Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Núcleo CISAPA, Tandil, Buenos Aires, Argentina*
[2] *Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), UNCPBA-CICPBA-CONICET, Tandil, Buenos Aires, Argentina*
[2] *Laboratorio de Biofilms Microbianos, Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo, Uruguay*

Los *biofilms* bacterianos constituyen un problema persistente en la cadena agroalimentaria debido a su elevada tolerancia a sanitizantes y desinfectantes convencionales. Los bacteriófagos líticos y las enzimas polisacárido-depolimerasas (DPO) emergen como alternativas para el control de patógenos y sus *biofilms*. En estudios previos se aisló un bacteriófago infectivo para *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC) que produjo placas de lisis con halo, lo que sugiere la presencia de DPO.

El objetivo del presente trabajo fue identificar la DPO en el genoma de dicho bacteriófago y evaluar su capacidad para inhibir y erradicar *biofilms*. La identificación se realizó mediante análisis genómico utilizando plataformas bioinformáticas (RAST, Pharokka, PhageDPO y MOTIF Search) y modelado estructural con Phyre2. El efecto del bacteriófago se evaluó sobre *biofilms* de dos cepas STEC mediante ensayos de inhibición y erradicación, cuantificando la biomasa por cristal violeta y la viabilidad celular por resazurina.

El análisis genómico permitió clasificar al bacteriófago como tipo jumbo e identificar al ORF665 como posible codificante de una proteína tailspike con estructura β-helicoidal y alta similitud con colanidasas fágicas, con

potencial actividad sobre el ácido colánico de la matriz extracelular. El bacteriófago inhibió significativamente la formación de *biofilms* en ambas cepas (p ajustado = 0,0023). Si bien no se observaron reducciones significativas en la biomasa de *biofilms* maduros (p ajustado = 0,021), se detectó una disminución en la viabilidad celular (p ajustado = 0,0021), evidenciando actividad sobre bacterias embebidas en la matriz. Este bacteriófago jumbo presenta potencial como agente preventivo frente a la formación de *biofilms* de STEC y su caracterización genómica respalda la presencia de una DPO posiblemente asociada a la degradación de ácido colánico. Estos hallazgos son un importante aporte para el desarrollo de estrategias de biocontrol basadas en bacteriófagos y sus enzimas.

[P-41] Prophage profiles of *Staphylococcus aureus* linked to mastitis severity

Genómica, metagenómica e IA aplicada a fagos

Romao Bonsaglia, Erika Carolina[1], Lira, Daiane[2], Silva, Nathalia[3], Fernandes Junior, Ary[2], Veiga dos Santos, Marcos[1], Rall, Vera[2]

[1] *Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brasil*
[2] *Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, Brasil*
[3] *Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), São Paulo, Brasil*

Bovine mastitis caused by *Staphylococcus aureus* presents variable clinical outcomes that are influenced not only by host and environmental factors, but also by bacterial genome architecture. Prophages constitute a major component of the *S. aureus* mobilome and may contribute to virulence by shaping genome plasticity and carrying pathogenicity-associated genes. This study investigated whether differences in prophage composition and integrity are associated with the clinical severity of bovine mastitis. Fifteen *S. aureus* isolates from the Qualileite Laboratory collection (University of São Paulo, Pirassununga, Brazil) were analyzed, including isolates from subclinical, mild clinical, and moderate clinical mastitis (five isolates per group). Whole-genome sequencing was performed using Illumina paired-end technology, and prophage regions were identified and classified using PHASTER according to family and completeness. A total of 22 prophages belonging to the *Myoviridae* and *Siphoviridae* families were identified. Isolates associated with clinical mastitis exhibited a higher prophage load and shared a conserved set of prophages, several of which were classified as intact and carried the virulence-associated gene. In contrast, subclinical isolates displayed lower prophage abundance, reduced diversity, and distinct genetic profiles, characterized predominantly by questionable prophage elements. Notably, prophage integrity followed a pattern aligned with disease severity, with intact elements more frequently detected in clinical isolates. These findings indicate that prophage composition and functional integrity are not randomly distributed among *S. aureus* isolates, but rather reflect the clinical grade of mastitis. Conserved and intact prophages in clinical isolates suggest a contribution to virulence. Prophage profiling may therefore contribute to a better understanding of mastitis progression and support the identification of genomic markers relevant for disease control strategies.

[P-42] Phage-based vaccine confers partial protection against *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* in a murine model

Aplicaciones Biotecnológicas

Rumachella, Rodrigo[1], Jolly, A.[1], Fernández, B.[1,2,3], Postma, G.[4], Cicale, E.M.[5], Kim, A.[4], Colavecchia, S.C.[1], Greco, M.C.[5], Giménez, S.[5], Minatel, L.[4], Jar, A.M.[1], Mundo, S.I.[1,2,3]

[1] *Cátedra de Inmunología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina*
[2] *Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina*
[3] *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina*
[4] *Cátedra de Patología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina*
[5] *Bioterio Central, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina*

Bacteriophages are increasingly explored as vaccine platforms due to their stability, intrinsic immunogenicity, and capacity to display antigens. In mycobacterial diseases such as paratuberculosis (caused by *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*, MAP), the identification of protective antigens remains challenging. The use of antibody-selected phages allows the identification of immunogenic epitopes. The aim of this project was to evaluate a phage-based vaccine composed of bacteriophages and to compare its protective performance with that of a conventional inactivated MAP vaccine, in a murine challenge model. Three bacteriophages were selected from a commercial phage display library (#E8100S, New England Biolabs) by biopanning, using pooled sera from MAP-immunized cattle, and formulated as a vaccine containing a total of 1X1012 PFU. BALB/c mice (n=38) received two immunizations three weeks apart. Control groups included mice inoculated with PBS, a non-selected phage, or heat-inactivated MAP. Three weeks after the second immunization, mice were challenged intraperitoneally with either 10^8 or 10^9 CFU of a bovine MAP isolate and followed during 6–7 weeks (CICUAL #2024/26). Protection was assessed by histopathological scoring and quantification of viable MAP recovered from liver tissue. Mice that received the antibody-selected phage vaccine showed reduced hepatic bacterial burden and predominantly mild granulomatous lesions compared with animals vaccinated with inactivated MAP, which frequently developed moderate to severe lesions associated with high bacterial recovery. Mice receiving a non-selected phage showed heterogeneous outcomes: although hepatic MAP recovery was consistently lower than in mice vaccinated with selected phages,

histopathological scores were slightly higher when animals were challenged with the lower MAP dose (10^8 CFU). Taken together, our results would support the potential use of bacteriophages enriched by host-derived antibody recognition, for the development of targeted vaccines against paratuberculosis.

[P-43] Caracterización y determinación de la relevancia diagnóstica en paratuberculosis bovina subclínica de clones aislados mediante phage display

Aplicaciones Biotecnológicas

Rumachella, Rodrigo[1], Jolly, A.[1], Jar, A.M.[1], Colavecchia, S.C.[1], Paolicchi, F.A.[2,3], Mundo, S.I.[1,4,5], Fernández, B.[4,5]

[1] *Cátedra de Inmunología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina*
[2] *Laboratorio de Bacteriología, INTA EEA Balcarce, Balcarce, Argentina*
[3] *Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Argentina*
[4] *Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina*
[5] *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina*

La paratuberculosis es una enfermedad causada por *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (MAP), que afecta a rumiantes y genera grandes pérdidas económicas. El diagnóstico de los animales infectados subclínicos es dificultoso. El objetivo de este trabajo fue seleccionar mimotopes inmunodominantes con potencialidad diagnóstica mediante la

técnica de phage display a partir de una biblioteca de fagos comercial (#E8100S, New England Biolabs). La selección de epitopes se realizó por biopanning, mediante tres series consecutivas de una ronda de selección negativa seguida de una ronda de selección positiva. Se utilizaron anticuerpos purificados por cromatografía de afinidad a proteína G de un pool de sueros de bovinos controles sanos no infectados (selección negativa) o de sueros de bovinos infectados subclínicos (selección positiva). Se aislaron 72 clones, de los cuales se evaluaron los primeros 14 mediante ELISA, utilizando sueros de bovinos infectados con MAP con (n=2) o sin signología clínica (n=6) y sueros de bovinos no infectados (NI; n=6). El porcentaje de positividad (%P) se calculó como el cociente entre la densidad óptica (DO) de cada suero y la DO obtenida con un suero policlonal anti-fago previamente producido en nuestro laboratorio. El valor de corte (VC) se estableció para cada fago como el promedio de

los %P de los sueros NI más dos desvíos estándar. Con base en este criterio, se seleccionaron los clones p5, p6 y p12, que mostraron un %P por encima del VC en más de la mitad de los animales infectados con MAP. Se proyecta evaluar los fagos seleccionados utilizando un mayor número de sueros bovinos mediante ELISA, así como analizar su genoma mediante secuenciación, con el objetivo de identificar péptidos candidatos para el desarrollo futuro de una técnica serológica que permita el diagnóstico precoz de la paratuberculosis.

[P-44] Identificación de bacteriófagos líticos polivalentes con capacidad infectiva cruzada entre *Salmonella* spp. y *Escherichia coli*

Biología Básica de fagos

Sabag Matilla, Andrea[1,2], Muster, Cecilia[1,2], Gálvez, Matías[2], San Martin, Daniel[2], Torres, Alonso[2,3], Zabner, Marcela[2], Queirolo, Nicole[2], Castillo, Daniel[2], Infante, Claudia[2], Camejo, Pamela[2], González, Makarena[2], Curriñir, Mauro[2], Ulloa, Soledad[2], Cifuentes, Pablo[2], Pieringer, Hans[2]

[1] *Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile*
[2] *PhageLab, Santiago, Chile*
[3] *Universidad de Chile, Santiago, Chile*

Los bacteriófagos se han descrito clásicamente como agentes infecciosos altamente específicos, con un rango de hospedero restringido y una notable diversidad genética. No obstante, en la literatura se ha demostrado que la especificidad bacteriófago–hospedero no siempre es absoluta. En este contexto, la polivalencia de los fagos emerge como un fenómeno relevante, particularmente entre bacterias filogenéticamente relacionadas, como aquellas pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*. En PhageLab, se han aislado 19 bacteriófagos líticos polivalentes capaces de infectar distintos géneros de la familia *Enterobacteriaceae*. De estos, 3 fagos originalmente aislados a partir de *Escherichia coli* lograron infectar distintos serovares de *Salmonella*, mientras que 11 fagos provenientes de *Salmonella spp*. demostraron capacidad infectiva contra aislados de *E. coli*. Los bacteriófagos SAEN100P08 y SAEN098P11c se seleccionaron para una caracterización morfológica y genómica. Estos bacteriófagos se clasificaron dentro de las familias *Straboviridae* y *Demerecviridae*, respectivamente. El bacteriófago SAEN100P08, aislado desde *S*. Mikawasima y con capacidad infectiva contra los serovares Infantis, Anatum, Virchow y Mikawasima, infectó exitosamente 7 de 21 aislados de *E. coli*. Por su parte, el bacteriófago SAEN098P11c, proveniente de *S.* Virchow, infectó 11 de 21 aislados de *E. coli*, además de los serovares *S*. Mikawasima, Thompson, Virchow y Braenderup. Análisis genómicos orientados a la identificación de receptores bacterianos putativos, han identificado que la proteína de membrana BtuB (transportador de vitamina b12), sería un receptor candidato del bacteriófago SAEN098P11c que facilitaría la infección cruzada entre ambos géneros bacterianos. En conjunto, estos resultados destacan el potencial de los bacteriófagos polivalentes como una estrategia para ampliar el alcance de la fagoterapia frente a patógenos de relevancia en salud humana y animal.

[P-45] Comparing host-range specificity of dairy-derived *Staphylococcus aureus* phages from Chile and Brazil

Aplicaciones Biotecnológicas

Silva Santos, Daniel Lucino[1], Cirone Silva, Nathalia Cristina[1], Rivera Otero, Dacil[2], Parra, Boris[3], Verdugo, Sofía[4], Guzmán, Nicolás[5]

[1] *Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Brasil*
[2] *Núcleo de Investigación en One Health, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Universidad de Las Américas (UDLA), Chile*
[3] *Laboratorio de Microbiología y Parasitología Molecular, UDLA, Chile*
[4] *Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, UDLA, Chile*
[5] *Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV), Valparaíso, Chile*

Background: *S. aureus* is a major etiological agent of bovine mastitis and remains a priority target for alternative control strategies, including bacteriophage-based interventions. However, phage host-range specificity can vary across geographic regions and strain populations, potentially limiting cross-country applicability of candidate phages.

Objective: This study compared the lytic host-range of dairy-derived *S. aureus* phage candidates isolated in Chile and Brazil.

Methodology: Phage candidates were obtained by enrichment from milk samples collected from cows with clinical and subclinical mastitis. Samples comprised four pooled dairy-milk sets from Brazil, four pooled sets from central Chile, and two pooled sets from southern Chile. For each region, three *S. aureus* hosts were used for enrichment. Candidates were selected based on the presence of clean, consistent lysis plaques after three sequential passages on the best-performing host and were operationally classified as virus-like particles (VLPs). Host-range was assessed by spot test using the double-layer agar method. The Chilean panel included 10 dairy-derived *S. aureus* isolates, and the Brazilian panel included 10 *S. aureus* isolates. Lysis was scored as 0 (no lysis), 1 (intermediate lysis), or 2 (complete lysis).

Results: A total of 10 VLP candidates were obtained: six from Chile and four from Brazil. Brazilian VLPs produced intermediate lysis against 10% of Chilean isolates and intermediate lysis against 30% of Brazilian local isolates. Chilean VLPs showed lysis (intermediate and/or complete) against 60% of Chilean isolates. Notably, two Chilean VLPs produced intermediate-to-complete lysis against 30% of Brazilian isolates.

Conclusions: Dairy-derived *S. aureus* phage candidates displayed clear geographic patterns of host-range, with higher lytic activity against local strain panels, supporting the need for regionally tailored phage libraries for mastitis control. Nevertheless, the cross-activity observed for two Chilean VLPs against Brazilian isolates suggests that a subset of candidates may have broader applicability, motivating further characterization to emphasized text biocontrol development.

[P-46] Phage cocktail development and antibiotic synergy for the control of avian pathogenic *Escherichia coli* in poultry production

Aplicaciones Biotecnológicas

Tobar Calfucoy, Eduardo[1], Aguilera, Matías[2], Camejo, Pamela[2], Cifuentes, Pablo[2], Mujica, Karen[2], Müller Fernandes, Ana Paula[2], Norambuena, Rodrigo[2], Pieringer, Hans[2], Pino, Michael[2], Rojas, Felipe[2], Rojas Martínez, Victoria[2], Sabag, Andrea[2], San Martin, Daniel[2], Ulloa, Soledad[2], Zabner, Marcela[2]

[1] *Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile*
[2] *PhageLab, Santiago, Chile*

Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) is a widespread pathogen that causes colibacillosis in poultry, resulting in high mortality, significant economic impact. APEC control with antibiotics increases the prevalence of multidrug-resistant strains. Bacteriophage-based cocktails are emerging as promising alternatives to antibiotics for controlling APEC under commercial farm conditions. In this study, we isolated and sequenced 142 APEC strains from Brazilian broiler farms, as well as 66 lytic bacteriophages. Eight phages with complementary host ranges were selected to assemble a four-phage cocktail, and these phages were sequenced and characterized. Quantitative *in vitro* assays demonstrated that the phage cocktail inhibited 56.3% of the isolates, with higher activity against high-risk APEC. Additionally, the formulated cocktail was also tested in combination with two commonly used antibiotics in farms. The phage cocktail exhibited additive effects with trimethoprim-sulfadimidine, while synergistic effects with florfenicol. These results highlight the potential of phage cocktails designed for high specificity and antibiotic compatibility as effective tools to control APEC in commercial poultry production, supporting their future application under farm conditions.

[P-47] Population dynamics of excised prophages in a phage training coevolution experiment

Biología Básica de fagos

Uceda Campos, Guillermo[1], Farage Martins, Layla[1], Mendes de Oliveira, Ana Beatriz[1], Setubal, João Carlos[1], De Lima Cardoso, Guilherme Wenceslau[1]

[1] *Instituto de Química, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brasil*

Bacteria and bacteriophages (phages) undergo continuous coevolution, driving phage genetic diversification. This coevolution allows *in vitro* phage training approaches aimed at selecting therapeutically relevant phages with expanded host ranges. Although interactions between lytic phages and their bacterial hosts during phage training have been described in several studies, the participation of viral elements integrated into bacterial genomes (prophages) in shaping phage-bacteria dynamics is comparatively understudied. In this study, we investigated the population dynamics of prophages excised from clinical bacterial strains during an Appelmans coevolution experiment, and compared their resulting genome sequences with those of related, publicly available phages. Initial conditions for this experiment were ten *Pseudomonas aeruginosa* strains and a three-phage cocktail. Six samples were collected over a 30-day period. DNA was extracted and sequenced. In addition, two phage genomes (ph_IMP16E and ph_1136E) isolated at the end of the experiment were also sequenced. Our results revealed the persistent dominance of a complete prophage genome identified as Iggyvirus sp., which was detected at high abundance in all samples. A second genome corresponding to the excised prophage ph_IMP16E, classified as Hollowayvirus sp., was abundant mainly during the early rounds of the experiment. In contrast, phage ph_1136E, classified as Pbunavirus sp., emerged as a highly abundant population exclusively on day 30, suggesting late emergence. The three lytic phages included in the initial cocktail were detected only at low abundance and primarily during the early stages of the experiment. Together, these findings demonstrate that prophages can actively excise, proliferate, and dominate phage populations during coevolution experiments. This highlights an overlooked role of prophages in phage-bacteria coevolution, with important implications for experimental evolution studies and phage therapy strategies.

[P-48] Isolation and characterization of lytic phages against reference and multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*.

Biología Básica de fagos

Reyes, Claudia[1,2], **Vásquez Ramírez, Cruz Esther**[3], Clase, Meg[1], Peña, Yohanna[1], Petit, Henry[1], Ramos, Rommel[2]

[1] *Universidad Tecnológica de Santiago (UTESA), Santiago de los Caballeros, República Dominicana*

[2] *Universidad Federal de Pará (UFPA), Belém, Brasil*

[3] *Universidad Autónoma de Santo Domingo, Santo Domingo, República Dominicana*

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic pathogen responsible for a significant proportion of healthcare-associated infections, and its growing resistance to antibiotics has made treatment and infection control increasingly challenging. This threat has intensified the search for alternative therapeutic strategies, among which phage therapy has re-emerged as a promising approach, with documented success in difficult-to-treat infections, such as chronic otitis caused by multidrug-resistant *P. aeruginosa* strains. In this study, lytic bacteriophages against *P. aeruginosa* ATCC 27853 and a pan-resistant clinical isolate were isolated and characterized. The clinical isolate showed resistance to aminoglycosides, third- and fourth-generation cephalosporins, combinations of β-lactams/β-lactamase inhibitors (piperacillin/tazobactam and ceftolozane/tazobactam), fluoroquinolones, and carbapenems. Environmental samples from rivers, streams, and lakes were processed using double-layer agar plaque assays with selective media for *Pseudomonas to* detect lytic activity. Viral isolates were concentrated, purified, and filtered from lysis plaques over five consecutive days to ensure homogeneous preparations. Eight phages showed lytic activity against strain ATCC 27853, and four maintained lytic activity against the pan-resistant clinical isolate. Genomic analysis of the active phages included genome assembly, annotation, and comparative analysis to identify gene content, predict lifestyle, and detect potential virulence or antibiotic resistance genes. These analyses supported the classification of the isolates as strictly lytic phages, suitable for therapeutic development.