

INFORME CIENTIFICO DE BECA

Legajo N°:

BECA DE estudio **PERIODO** 1/4/15 al 31/3/16

1. APELLIDO: ORTIZ

NOMBRES: Xoana Pamela

Dirección Particular: Calle: *N°:*

Localidad: San Miguel *CP:* 1663 *Tel:*

Dirección electrónica (donde desea recibir información): xoanaortiz@hotmail.com

2. TEMA DE INVESTIGACIÓN (Debe adjuntarse copia del plan de actividades presentado con la solicitud de Beca)

“Estudio de un bacteriófago lítico para el biocontrol de Salmonella Gallinarum en aves de postura”

3. OTROS DATOS (Completar lo que corresponda)

BECA DE ESTUDIO: 1º AÑO: *Fecha de iniciación:* 1/4/14

2º AÑO: *Fecha de iniciación:* 1/4/15

BECA DE PERFECCIONAMIENTO: 1º AÑO: *Fecha de iniciación:*

2º AÑO: *Fecha de iniciación:*

4. INSTITUCIÓN DONDE DESARROLLA LOS TRABAJOS

Universidad y/o Centro: Universidad Nacional de Luján

Facultad:

Departamento: Ciencias Básicas

Cátedra:

Otros:

Dirección: Calle: : Avenida Constitución y Ruta 5 *N°:*

Localidad: Luján *CP:* 6700 *Tel:* :+54(02323)4239

5. DIRECTOR DE BECA

Apellido y Nombres: Barrios Hebe Alicia

Dirección Particular: Calle: *N°:*

Localidad: Lujánb *CP:* 6.700 *Tel:*

Dirección electrónica: barrioshebe@gmail.com

6. EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO. (Debe exponerse la orientación impuesta a los trabajos, técnicas empleadas, métodos, etc., y dificultades encontradas en el desarrollo de los mismos, en el plano científico y material).

* Determinación del tamaño del fago:

Luego de la extracción del genoma viral por una metodología estándar y la corrida electroforética del mismo junto a un marcador de peso molecular, se determinó que el tamaño del genoma es mayor a las 10 Kpb.

*Estudio de la actividad lítica del fago en superficies:

Se utilizó el bacteriófago para determinar su actividad lítica frente a superficies contaminadas experimentalmente con una cepa bacteriana de un cultivo de Salmonella Gallinarum (SG) de campo.

Se experimentó sobre 6 superficies diferentes, privilegiando las que se encuentran en contacto con las aves, hechas de materiales de polipropileno, PVC, cinc, polietileno de baja densidad y telas revestidas de PVC.

El estudio se dividió en 6 ensayos, donde cada ensayo correspondió a distintas superficies:

- Ensayo 1: 10 pequeños rectángulos de cinc de comederos;
- Ensayo 2: 10 contenedores de plástico de bebederos;
- Ensayo 3: 10 bases plásticas de polipropileno de jaulas;
- Ensayo 4: 10 trozos de cinta recolectora de tela;
- Ensayo 5: 10 trozos de rejillas metálicas de jaulas;
- Ensayo 6: 10 tubos de polipropileno para la circulación del agua.

Antes de comenzar las pruebas se verificó la ausencia de SG en cada una de las superficies. Posteriormente, los diferentes materiales se sumergieron en un recipiente que contenía un cultivo overnight de SG, se secaron en flujo laminar y se incubaron 60 minutos a 37°C. A la hora, se determinó la cantidad de unidades formadoras de colonia por ml (UFC/ml) de SG. Luego, cada ensayo se dividió en dos tratamientos:

- Tratamiento 1: 5 materiales fueron rociados con 1×10^9 unidades formadoras de placa por ml (UFP/ml) de fago,
- Tratamiento 2: 5 materiales fueron rociados con solución fisiológica (SF).

Después de recibir el respectivo tratamiento, las superficies se incubaron a 37°C durante 3 horas. Luego, con un hisopo, se tomaron muestras de las superficies de cada uno de los ensayos con sus distintos tratamientos y fueron colocados en frascos que contenían 150 ml de agua peptona (AP), incubando a 37°C durante 24 horas, para continuar con la técnica correspondiente de aislamiento de Salmonella posterior a este pre-enriquecimiento en AP. Se sembró 0,1 ml del anterior en 10 ml de caldo Rapaport –Vassiliadis para incubarlos por 24 ± 1 h a 42°C; luego dependiendo del crecimiento en cada tubo se procedió a hacer diluciones, para luego sembrar 0,1 ml en placas con un medio selectivo y diferencial: agar XLD.

La determinación de la presencia de los fagos en aquellas superficies rociadas con el mismo, se realizó mediante la técnica de doble capa: Se tomaron 0.1 ml de cada uno de los frascos que contenían los hisopos pasados por las superficies rociadas con el fago, cada uno se introdujeron en tubos de ensayo, en los cuales previamente se colocaron 0.5 ml de cultivo de SG (el cual previamente había crecido durante 24 horas en caldo nutritivo) y 2.5 ml de agar nutritivo semisólido. Esta mezcla se agitó y se volcó inmediatamente sobre placas de Petri que contenían agar nutritivo. Al solidificarse la capa de agar nutritivo semisólido se incubó en estufa a 37°C, para contar el número de calvas que formadas.

Los datos se analizaron estadísticamente mediante una prueba de hipótesis utilizando el estadístico t.

En todas las superficies ensayadas se constató ausencia de SG (controles). Luego de la contaminación con SG durante 60 minutos, las superficies mostraron altos recuentos de la enterobacteria (entre 2×10^5 y $2,55 \times 10^7$ UFC/ml)

Los resultados obtenidos demostraron que en aquellas superficies que recibieron el Tratamiento 1 se observa una marcada disminución de la carga bacteriana con respecto a las que recibieron el Tratamiento 2. Además, mediante una prueba de hipótesis utilizando el estadístico t, se comprobó que existe una diferencia significativa entre los tratamientos con un nivel de confianza del 95%.

*Evaluar la eficacia de la administración del fago lítico en aves de postura:

Aun queda por iniciar la evaluación del comportamiento del fago en presencia de antibióticos (ATB) y la vacuna 9R, en gallinas de postura infectadas experimentalmente con SG, a través del aislamiento y recuento de la enterobacteria en el tracto digestivo y órganos reproductivos.

Las pollitas Hyline de 6 a 9 semanas de edad recibirán los siguientes tratamientos

Tratamiento 1: aves controles

Tratamiento 2: aves infectadas con SG

Tratamiento 3: aves infectadas con SG y fago

Tratamiento 4: aves infectadas con SG y ATB

Tratamiento 5: aves infectadas con SG, ATB y fago

Tratamiento 6: aves infectadas con SG y vacunada con 9R

Tratamiento 7: aves infectadas con SG, vacunadas con 9R y fago

Tratamiento 8: aves infectadas con SG, vacunadas con 9R y ATB

Los animales infectados con SG, en los tratamientos que correspondan recibirán por vía i.m, a las dos horas posinfección (p.i), fago, ATB y 9R.

A los 11 días pi. Las aves serán sacrificadas y se les extraerá los siguientes órganos: hígado, intestino, ciego y ovario, a los que se les realizará el correspondiente análisis bacteriológico. Finalmente, evaluar estadísticamente los datos registrados.

7. TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN REALIZADOS O PUBLICADOS EN EL PERIODO.

7.1. PUBLICACIONES. Debe hacerse referencia, exclusivamente a aquellas publicaciones en la cual se halla hecho explícita mención de su calidad de Becario de la CIC. (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha aclaración no debe ser adjuntada. Indicar el nombre de los autores de cada trabajo, en el mismo orden que aparecen en la publicación, informe o memoria técnica, donde fue publicado, volumen, página y año si corresponde; asignándole a cada uno un número. En cada trabajo que el investigador presente -si lo considerase de importancia- agregará una nota justificando el mismo y su grado de participación.

7.2. PUBLICACIONES EN PRENSA. (Aceptados para su publicación. Acompañar copia de cada uno de los trabajos y comprobante de aceptación, indicando lugar a que ha sido remitido. Ver punto 7.1.)

7.3. PUBLICACIONES ENVIADAS Y AUN NO ACEPTADAS PARA SU PUBLICACIÓN.

(Adjuntar copia de cada uno de los trabajos. Ver punto 7.1.)

7.4. PUBLICACIONES TERMINADAS Y AUN NO ENVIADAS PARA SU PUBLICACIÓN.

(Adjuntar resúmenes de no más de 200 palabras)

* Evaluación de diferentes vías de administración de un fago lítico en gallinas comerciales infectadas experimentalmente con Salmonella Gallinarum

Resumen

Una de las principales enfermedades que afecta a las aves de postura es la Tifosis Aviar (TA), causada por Salmonella entérica subespecie entérica serovar Gallinarum biotipo Gallinarum (SG). Este patógeno se transmite rápidamente mediante el contagio horizontal, mientras que la transmisión vertical cumple un papel significativo en la epidemiología de la TA. Existen diferentes medidas para controlar la contaminación de SG en avicultura, como bioseguridad, vacunación y productos antimicrobianos. Los medicamentos profilácticos y terapéuticos más utilizados son los antibióticos, pero su uso está restringido por la aparición de cepas resistentes y sus consecuencias en salud pública. En este sentido, los bacteriófagos líticos han mostrado un uso potencial como biocontroladores de SG en aves. Se evaluó la eficiencia de un bacteriófago lítico específico, administrado por vía oral durante una semana y por vía intramuscular (im) con una y dos dosis, en pollitas de recría con desafío de SG. La aplicación de bacteriófagos redujo la infección y la colonización de SG en órganos (ovario y oviducto, hígado, ciego e intestino); permitiendo un normal desarrollo de las aves. Con dos dosis de fago im se logró una mayor reducción de la infección y una menor colonización de SG en los órganos analizados

*Estudio de un bacteriofago lítico para el biocontrol de Salmonella Gallinarum

Resumen

Los bacteriófagos son virus que infectan y destruyen a las bacterias. Esta actividad lítica y huésped específico los ubica como alternativa terapéutica y profiláctica frente a patógenos como Salmonella. Los fagos, se los puede utilizar además, como una herramienta complementaria para el control de bacterias sobre las superficies y así, evitar el uso masivo de tratamientos químicos que pueden favorecer la selección y proliferación de bacterias resistentes. Una de las principales enfermedades que afecta a las aves de postura en Argentina es la Tifosis Aviar (TA), causado por el patógeno Salmonella enterica subespecie enterica serovar Gallinarum biotipo Gallinarum (SG). Con el objetivo de evaluar la actividad lítica de un bacteriófago, para ser utilizado como biocontrol de SG, al mismo se lo sometió frente a medios con distintos grados de acidez y a desinfectantes de uso frecuente en avicultura. Se lo analizó molecularmente para determinar la naturaleza de su genoma, se evaluó la especificidad viral, si tenía actividad lítica frente a Salmonella de tipo rugosa (9R), se estudió el comportamiento lítico del fago en una granja de gallinas comerciales y en superficies contaminadas experimentalmente con SG.

7.5. COMUNICACIONES. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores)

**"Bacteriofago lítico para el control de tifosis aviar"-CAV 2015- XI Congreso Argentino de virología- II Congreso Latinoamericano de Virología. 23 al 26 de Junio del 2015. Ciudad autónoma de Buenos Aires, Argentina. (Presentado-Aceptado)

*"Bacteriófagos como desinfectantes de superficies" - IX Jornadas Internacionales de Veterinaria práctica. Mar del Plata. 28 y 29 de Agosto del 2015. (Aceptado-Presentado).

*"Evaluación de la acción de un bacteriófago lítico en una granja de gallinas comerciales" - XXIV Congreso Latinoamericano de Avicultura - Guayaquil 2015 del 8 al 11 de septiembre del 2015. (Aceptado-Presentado).

*"Bacteriófagos como bactericida natural" -III Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental (CAMAY 2015) - Ciudad Autónoma de Buenos Aires a realizarse los días 25, 26 y 27 de noviembre del 2015. (Aceptado)

7.6. TRABAJOS EN REALIZACIÓN. (Indicar en forma breve el estado en que se encuentran)

8. OTROS TRABAJOS REALIZADOS. (Publicaciones de divulgación, textos, etc.)

8.1. DOCENCIA

8.2. DIVULGACIÓN

8.3. OTROS

9. ASISTENCIA A REUNIONES CIENTÍFICAS. (Se indicará la denominación, lugar y fecha de realización y títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas)

10. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC. (Señalar características del curso o motivo del viaje, duración, instituciones visitadas y si se realizó algún entrenamiento)

1-Curso "Manejo y uso de animales de laboratorio"

Fecha de Realización: 10-3-15 al 12-3-15 Carga horaria: 12 hs.

Charlas teóricas sobre manipulación, uso y cuidado de animales vertebrados vivos, ya sea en actividades de investigación, docencia, ensayos, tests, diagnósticos, entre otras . Armado de un protocolo experimental para el trabajo con animales.

Organizado por: Universidad de Buenos Aires

(Certificado en trámite)

2-Curso de Posgrado "Redacción de Materiales Científicos: Planificación, Organización y Composición."

Fecha de Realización: 13-10-2015 al 28-10-2015 Carga horaria: 30hs.

Clases teóricas y prácticas para proveer una base sólida de elementos teóricos y estrategias de análisis textual que potencien en los asistentes las competencias metacognitivas sobre los procesos de producción textual, e incrementar las competencias sociales, comunicativas, lingüísticas y discursivas implicadas en el proceso de edición y de autoedición de los materiales científicos.

Organizado por: Universidad Nacional de Luján

3-Curso de Posgrado de Estadística aplicada.

Fecha de realización: 27-8-2015 al 2-10-15 Carga horaria:40 hs.

Clases teóricas y prácticas para aprender a seleccionar en base a los modelos disponibles, aquellas técnicas estadísticas más apropiadas para describir y predecir situaciones específicas que se presentan en la Investigación.

Organizado por: Universidad Nacional de Luján

(Certificado en trámite)

11. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO

12. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO

Ayudante de Primera Ad Honorem en la asignatura Microbiología, desde el 1 de Junio al 31 de Diciembre de 2015

13. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES (Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período)

Informalmente participo en la detección de Salmonella en muestras de alimentos balanceados.

14. TITULO DEL PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PERIODO DE PRORROGA O DE CAMBIO DE CATEGORÍA (Deberá indicarse claramente las acciones a desarrollar)

Plan de trabajo: "Estudio de un bacteriófago lítico para el biocontrol de Salmonella Enteritidis en producción avícola".

Cambio de categoría a Beca de perfeccionamiento, con el fin de de iniciar con parte del trabajo propuesto en el Plan de Tesis doctoral titulada "Bacteriófagos líticos para el control de salmonelas tíficas y paratíficas en producción avícola", para obtener el Doctorado en Ciencias Aplicadas de la Universidad Nacional de Luján, que será aprobada el 8 de octubre del 2015.

Los objetivos a realizar son:

1. Aislar, identificar, caracterizar molecularmente y determinar los parámetros del ciclo lítico de bacteriófagos líticos que infecten Salmonella Enteritidis (SE).
2. Estudiar el comportamiento de los fagos con desinfectantes de uso en avicultura.
3. Evaluar la eficacia de la administración del fago lítico en pollos parrilleros infectados experimentalmente con SE, a través del aislamiento y recuento de la enterobacteria en el tracto digestivo y materia fecal.
4. Aislar y cuantificar SE en superficies contaminadas experimentalmente tratadas con el fago y con desinfectantes de uso en avicultura.
5. Evaluar el comportamiento del fago en distintas granjas en producción.

Condiciones de Presentación

A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Becario, la que deberá incluir:

- a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 14).
- b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, deben agregarse al término del desarrollo del informe
- c. Informe del Director de tareas con la opinión del desarrollo del becario (en sobre cerrado).

Nota: El Becario que desee ser considerado a los fines de una prórroga, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.

.....
Firma del Director

.....
Firma del Becario