

INFORME CIENTIFICO DE BECA

Legajo N°:

BECA DE ESTUDIO

PERIODO 01/04/2013 a 31/03/2014

1. APELLIDO: Pérez

NOMBRES: Silvina

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: Mar del Plata **CP:** 7600 **Tel:**

Dirección electrónica (donde desea recibir información): ssilvinaperez@gmail.com

2. TEMA DE INVESTIGACIÓN (Debe adjuntarse copia del plan de actividades presentado con la solicitud de Beca)
Caracterización de bacterias halófilas de *Engraulis anchoita* quimiotácticas hacia histidina y/o histamina

3. OTROS DATOS (Completar lo que corresponda)

BECA DE ESTUDIO: 1º AÑO: Fecha de iniciación: 01/04/2013

2º AÑO: Fecha de iniciación:

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 Mar del Plata

Facultad: Ingeniería

Departamento: Ingeniería Química

Cátedra: -

Otros: Grupo de Investigación Preservación y Calidad de Alimentos (GIPCAL)

Dirección: Calle: Juan B. Justo **N°:** 4302

Localidad: Mar del Plata **CP:** 7600 **Tel:** 0223-4816600

5. DIRECTOR DE BECA

Apellido y Nombres: Yeannes, María Isabel **Dirección**

Particular: Calle: N°:

Localidad: Mar del Plata **CP:** 7600

Dirección electrónica: myeannes@mdp.edu.ar

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).

Con el objetivo de aislar e identificar microorganismos autóctonos de la anchoíta salada y madurada, se realizaron los puntos 1 y 2:

1) MICROORGANISMOS Y CONDICIONES DE CULTIVO.

Para el crecimiento de microorganismos halófilos, se prepararon los medios de cultivo con 15 y 20 % de NaCl y se realizó la incubación a 37°C durante 14-21 días.

- Se aislaron microorganismos a partir de muestras de sal entrefina ya que la misma presentaba coloración rosada, indicadora de presencia de microorganismos halófilos.

- Dado que se presentaron dificultades para el crecimiento de los microorganismos en medio Gibbons, generalmente utilizado para estas determinaciones, se realizó la comparación de diferentes medios de cultivo para el aislamiento a partir de muestras de sal (Medios: IRAM con leche y Abadejo con leche). Los mayores recuentos se dieron para el aislamiento en medio IRAM con leche.

- Se realizó el aislamiento y recuento de microorganismos halófilos a partir de muestras de anchoíta tomadas en empresa elaboradora de la ciudad de Mar del Plata, durante las primeras 48 hs del proceso de salado correspondiente a la elaboración de anchoíta salada y madurada.

- Se seleccionaron microorganismos halófilos que habían sido previamente aislados en el subproyecto salado-madurado de anchoíta.

2) IDENTIFICACIÓN MOLECULAR.

Si bien esta actividad no estaba prevista en el Plan presentado oportunamente, se vio la posibilidad de realizarlo y se consideró sumamente positivo para el resultado del Proyecto efectuar identificaciones moleculares. Por lo tanto, se está realizando la identificación molecular de los microorganismos aislados con amplicones 16S. Por el momento, se ha realizado la amplificación con primers para bacterias y se han identificado *Lentibacillus/Virgibacillus* (porcentaje de identidad: 94%), *Chromohalobacter canadensis* (porcentaje de identidad: 98%), *Chromohalobacter* spp. (porcentaje de identidad: 97%), *Lentibacillus* spp. (porcentaje de identidad: 93%) y *Staphylococcus haemolyticus* (porcentaje de identidad: 99%). Para las muestras que no se logró la amplificación con estos primers, se realizará la misma con primers para arqueas a fin de completar la identificación.

Por otro lado, he realizado una estadía en el Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Estadual Paulista a fin de realizar entrenamiento en estas y otras técnicas de identificación. En este Laboratorio se realizó la extracción de DNA metagenómico a partir de las muestras de sal con coloración rosada del mismo origen de la anterior. Para esto fue necesaria la puesta a punto de una técnica de extracción de DNA total de muestras consideradas de difícil procesamiento, como lo son las muestras de sal pura.

La tarea específicamente consistió en:

- Preparación de material descartable y de vidrio para esterilizar.

- Preparación de reactivos.

- Autoclavado de materiales y reactivos.

- Pruebas de extracción de DNA total a partir de un kit marca Mobbio y de un procedimiento estándar para comparar resultados.

- Puesta a punto de un procedimiento de extracción de DNA desarrollado durante la estadía.

- Verificación de la extracción en cada etapa del procedimiento mediante electroforesis en gel de agarosa y cuantificación mediante el espectrofotómetro Nanodrop.

- Amplificación de la fracción 16S del DNA por PCR con primers para arqueas y para bacterias.

- Verificación de la amplificación mediante electroforesis en gel de agarosa y cuantificación con espectrofotómetro Nanodrop.
- Verificación del tamaño del DNA amplificado mediante la secuenciación del mismo.
- Preparación de las muestras para completar el secuenciamiento en un laboratorio tercerizado.

Se continúa trabajando en forma conjunta con este Laboratorio para completar el análisis de metagenómica con amplicones 16S, incluyendo el análisis bioinformático.

A fin de identificar aquellos microorganismos que descarboxilan histidina durante el proceso de elaboración de anchoíta salada y madurada, se realizaron los puntos 3 y 4:

3) AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS FORMADORES DE HISTAMINA.

Sobre todos los microorganismos mencionados, se realizó la prueba de formación de histamina a través de medios selectivos con histidina como única fuente de carbono (medio Niven). Más del 80% de los microorganismos aislados a partir de las muestras tomadas en empresa elaboradora de la ciudad de Mar del Plata dieron resultados positivos para la formación de histamina a partir de histidina, mientras que solo el 30% de las cepas aisladas a partir de la sal resultaron positivas.

4) CUANTIFICACIÓN DE HISTAMINA POR HPLC.

Se realizó un entrenamiento en SENASA (Laboratorio Regional Mar del Plata) donde se estudió la técnica de cuantificación de histamina en músculo de pescado por HPLC. Asimismo se trabajó en el Laboratorio del GIPCAL con metodología en cromatografía en capa delgada.

Con el fin de manipular la cinética microbiana a fin de producir menor cantidad de histamina, se realizó la actividad 5:

5) MONTAJE DEL REACTOR.

Se cultivaron en caldo Gibbons los microorganismos aislados en agar, instancia que presentó mucha dificultad. Como alternativa para el crecimiento de los microorganismos en caldo, se introdujo un soporte sólido para fijación bacteriana, sin obtener cambio en los resultados. Dado que la mayoría de los microorganismos presentes son aerobios estrictos, se está estudiando el crecimiento en caldo con agitación.

Por otro lado, para la puesta en marcha del reactor es necesario seleccionar un caldo de cultivo traslúcido, que no presente turbidez y que sea satisfactorio para el crecimiento de los microorganismos seleccionados. Dado que el agar IRAM con leche fue el que dio mejores resultados, se están estudiando alternativas para modificar este medio, de manera tal que mantenga la misma performance en cuanto al crecimiento microbiano, pero que permanezca traslucido y sin turbidez. Tal es el caso de los medios en estudio: IRAM sin agregado de leche e IRAM con agregado de suero de leche.

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)

"Final de la vida"

Solicitado por la Cátedra de Bioética durante el Curso de Postgrado "La bioética en la sociedad del conocimiento" para ser publicado en Editorial de la Universidad (EUDEM).

Resumen:

Al hablar del final de la vida, se piensa solo en la muerte. Sin embargo, este tema es más amplio ya que abarca también un determinado período de tiempo previo a la muerte y al derecho sobre el propio cuerpo después de la misma.

Cabe destacar que el comportamiento de la sociedad frente a la muerte ha cambiado con el transcurso del tiempo. Antiguamente, el moribundo era puesto en conocimiento de su situación, mientras que en la actualidad no se habla de la muerte frente al enfermo terminal (La Rocca, 2013).

Por otro lado, han habido cambios en cuanto a la relación médico-paciente. A lo largo de las últimas décadas han surgido diferentes normas tendientes a reconocer los derechos del paciente, en las cuales han cobrado gran trascendencia la autonomía del paciente, su derecho a la información, y el consentimiento informado. Este entramado normativo ha contribuido a superar una visión paternalista de la relación médico-paciente, en favor de una concepción más dialógica, de responsabilidad compartida (Martínez-Otero, 2012).

La Ley de muerte digna en Argentina significa un avance y una ampliación de los derechos de las personas respecto de las medidas médicas frente a la eventual muerte (Barrenechea, 2012).

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

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

a) AVANCES EN LA IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE BACTERIAS HALÓFILAS

Se han impuesto los métodos genotípicos de identificación bacteriana como procedimientos complementarios o alternativos a los sistemas de identificación fenotípica para solventar los problemas inherentes asociados a estos últimos (no todas las cepas de una misma especie muestran una característica específica; una misma cepa puede generar diferentes resultados en ensayos repetidos; y las limitaciones en la base de datos de bacterias correspondiente, entre otros). Por ello, se ha incluido en el Plan de Trabajo la identificación molecular. Se está realizando la identificación tanto por métodos dependientes del cultivo, como el método de hervido de cada colonia aislada y posterior PCR, como por métodos independientes del cultivo (metagenómica), como el método del CTAB.

A partir del método del hervido y PCR con primers para bacterias, se han identificado *Lentibacillus/Virgibacillus* (porcentaje de identidad: 94%), *Chromohalobacter canadensis* (porcentaje de identidad: 98%), *Chromohalobacter* spp. (porcentaje de identidad: 97%), *Lentibacillus* spp. (porcentaje de identidad: 93%) y *Staphylococcus haemolyticus* (porcentaje de

identidad: 99%). Se continuará la identificación de las cepas restantes mediante la utilización de primers para arqueas.

En cuanto al análisis metagenómico, se ha presentado dificultad en cuanto a la extracción del DNA total de la muestra, fundamentalmente por las características de la matriz de la muestra (sal pura). Se logró poner a punto un procedimiento para la extracción del DNA durante la estadía realizada en el Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Estadual Paulista y se continúa trabajando en forma conjunta para completar el análisis de metagenómica con amplicones 16S, incluyendo el análisis bioinformático.

b. DISEÑO DE METODOLOGÍA DE ALIMENTACIÓN DE REACTOR CON ARQUEOBACTERIAS

Tal como se explica en el punto 6 de este formulario, se cultivaron en caldo Gibbons los microorganismos aislados en agar. Dado que un bajo porcentaje presentó crecimiento y que por estudios anteriores realizados en este Laboratorio se sabe que la mayoría de los microorganismos presentes son aerobios, se está estudiando el crecimiento en caldo con agitación. Por otro lado, se está determinando el caldo de cultivo que se utilizará para las experiencias con biorreactores.

c. IDENTIFICACIÓN FENOTÍPICA DE BACTERIAS HALÓFILAS EN SAL Y ANCHOÍTA SALADA Y MADURADA

Se ha realizado una amplia selección de microorganismos halófilos a partir de cepas almacenadas en el GIPCAL que habían sido previamente aislados en el subproyecto salado-madurado de anchoíta; de cepas obtenidas a partir del cultivo de los microorganismos presentes en muestras de sal; y de los microorganismos cultivados a partir de muestras de anchoíta salada, madurada y filetes. Se ha realizado la discriminación de las cepas a partir de características macroscópicas (morfología y proteólisis), requisitos de crecimiento y tinción de gram.

d. TRANSFERENCIA A EMPRESA PESQUERA MARPLATENSE DEDICADA AL RUBRO DE SALAZÓN DE ENGRAULIS ANCHOÍTA SALADA-MADURADA

Desde septiembre de 2013 se está realizando un trabajo de transferencia a la empresa pesquera marplatense dedicada al rubro de salazón de Engraulis anchoíta salada-madurada en el cual se ha realizado la toma de muestras de anchoíta durante las primeras 48 hs del proceso de salado y se ha estudiado la actividad de agua, contenido de agua, penetración de sal y recuento de microorganismos, entre ellos, los halófilos. Se ha determinado si los microorganismos halófilos hallados son formadores de histamina y actualmente se está realizando la identificación fenotípica de los mencionados.

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

8.1. DOCENCIA

8.2. DIVULGACIÓN

PUBLICACIÓN EN CATÁLOGO (papel y digital)

"Desarrollo sostenible de snacks y vodka a base de batata."

Innovar 2013 - Concurso Nacional de Innovaciones - 9na edición

Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva

ID del proyecto: 13976.

Página 233. Catálogo digital disponible en: <http://www.innovar.gob.ar/catalogos>

Catálogo digital disponible en: <http://www.innovar.gob.ar/catalogos>

Citas y entrevistas relacionadas

- “Llegó el vodka de batata”. Entrevista telefónica en vivo en Programa Brunch por Radio Metro. 9 de febrero de 2014. Resumen disponible en: <http://brunch.metro951.com/2014/02/09/llego-el-vodka-de-batata/>
- Entrevista telefónica en Programa Nuevos Negocios por Radio FM 99.9.
- “Estaba la reina batata”. Suplemento iECO, Espacio Cum Laude, Diario Clarín. 24 de noviembre de 2013.
- “Más allá de la birome”. Diario Página 12. 10 de noviembre de 2013. Disponible en: <http://www.pagina12.com.ar/diario/sociedad/3-233265-2013-11-10.html>

PRESENTACIÓN DE PÓSTER

"Desarrollo sostenible de snacks y vodka a base de batata."

Innovar 2013 - Concurso Nacional de Innovaciones - 9na edición

Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva

ID del proyecto: 13976.

Fecha: 9 al 13 de octubre de 2013. Lugar: Microestadio de Tecnópolis, Villa Martelli, Bs. As.

“Halófilas en anchoíta quimiotácticas hacia histidina y/o histamina.”

Autores: Pérez, Silvina; Yeannes, María Isabel; Murialdo, Silvia.

Primer Congreso Internacional Científico y Tecnológico de la Provincia de Buenos Aires

Comisión de Investigaciones Científicas (CIC)

Fecha: 19 y 20 de septiembre de 2013. Lugar: Teatro Argentino. La Plata.

“Tratamiento de hidrocarburos tóxicos del Puerto de Mar del Plata.”

Autores: Nisembaum, Melina; Pérez, Silvina; González, Jorge Froilán; Murialdo, Silvia.

Primer Congreso Internacional Científico y Tecnológico de la Provincia de Buenos Aires

Comisión de Investigaciones Científicas (CIC)

Fecha: 19 y 20 de septiembre de 2013. Lugar: Teatro Argentino. La Plata.

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)

INNOVAR 2013

Concurso Nacional de Innovaciones - 9na edición

Trabajo presentado: "Desarrollo sostenible de snacks y vodka a base de batata."

Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva

ID del proyecto: 13976.

Fecha: 9 al 13 de octubre de 2013. Lugar: Microestadio de Tecnópolis, Villa Martelli, Bs. As.

Página 233. Catálogo digital disponible en: <http://www.innovar.gob.ar/catalogos>

PRIMER CONGRESO INTERNACIONAL CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Comisión de Investigaciones Científicas (CIC)

Trabajos presentados:

- **“Halófilas en anchoíta quimiotácticas hacia histidina y/o histamina.”**

Autores: Pérez, Silvina; Yeannes, María Isabel; Murialdo, Silvia.

Fecha: 19 y 20 de septiembre de 2013. Lugar: Teatro Argentino. La Plata.

- "Tratamiento de hidrocarburos tóxicos del Puerto de Mar del Plata."

Autores: Nisembaum, Melina; Pérez, Silvina; González, Jorge Froilán; Murialdo, Silvia.

Fecha: 19 y 20 de septiembre de 2013. Lugar: Teatro Argentino. La Plata.

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)

ESTANCIAS Y PASANTÍAS

- CUANTIFICACIÓN DE HISTAMINA EN MÚSCULO DE PESCADO POR HPLC

SENASA - Laboratorio Regional Mar del Plata

De junio a Julio de 2013. Lugar: Mar del Plata - Bs. As.

- EXTRACCIÓN Y SECUENCIACIÓN DE ADN POR METAGENÓMICA

Universidad Estadual Paulista – Instituto de Biología – Centro de Estudios de Insectos Sociales – Laboratorio de Biología Molecular

Proyecto MINCYT CAPES. Código del proyecto: BR1107.

De octubre a noviembre de 2013. Lugar: Río Claro, Estado de San Pablo, Brasil.

CURSOS DE POSTGRADO

- INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BIOLÓGICAS: BIOSEGURIDAD

Docentes: Dra. Graciela Lidia Salerno y Dra. Susana Beatris Goldstein de Fink.

Organizado por: Escuela de Postgrado, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata.

Duración: 12 hs T y 24 hs T-P. Fecha: 2 al 6 de diciembre de 2013. Calificación: 8 (ocho).

- INTRODUCCIÓN AL PAQUETE ESTADÍSTICO CON SPSS

Docente: Lic. Pablo A. Salgado.

Organizado por: CAICYT – CONICET – FOPRACC.

Duración: 96 hs. Fecha: 14 de agosto al 9 de octubre. Calificación: 9 (nueve).

- LA BIOÉTICA EN LA SOCIEDAD DEL CONOCIMIENTO

Docente responsable: Dra. Nelida Susana La Rocca.

Organizado por: Escuela de Postgrado, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata.

Duración: 12 hs T y 24 hs T-P. Fecha: 5 de agosto al 12 de septiembre de 2013. Calificación: 9 (nueve).

CURSOS Y SEMINARIOS

- ENTRENAMIENTO EN EVALUACIÓN SENSORIAL PARA EL DESARROLLO DEL ESQUEMA QIM DE MERLUZA

SENASA - Centro Regional Buenos Aires Sur

Proyecto de Evaluación Sensorial - Quality Index Method para Merluza

Fecha: 17, 19 y 23 de septiembre de 2013.

- CONTROL DE PLAGAS

Disertante: Dr. Conrado Alejandro Murdocca.

Organizado por: Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios. Filial Mar del Plata.

Duración: 4 hs. Fecha: 6 de junio de 2013. Asistencia.

11. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO

PREMIO: Innovación en las Universidades

Innovar - Concurso Nacional de Innovaciones

Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva

Título del proyecto: Desarrollo sostenible de snacks y vodka a base de batata. Diseño de sus plantas elaboradoras. ID del proyecto: 13976.

Fecha: 12 de octubre de 2013.

Disponible en: <http://www.innovar.gob.ar/concurso/ganadores>

12. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO

Ayudante de primera adscripto de Termodinámica

Facultad de Ingeniería – Universidad Nacional de Mar del Plata.

20/12/2014: Cargo obtenido por concurso de antecedentes y oposición. Cargo a partir del 1º de abril de 2014 (1º cuatrimestre de 2014).

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)

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)

Caracterización de bacterias halófilas de *Engraulis anchoita* y su rol en el nivel de histamina durante la maduración de la misma.

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