

INFORME ANUAL DE ACTIVIDADES

ANALÍA INÉS ETCHEVERRÍA

***PERSONAL DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN
Y DESARROLLO.
CATEGORÍA PROFESIONAL PRINCIPAL.***

***COMISIÓN DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES.***

PERIODO: agosto 2011/agosto 2012

Tandil, 30 de agosto de 2012.

Sr. Presidente de la Comisión de
Investigaciones Científicas de la
Provincia de Buenos Aires

Mg. Alberto Briozzo

S _____ / _____ D

De mi mayor consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a Ud para informarle que junto a la presente le envío el INFORME ANUAL DE ACTIVIDADES correspondiente al período agosto 2011 / agosto 2012 en calidad de miembro de la Carrera de Personal de Apoyo con categoría Profesional Asistente otorgado por la C.I.C. el 25 de noviembre de 1998, resolución nº 2756-619/98, decreto nº 4419-98, actualmente Categoría Profesional Principal (Decreto Nº 2016 fecha 14/09/05, actualmente derogado y reemplazado por la Ley Provincial Nº 13487, Recategorización: Categoría otorgada Profesional Principal 04/042011 Acta 1345. Decreto Nº 3623 de 2011.

Adjunto al informe le envío la nota de mi director, Dr. Alberto E. Parma, copia de los trabajos publicados, copia de los resúmenes en revistas de Congresos y *currículum vitae*.

Sin otro particular le saludo atte.

Dra Analía Inés Etcheverría.
D.N.I.: 18.440.187.
Personal de Apoyo Profesional Principal (CIC).
Facultad de Ciencias Veterinarias.
UNCPBA



provincia de buenos aires
comisión de
investigaciones científicas
Calle 526 e/ 10 y 11 1900 La Plata
Tel. Fax: (0221) 421 7374 / 6205 int.143
D.E.: perapoyo@cic.gba.gov.ar

**PERSONAL DE APOYO A LA
INVESTIGACION Y DESARROLLO**

INFORME PERIODO 2011-2012

1. APELLIDO: ETCHEVERRÍA

Nombre(s): **ANALÍA INÉS**

Título(s): Médico Veterinario. Dr en Ciencia Animal

Dirección Electrónica: analiain@vet.unicen.edu.ar

2. OTROS DATOS

INGRESO: Categoría Profesional Asistente Mes: Noviembre

Año 1998

ACTUAL: Categoría. Profesional Principal Mes: diciembre

Año 2011

3. PROYECTOS DE INVESTIGACION EN LOS CUALES COLABORA

a) *Escherichia coli* verocitotoxigénico.

b) Detección y caracterización molecular de bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos en la cadena productiva porcina.

c) Caracterización geno-fenotípica de *Escherichia coli* verocitotoxigénico (VTEC) y su persistencia en medio ambiente de tambo.

d) Determinar la presencia de *Escherichia coli* genérica en cerdos en distintas etapas de producción y en el medio ambiente del criadero.

4. DIRECTOR

Apellido y Nombre (s): PARMA, Alberto Ernesto

Cargo Institución: Profesor Titular, cat."I" SPU. FCV. UNCPBA.

Dirección: Calle Paraje Arroyo seco s/nº

Ciudad: Tandil

C. P. 7000 Prov. Bs As Tel. 0249-4439850

Dirección Electrónica: aparma@vet.unicen.edu.ar

5. LUGAR DE TRABAJO

Institución: Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología. Facultad de Ciencias Veterinarias

Dependencia: UNCPBA

Dirección: Calle: Paraje Arroyo seco s/nº

Ciudad: Tandil C. P.:7000 Prov.: Bs AS .

Tel: 0249-4439850

6. INSTITUCION DONDE DESARROLLA TAREAS DOCENTES U OTRAS

Nombre: Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología. Facultad de Ciencias Veterinarias

Dependencia: UNCPBA

Dirección: Calle: Paraje Arroyo seco s/nº

Ciudad: Tandil .C. P.: 7000 Prov.: Bs As Tel.: 0249-4439850

Cargo que ocupa: Profesor Adjunto

7. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO

7.1. Objetivos

- ◆ Detección de *Escherichia coli* verocitotoxigénico (VTEC) y *Salmonella* spp en muestras de planta procesadora de porcinos.
- ◆ Detección de *Escherichia coli* genérica en porcinos de diferentes edades y en el criadero.
- ◆ Detección de genes de resistencia a antibióticos en cepas de *Escherichia coli* genérica de origen porcino.
- ◆ Estudio de la diversidad y relación genética entre cepas del medioambiente y animales de tambo.

7.2. Actividades desarrolladas

- ◆ Detectar la presencia de VTEC y *Salmonella* spp mediante PCR en muestras obtenidas de sala de desposte y sala de elaboración de productos de carne porcina.
- ◆ Detectar la presencia de *Escherichia coli* genérica en muestras de materia fecal de porcinos de distintas edades y en muestras del medio ambiente de un criadero porcino.
- ◆ Determinar por PCR genes de integrones en *Escherichia coli* genérica aisladas de porcinos de diferentes edades.
- ◆ Evaluar la diversidad y relación genética de cepas aisladas de animales y de medioambiente de tambo mediante análisis de MLVA.

7.3. Técnicas empleadas

◆ Determinar la presencia de VTEC y *Salmonella* spp mediante PCR en muestras de instalaciones, medias reses y carne en una planta procesadora de carne porcina.

Se tomaron muestras mediante hisopado a instalaciones (mesadas, sierra sinfín, máquina picadora, amasadora y embutidora), medias reses, carne picada y cortes de carne despostada. Las muestras fueron tomadas según el Reglamento (CE) N° 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios (Diario Oficial de la Unión Europea L 338/1).

-VTEC

Los hisopos se sembraron en agua de peptona y se incubaron en agitación por 18 h a 37 °C. Con ese enriquecimiento se sembraron placas de agar MacConkey (37 °C, 18 h) para obtener colonias aisladas. Se hicieron “pooles” de 5 colonias cada uno a los que se les realizó una PCR para detectar los genes *vt1* y *vt2* característicos de VTEC. De los “pooles” positivos se tomaron las colonias individualmente y se cultivaron en caldo LB durante 18 h a 37 °C en agitación. De cada cultivo, se hirvieron 10 µl en 500 µl de agua bidestilada para obtener el ADN para realizar las reacciones de PCR. A cada colonia se le realizó PCR multiplex para detectar los genes: *vt1*, *vt2*, *vt2e*, *eae*, *ehxA* y *saa*.

-*Salmonella* spp.

Los hisopos se sembraron en agua de peptona (37 °C, 24 h). Luego se realizó un enriquecimiento selectivo sembrando una alícuota en caldo tetratonato (37 °C, 24 h) y otra en caldo RV (42 °C, 24 h). Luego, a partir de los enriquecimientos selectivos se sembraron placas de agar Henktoin (37 °C, 24 h) de las que se tomaron 2 o 3 colonias presuntivas de *Salmonella*. Estas colonias se sembraron en agar TSI (Triple azúcar hierro) y LIA (Lisina hierro) para identificación bioquímica, y en agar TSA para obtener colonias individuales a las que se les realizó PCR monoplex con

“primers” específicos para detectar el gen *invA* que codifica para una proteína del sistema de secreción de tipo III, característico de *Salmonella* spp.

En todos los casos los productos de amplificación se analizaron por electroforesis en geles de agarosa con bromuro de etidio.

Las colonias individuales positivas se conservaron a -70 °C con glicerol para caracterizaciones posteriores.

◆Detectar la presencia de *Escherichia coli* genérica en muestras de materia fecal de porcinos de distintas edades y en muestras de medio ambiente de un criadero porcino.

Se tomaron muestras de materia fecal fresca e hisopados rectales a madres recién paridas y a 5 lechones de cada camada. Se tomaron también muestras de las fosas de agua de acuerdo a las indicaciones establecidas en el Manual para análisis básicos de calidad del agua de bebida de la Organización Mundial de la Salud (2004).

Las muestras obtenidas se cultivaron en placas de agar MacConkey (37 °C, 18h). Por cada muestra, se tomaron 5 colonias presuntivas de *E. coli* y se procedió a la identificación mediante una reacción de PCR que permite amplificar el gen de la proteína universal de estrés (*uspA*), permitiendo diferenciar *E. coli* genérica de otras bacterias Gram (-).

En cada cepa de *E. coli* aislada se realizó PCR múltiplex para descartar la presencia de genes *vt1*, *vt2*, *eae*, *saa*, *ehxA* (característicos de *Escherichia coli* verocitotoxigénico y de *E. coli* enteropatogénico) y PCR monoplex para detectar *lt*, *sta* y *stb* (característicos de *E. coli* enterotoxigénico). Estos patógenos son los más comúnmente encontrados en animales y su ausencia es indicativa de *E. coli* genérica.

◆Determinar por PCR genes de resistencia a antibióticos en *Escherichia coli* genéricas aisladas de porcinos de diferentes edades y del medioambiente de un criadero.

Se ha postulado que la multirresistencia bacteriana se debería a la disseminación y adquisición de integrones que son elementos dinámicos que contienen los determinantes genéticos de los componentes de un sistema de recombinación específica de sitio que reconoce y captura genes de resistencia antibacteriana. Para evaluar la presencia de integrones en *E. coli* genéricas obtenidas de cerdas y lechones y del medioambiente (agua de fosas y laguna) de un criadero porcino se utilizó una reacción de PCR monoplex con “primers” específicos para detectar los genes de los integrones de clase 1 (*int1*), clase 2 (*int2*). Las cepas se cultivaron en caldo LB (18 h, 37 °C en agitación), una alícuota del cultivo de enriquecimiento se procesó para la obtención del ADN para realizar las reacciones de PCR. Los productos de amplificación se analizaron mediante electroforesis en geles de agarosa.

◆Evaluar la diversidad y relación genética de cepas aisladas de animales y de medioambiente de tambo mediante análisis de MLVA

Se trabajó con aislamientos del medioambiente del tambo (suelo, bebederos y comederos del ambiente de terneros recién nacidos, terneros de recría y vacas en ordeño) que tuviesen serotipos compartidos con cepas aisladas de animales de tambo.

La diversidad genética se analizó empleado la técnica de MLVA (multilocus de número variable de repeticiones en tándem).

Se amplificaron por PCR 7 loci VNTR genéricos para *E. coli* y *Shigella* spp: CVN001, CVN002, CVN003, CVN004, CVN007, CVN014 y CVN015. Cinco de los loci estudiados fueron amplificados en dos reacciones multiplex (MLVA1: CVN007, CVN014 y CVN015; MLVA2: CVN001 y CVN004), y los dos restantes, en reacciones monoplex (CVN002 y CVN003).

Los productos de la amplificación se analizaron mediante electroforesis en geles desnaturizantes de poliacrilamida 6%, con una corrida a 45 watts de potencia y con tensión y corriente variables.

8. OTRAS ACTIVIDADES

8.1. PUBLICACIONES, COMUNICACIONES

8.1.1. Publicaciones de artículos científicos

- 2011** Etcheverría, A.I.; Arroyo, G.H.; Alzola, R. and Parma A.E. "Reduction of adherence of *E. coli*O157:H7 to HeP-2 cells and to bovine large intestinal mucosal explants by colicinogenic-*E. coli*". International Scholarly Research Network Microbiology (ISRN Microbiology) ISSN: 2090-7486 (Online)
doi:10.5402/MICROBIOLOGY Article ID697020, 5 pages doi:10.5402/2011/697020
- 2012** Polifroni, R.; Etcheverría, A.I.; Sanz M.E.; Cepeda, R.E.; Krüger, A.; Lucchesi P.M.A.; Fernández, D.; Parma, A.E. and Padola, N.L. "Molecular characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from the environment of a dairy farm". Current Microbiol. 65, 337-343.
DOI 10.1007/s00284-012-0161-0. Disponible on line <http://www.springerlink.com/openurl.asp?genre=article&id=doi:10.1007/s00284-012-0161-0>
ISSN 0343-8651.

8.1.2. Publicaciones de Libros, capítulos de libros

- 2011** Parma AE, Giampertetti S, Lucchesi PMA, Etcheverría AI, Seijo AC. Detección de *Leptospira* por PCR en distintas muestras biológicas. Cap 61, pp 188-190. En: Manual de Biología Molecular (Merino L.A. Ed.) UNNE.

8.1.3. Comunicaciones a Congresos

- 2011** *I Congreso Internacional de Zoonosis y Enfermedades Emergentes. VII Congreso Argentino de Zoonosis.
Ciudad de Buenos Aires, 8-10 de junio
- R. Polifroni; D. Fernández; R. Colello; A.E. Parma; A.I. Etcheverría; N.L. Padola.
Caracterización feno-genotípica de cepas VTEC aisladas del medioambiente de tambos de Argentina.
Pág. 190 del libro de resúmenes del Congreso.
- *7º Jornadas Internacionales de Veterinaria Práctica
Sheraton Hotel - Mar del Plata, 2-3 de septiembre.
- Colello, Rocío; Alonso, Mónica; Etcheverría, Analía; Padola, Nora; Parma, Alberto.
Detección de integrones en cepas VTEC provenientes de hamburguesas de pollos de la Prov. de Buenos Aires.
- Alonso, Mónica; Colello, Rocío; Etcheverría, Analía; Zárate, Juan; López, Alejandro; Padola, Nora; Parma, Alberto.
Detección de genes de VTEC en muestras de carne provenientes de la ciudad de Nogoyá, Entre Ríos, Argentina.
Este trabajo recibió una mención en el Área Microbiología.
- Fernández, Daniel; Sanz, Marcelo; Etcheverría, Analía; Parma, Alberto, Padola, Nora Lía
Detección de genes de adherencia *efa1* e *iha* en *Escherichia coli* verocitotoxigénica de origen bovino y de alimentos

-Polifroni, Rosana; Fernández, Daniel; Krüger, Alejandra; Parma, Alberto E.; Etcheverría, Analía I. y Padola, Nora L

Variantes del gen que codifica para la verotoxina tipo 2 en cepas de *Escherichia coli* aisladas de medioambiente y animales de tambo

Envío copia de los resúmenes enviados y aceptados. Están disponibles en la página del Colegio Veterinario de la Pcia de Bs As pero no se puede acceder.

2012 * 8th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) producing *Escherichia coli* infections. Amsterdam, 6-9 de may

-N.L.Padola, A.I. Etcheverría, P.M.A. Lucchesi, A. Krüger, M.E. Sanz, D. Fernández, M.Z. Alonso, R. Polifroni, G.H. Arroyo, A.E. Parma.

Prevalent STEC serotypes isolated from cattle, foods and environment in Argentina.

Pág. 204 libro de abstracts del simposio

-R. Colello, F. Moredo, A. Etcheverría, G Leotta, A. Parma, N.L. Padola.

Detection of integrons class 1 and class 2 in VTEC strains isolated from pigs.

Pág. 147 libro de abstracts del simposio

-P.M.A. Lucchesi, A. Krüger, N.L.Padola, A.I. Etcheverría, M.E. Sanz, D. Fernández, M.Z. Alonso, R. Polifroni, G.H. Arroyo, A.E. Parma.

Differences in virulence genes frequency among VTEC isolates from cattle, foods and environment.

Pág. 190 libro de abstracts del simposio

9. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.

9.1. Docencia de Grado

2012- Curso: Inmunología Básica: (2º año de la carrera de Veterinaria).

Duración cuatrimestral.

Cronograma de actividades:

Clases: 9

Talleres: 2

Trabajos Prácticos: 5 (4 comisiones de 1:30 h cada una).

Participé en la preparación y desarrollo de los talleres y en el dictado de la clase: *Introducción al sistema inmunitario. Células de la inmunidad innata”. Participé en la preparación y dictado de un taller y de los 5 trabajos prácticos y en la preparación, toma y corrección de exámenes parciales y finales.

- Curso: Inmunología Especial: (4º año de la carrera de Veterinaria).

Duración bimestral.

Cronograma de actividades.

Clases: 6

Talleres: 2.

Teórico Práctico: 1

Trabajo de Simulación de casos.

Participé en la preparación y dictado de las clases: *Hipersensibilidad tipo II y tipo III”, “Tumores e injertos” y “Transferencia pasiva de la inmunidad materno filial”. Participé en preparación y evaluación de los 2 talleres y en la preparación, toma y corrección de exámenes parciales y finales.

10. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES

10.1 Dirección o Codirección de Tesis y Tesinas de Grado

10.1.1. Tesinas

- 2011** Directora de la tesina de grado de la Carrera de Medicina Veterinaria de la alumna Angie Caprarulo. Orientación Producción animal: Producción Equina.
Tema: Isoeritrolisis neonatal.
Presentación oral: 12/12/11
- 2012** Directora de la tesina de grado de la Carrera de Medicina Veterinaria del alumno Federico Conde. Orientación Producción animal: Producción Equina.
Tema: Isoeritrolisis neonatal.
En ejecución

10.2. Dirección o Codirección de Becas

- 2011** Co-Director Beca Doctoral tipo I CONICET de Lic Rocío Colello
Tema: Detección y caracterización molecular de bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos en la cadena productiva porcina. Inicio: 1/04/2011.
- Co-Director Beca Doctoral tipo I CONICET de Lic María Inés Palacio.
Tema: Evaluación de propiedades prebióticas de alfa-galactósidos obtenidos de materiales vegetales y su potencial uso en la elaboración de alimentos funcionales. Inicio: 1/04/2011.

10.3. Dirección o Codirección de Tesis de Posgrado

- 2011** Directora de la Tesis Doctoral de la Lic Rocío Colello
Tema: Detección y caracterización molecular de bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos en la cadena productiva porcina.
Primer seminario rendido 1/8/2012.
En ejecución

10.4. Evaluador de Tesis de grado

- 2012** Evaluador interno de la Tesis de grado de la alumna María Virginia Rodríguez Coronel
Licenciatura en Tecnología de los Alimentos.
Tema: Detección de fagos *E. coli* verotoxigénico (VTEC) aisladas de alimentos cárnicos.
Presentación oral: 24/05/2012.

11. Conferencias, disertaciones, clases especiales

- 2011** Curso de formación Especializada para Veterinarios en Salud Animal y Salud Pública Veterinaria.
Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA-SENASA.
Tandil 20 de octubre 2011.
Disertante: "Síndrome Urémico Hemolítico".

2012 5º Congreso Argentino de Nefrología Pediátrica. 3º Jornadas de Enfermería y de Técnicos en Nefrología Pediátrica.

Disertante: Situación y control de *Escherichia coli* verocitotoxigénico (VTEC) en bovinos. Uso de probióticos.

Ciudad de Buenos Aires, 21, 22 y 23 de junio.

12. ÍNDICE

Presentación	1
Nota al Presidente de la CIC-PBA.	2
1. Apellido, nombres, título	3
2. Ingreso: categoría, mes, año.	3
Actual: categoría, mes, año.	3
3. Proyectos de investigación en los cuales colabora.	3
4. Director: Apellido y nombres, cargo que ocupa, dirección	4
5. Lugar de Trabajo	4
6. Institución donde desarrolla la tarea docente u otras	4
7. Exposición sintética de la labor desarrollada en el período	5
7.1. Objetivos	5
7.2. Actividades desarrolladas en investigación	5
7.3. Técnicas empleadas	5-6
8. Otras actividades	7
8.1. Publicaciones, comunicaciones	7
8.1.1. Publicaciones de artículos científicos	7
8.1.2. Publicaciones de Libros, capítulos de libros	7
8.1.3. Comunicaciones a congresos	7-8
9. Tareas docentes desarrolladas en el período	8
9.1. Docencia de Grado	8
10. Otros elementos de juicio no contemplados en los títulos anteriores	9
10.1. Dirección o Codirección de Tesis y Tesinas de Grado	9
10.1.1. Tesinas	9
10.2. Dirección, Co Dirección de Becas	9
10.3. Dirección o Codirección de Tesis de Posgrado	9
10.4. Evaluador de Tesis de grado	9
11. Conferencias, disertaciones, clases especiales	9-10
12. Índice	11