

**CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y
TECNOLÓGICO**
Informe Científico¹

PERIODO ²: 2009-2011

Legajo N°:

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: PADOLA

NOMBRES: NORA LIA

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: CP: Tel:

Dirección electrónica (donde desea recibir información):

2. TEMA DE INVESTIGACION

CICLO ECOLOGICO DE ESCHERICHIA COLI VEROCITOTOXIGÉNICO: RESERVORIOS,
MEDIO AMBIENTE Y ALIMENTOS

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: Adj c/d Fecha: 2/09/09

ACTUAL: Categoría: Adj c/d desde fecha:

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

*Universidad y/o Centro: UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DE LA PROVINCIA
DE BUENOS AIRES*

Facultad: FACULTAD CIENCIAS VETERINARIAS

Departamento: SANIDA ANIMAL Y MEDICINA PREVENTIVA

Cátedra: INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA

Otros:

Dirección: Calle: Paraje Arroyo Seco N°: s/n

Localidad: TANDIL CP: 7000 Tel: 02293-439850

Cargo que ocupa: PROFESOR ADJUNTO

5. DIRECTOR DE TRABAJOS. (En el caso que corresponda)

Apellido y Nombres: PARMA ALBERTO ERNESTO

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: CP: Tel:

Dirección electrónica:

¹ Art. 11; Inc. "e" ; Ley 9688 (Carrera del Investigador Científico y Tecnológico).

² El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2008 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2006 al 31-12-2007, para las presentaciones bianuales.

.....
Firma del Director (si corresponde)

.....
Firma del Investigador

6. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.

Debe exponerse, en no más de una página, la orientación impuesta a los trabajos, técnicas y métodos empleados, principales resultados obtenidos y dificultades encontradas en el plano científico y material. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.

En 2004 obtuve el título de Doctor en Ciencia Animal (FCV-UNCPBA) y en 2005 obtuve por concurso el cargo de Profesor Adjunto. Durante estos 6 años continué investigando sobre el rol del bovino como reservorio de Escherichia coli verocitotoxigénico (VTEC), principalmente en tambos, proyecto que fue subsidiado por el FONCYT y del cual fui codirectora en conjunto con el Dr Alberto Parma (Director del proyecto). Fui directora de la Tesis Doctoral del Dr Daniel Fernández quien defendió su Tesis en marzo de 2011 y hoy continúa bajo mi dirección realizando una beca posdoctoral de CONICET. Las altas prevalencias de VTEC encontradas en distintas categorías de bovinos de tambo, y la menor prevalencia de VTEC encontrada en medio ambiente, nos llevó a plantearnos las posibles causas de su persistencia en el ambiente, bien bajo la forma de biofilms o en el estado de viables no cultivables. La Lic Rosana Polifroni está terminando su Tesis Doctoral bajo mi dirección y la codirección de la Dra Analía Etcheverría en este tema, con fecha de defensa en junio de 2012. Los resultados obtenidos le permitieron obtener una Beca Fulbright para continuar sus estudios en Estados Unidos en el Laboratorio de la Dra Vanesa Sperandio durante 4 meses.

Hemos comprobado el rol del bovino y del medio ambiente como reservorios de VTEC no sólo del serotipo O157:H7 sino de serotipos no-O157, diseñando estrategias de diagnóstico no selectivas. Pero debido a que muchos casos de síndrome urémico hemolítico (SUH) no se producen por la ingestión de carne bovina contaminada, comenzamos a investigar sobre otros posibles reservorios, como el pollo. Esta línea permitió el desarrollo de la Tesis Doctoral de la Vet Mónica Alonso bajo mi dirección y la codirección de la Dra Paula Lucchesi, cuya fecha de defensa es junio de 2012 y permitió comprobar que el pollo no sería reservorio de VTEC pero si de Escherichia coli enteropatogénico (EPEC) y que la presencia de varios serotipos verocitotoxigénicos en carne de pollo podría deberse a contaminación cruzada con carne bovina.

Actualmente, estoy codirigiendo otra Tesis Doctoral, dirigida por la Dra Analía Etcheverría, que tiene como objetivo determinar la presencia de VTEC y Salmonella, no solamente en criaderos de cerdos sino en toda su cadena productiva y de comercialización (en medias reses y en bocas de expendio minorista). Este trabajo de Tesis también contempla la detección de integrones en las cepas aisladas. Los integrones son cassettes de ADN que codifican para resistencia a varios antibióticos y que se transfieren horizontalmente entre cepas, aumentando el riesgo de la multiresistencia y su diseminación en el ambiente. Más allá de este proyecto, estamos trabajando en conjunto con el Dr Alejandro Soraci (Toxicología-FCV-UNCPBA) en la detección de integrones en cepas comensales de E. coli aisladas de cerdos y medio ambiente, y hemos establecido vínculos de colaboración con el grupo del Dr Gutkin (F. F y B-UBA) para la secuenciación genética de los integrones.

La difusión de nuestros resultados nos ha permitido trabajar en colaboración con otros grupos de investigación, como el del Dr Gerardo Leotta (Microbiología de los Alimentos-FCV-UNLP) con el cual planificamos y obtuvimos dos PICTO CIN 2011, en uno de los cuales integro el grupo responsable, en un trabajo que contempla la determinación de bacterias productoras de ETAs en carnicerías de 3 municipios: Berisso, Tandil y Luján.

También trabajamos en colaboración con la Dra Adriana Bentancor (Microbiología-FCV-UBA) con la cual realizamos un curso de posgrado, con créditos para el Doctorado en Ciencia Animal (FCV-UNCPBA) y el Doctorado en Ciencias Veterinarias (FCV-UBA). Este curso se realizó en la FCV de Tandil y en la UBA. De este trabajo en colaboración surgió el pedido de un subsidio que fue otorgado y que permitió trabajar conjuntamente con el Dr Fernando Pestana de Castro (Universidad de San Pablo-Brasil). Actualmente, obtuvimos un PICT Bicentenario el cual contempla el análisis de cepas VTEC autóctonas argentinas y brasileras.

En 2010 el Dr Alfredo Torres, de la Universidad de Texas (USA) organizó LACER (Latin American Coalition for Escherichia coli Research) del cual soy miembro. De esta coalición surgió la publicación del libro Pathogenic Escherichia coli in Latin America. A. G. Torres (Ed.). Editado por: Bentham Science Publishers Ltd, Estados Unidos en el cual escribimos el capítulo: Diarrheagenic Escherichia coli in Argentina Chapter 10: pp. 142-161. Rivas, M.; Padola N. L; Lucchesi P. M. A. and Massana, M.

Nuestro laboratorio posee un cepario de 550 cepas VTEC, aisladas durante distintas Tesis Doctorales. Estas cepas fueron obtenidas de bovinos, medio ambiente y alimentos. Estamos trabajando en la caracterización de estas cepas, principalmente en la detección molecular de proteínas que intervendrían en la colonización del bovino. El éxito de la colonización del bovino por VTEC y la aparente resistencia a la enfermedad sistémica son, en la actualidad, motivo de muchas especulaciones y controversias. Los factores que incrementan el éxito de VTEC para colonizar el intestino del bovino, incrementan en consecuencia el riesgo para la salud humana. Estos objetivos forman parte del proyecto que dirijo con la codirección de la Dra Analía Etcheverría y que desarrollaré como marco de mi proyecto de investigación.

7. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.

7.1 PUBLICACIONES. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellas publicaciones en las que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha mención no debe ser adjuntada porque no será tomada en consideración. A cada publicación, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden que figuran en ella, lugar donde fue publicada, volumen, página y año. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparece en la publicación. La copia en papel de cada publicación se presentará por separado. Para cada publicación, el investigador deberá, además, aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del trabajo y, para aquellas en las que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

1) 2009 Daniel Fernández, Edgardo Rodríguez, Guillermo H. Arroyo, Nora L. Padola and Alberto E. Parma.

Seasonal variation of Shiga toxin-encoding genes (stx) and detection of E. coli O157 in dairy cattle from Argentina. Journal of Applied Microbiology 106: 1260-1267. ISSN 1364-5072.

Aims: To study the seasonal variation of Shiga toxin-encoding genes (stx) and to investigate the presence of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) O157 in cattle belonging to five dairy farms from Argentina.

Methods and Results: Rectal swab samples were collected from 360 dairy cows in each season and 115 and 137 calves in autumn and in spring, respectively. The stx were investigated by multiplex PCR and it was used as the indicator

for STEC. Samples positives for stx were tested by PCR for eae-c1 of *E. coli* O157 and then subjected to IMS (immunomagnetic separation). In positive animals significant differences in the prevalence of stx between warm and cold seasons were detected. In warm seasons, stx1 + stx2 increased and stx1 decreased, independently of the animal category. The prevalence of STEC O157 in cows and calves were 0Æ2% and 0Æ8%, respectively.

Conclusions: This work provides new data about the occurrence of stx and STEC O157 in dairy herds from Argentina and suggests a relationship between the type of stx and season of year.

Significance and Impact of Study: The detection of STEC O157 and the seasonality of stx and its types provide an opportunity to improve control strategies designed to prevent contamination of food products and transmission animal-person.

Mi aporte a este trabajo fue la dirección de las actividades planteadas y la escritura y corrección del manuscrito en conjunto con los coautores.

2) 2009 Polifroni, R, Etcheverría, AI, Padola, NL, Parma, AE
Escherichia coli verocitotoxigénico (VTEC). Características de virulencia y persistencia en el medio ambiente.

Revista INVET – Investigación Veterinaria. 11, 65-70.

Argentina es el país con mayor número de casos de SUH a nivel mundial. Los bovinos son el principal reservorio de *Escherichia coli* verocitotoxigénico (VTEC) y los rodeos argentinos presentan una alta prevalencia de este patógeno. En la región pampeana se ha comprobado que el ganado de pastoreo y los animales de engorde a corral son portadores de serotipos VTEC muy virulentos. Sin embargo, estos patógenos son aislados del medio ambiente conbaja frecuencia. Una posible explicación estaría basada en la capacidad de VTEC de formar biofilms y/o entrar en un estado fisiológico de no culturabilidad. Esta característica haría que escapen a la detección por medios tradicionales de microbiología, siendo imprescindible el uso de técnicas moleculares.

Esta revisión bibliográfica es parte de las actividades planteadas en el marco de la Tesis Doctoral de la Lic Rosana Polifroni, por lo que mi aporte fue en la planificación y corrección del manuscrito, en conjunto con la codirectora Dra Etcheverría y el resto de los autores.

3) Colello, R.; Etcheverría, A.I.; Padola N.L.; Parma, A.E.

Detección de *Escherichia coli* verocitotoxigénica por PCR en embutidos secos.

La Industria Cárnica Latinoamericana. Vol 162, 56-60. ISSN 0325-3414

Resumen

Escherichia coli verocitotoxigénica (VTEC) es un patógeno emergente asociado a colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. El contagio del hombre se debe al consumo de alimentos cárneos y lácteos contaminados, deficientemente cocidos o sin pasteurizar, o al contacto directo con animales o sus heces, consumo de agua, frutas o verduras contaminadas. El objetivo de este trabajo fue detectar factores de virulencia de VTEC en embutidos secos. Para ello, se tomaron 40 muestras de distinta procedencia de la ciudad de Tandil, Argentina, entre junio y septiembre del 2008. A cada muestra se le realizó PCR con primers específicos para genes vt1, vt2, eae, ehxA y saa. De las 40 muestras analizadas, 2 (5%) fueron positivas a factores de virulencia de VTEC, siendo una de las muestras vt2+ y la otra muestra vt1+,vt2+, eae+, ehxA+ .

Fui Codirectora de la Tesina que dio origen a esta publicación, por lo que mi responsabilidad junto con la Dra Etcheverría fue la guía de la teginista en la realización de los PCR y la planificación y escritura del manuscrito.

4) A.I. Etcheverría, N.L Padola, M.E. Sanz, R. Polifroni, A. Krüger, J. Passucci, E.M. Rodríguez, A.L Taraborelli, M. Ballerio, A. Parma. Occurrence of shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) on carcasses and retail beef cuts in the marketing chain of beef in Argentina. (2010). *Meat Science* 86, 418-421. ISSN 0309-1740. Estados Unidos Idioma: inglés.

Argentina has the highest incidence of HUS in the world. HUS is produced by STEC O157 and non-O157. Cattle's faeces and hides are sources of STEC contamination of carcasses during slaughter. We investigated the presence of STEC in carcasses and cuts of meat in the marketing chain in an agricultural city located in Buenos Aires Province (Argentina). In this study, the detection of the *stx* gene was used as an indicator of carriage of meat with STEC. In carcasses, we detected 12.34% and 18.64% of STEC at the slaughter and sanitary control cabin (place where carcasses arrive from slaughters located outside the city), respectively. These percentages increased at butchereries (24.52%). The 25% of retail beef cuts were STEC-positive with significant differences among the different cuts of meat (chuck: 12.12%, rump roast: 12.12% and minced beef: 40.74%). The *stx2* gene was the predominant gene detected in all samples at different levels of the commercialization meat chain.

Este manuscrito fue planificado en conjunto con la Dra Etcheverría en base a los resultados obtenidos de un trabajo realizado en un municipio en conjunto con SENASA y subsidiado por la CIC. Planifiqué, revisé y corregí el manuscrito en conjunto con el resto de los autores .

5) Daniel Fernández, Kinue Irino, Marcelo E. Sanz, Nora L. Padola, Alberto E. Parma. Characterization of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* isolated from dairy cows in Argentina. 2010. *Letters in Applied Microbiology*. 51, 377–382

.Aims: To feno-genotypically characterize the Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) population in Argentinean dairy cows.

Methods and Results: From 540 STEC positive samples, 170 isolates were analyzed by multiplex PCR and serotyping. Of these, 11% carried *stx1*, 52% *stx2* and 37% *stx1/stx2*. The *ehxA*, *saa* and *eae* were detected in 77%, 66% and 3%, respectively. Thirty-five per cent of strains harboured the profile *stx1*, *stx2*, *saa*, *ehxA* and 29% *stx2*, *saa*, *ehxA*. One hundred and fifty-six strains were associated with 29 different O serogroups, and 19 H antigens were distributed among 157 strains. STEC O113:H21, O130:H11 and O178:H19 were the most frequently found serotypes. The STEC O157:H7 were detected in low rate and corresponded to the *stx2+*, *eae+*, *ehxA+* virulence pattern.

Conclusions: We detected a diversity of STEC strains in dairy cattle from Argentina, most of them carrying genes linked to human disease.

Significance and Impact of the study: The non-O157 STEC serotypes described in this study are associated worldwide with disease in humans and represent a risk for the public health. For this, any microbiological control in dairy farms should be targeted not only to the search of O157:H7 serotype.

Mi aporte a este trabajo fue la dirección de las actividades planteadas, la supervisión de la escritura del manuscrito que realizó el Dr Fernández y la corrección del manuscrito.

6) Alonso, MZ, Padola, NL, Parma, AE, Lucchesi, PMA. Enteropathogenic *Escherichia coli* contamination at different stages of chicken slaughtering process. 2011. *Poultry Science*. 90:2638-2641

ABSTRACT Enteropathogenic *Escherichia coli* is a foodborne pathogen that produces potentially fatal infant diarrhea, noticeably in developing countries. The aim of this study was to detect EPEC contamination by PCR at different stages of the chicken slaughtering process. We collected swabs from chicken cloacae and washed carcasses (external and visceral cavity) during the slaughtering process in 3 sampling occasions. Unwashed eviscerated carcasses were also sampled (at the visceral cavity) in the second and third sampling occasions. Enteropathogenic *Escherichia coli* was detected in 6 to 28% of cloacal samples, 39 and 56% of unwashed eviscerated carcasses, and 4 to 58% of washed carcasses. None of the samples were positive for *bfpA*, suggesting contamination with atypical EPEC. The detection of EPEC at different stages of the chicken slaughtering process showed that the proportion of contaminated samples remained or even increased during processing. In addition, the high proportion of contaminated carcasses during chicken processing represents a risk for the consumers and a challenge to improve procedures for those working in the sanitary control service.

Mi aporte a este trabajo fue la planificación del mismo, el análisis de los datos, la escritura y corrección del manuscrito junto con la Dra Lucchesi

7) Alonso, MZ Lucchesi, PMA, Rodríguez, EM, Parma, AE, Padola, NL. Enteropathogenic (EPEC) and Shigatoxigenic *Escherichia coli* (STEC) in broiler chickens and derived products at different retail stores. (Publicado on line 2011). 2012. *Food Control*. 23: 351-355.

Enteropathogenic (EPEC) and Shigatoxigenic *Escherichia coli* (STEC) are foodborne pathogens that cause potentially fatal infant diarrhea and hemolytic uremic syndrome, respectively. We investigated the presence of intimin and Shiga toxin encoding genes, as indicators of EPEC and STEC presence in cloacae and chicken products. The analyzed products were hamburgers, giblets and carcasses obtained from poultry and butcher shops. EPEC contamination predominated over STEC contamination in cloacae and chicken products, although some differences were detected when the kind of food or shop was taken into account. In particular, among chicken hamburgers we found a greater proportion of EPEC than STEC-positive samples at poultry shops, while in butcheries STEC was predominant. This finding could suggest cross contamination during handling at butcheries. The results indicate that it is necessary to improve hygienic measures both during slaughtering and manipulation of chicken products at retail stores, to provide a safe product to consumers.

Mi aporte a este trabajo fue la dirección de las actividades planteadas y la escritura y corrección del manuscrito, en conjunto con el resto de los autores..

Libros, capítulos de libros

Rivas, M.; Padola N. L; Lucchesi P. M. A. and Massana, M.: Chapter 10: Diarrheagenic *Escherichia coli* in Argentina pp. 142-161. In: A. G. Torres (Ed.). *Pathogenic Escherichia coli in Latin America*. Editado por: Bentham Science Publishers Ltd, Estados Unidos.

Diarrheagenic *Escherichia coli* in Argentina

Abstract: In Argentina, a total of 1,117,718 diarrheal diseases cases were notified in 2008 with an incidence rate of 28.12/100,000 inhabitants, being Diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC) strains the most important etiological agents associated to them. Several community-based studies have assessed the relative frequency of DEC pathotypes, accounting for 6 to 28.8% (EPEC), 9.7 to 24.4%, (ETEC), 0.3 to 17.1% (EIEC), 1.2 to 17.1%, (STEC), 20 to 31.4% (EAEC), and 27.1 to 29% (DAEC). In the last 10 years, approximately 500 HUS cases were reported annually,

with an incidence that ranged between 7.8 and 17/100,000 children less than 5 years of age. STEC O157:H7 was the major serotype isolated (60%), with prevalent genotype stx2/stx2c(vh-a)/eae/ehxA (81.4%), mainly of the phage type 4 (40%). Two XbaI-PFGE patterns are prevalent, AREHX01.0011 and AREHX01.0022, representing respectively 9.9% and 5.6% of the E. coli O157 Argentinean isolates in the database. Among the non-O157 STEC strains, genetic profiles were more diverse, but stx2/eae/ehxA (66.2%) was prevalent. STEC strains, mainly Stx2-producers, have been recovered from animals and food, being cattle an important reservoir, with increased risk of illness linked to beef-related dietary habits, and animal exposure. The implementation of integral preventive measures is necessary to decrease the incidence of diarrheal disease in Argentina and the associated human and economic costs.

Mi aporte al capítulo fue el de recopilar la información referida a reservorios y serotipos en bovinos y alimentos en Argentina y escribir y revisar el manuscrito junto con el resto de los autores.

7.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellos trabajos en los que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Todo trabajo donde no figure dicha mención no debe ser adjuntado porque no será tomado en consideración. A cada trabajo, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden en que figurarán en la publicación y el lugar donde será publicado. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparecerá en la publicación. La versión completa de cada trabajo se presentará en papel, por separado, juntamente con la constancia de aceptación. En cada trabajo, el investigador deberá aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del mismo y, para aquellos en los que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

2) Fernández, D.; Sanz, ME.; Parma AE.; Padola, NL. Characterization of Shiga toxin-producing Escherichia coli isolated from newborn, weaning and rearing dairy calves. Journal of Dairy Science. En prensa. Se envió en diciembre de 2011

ABSTRACT

Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) cause foodborne pathogens disease that is shed in the feces of cattle. The aim of this study was to evaluate how early younger calves are colonized by STEC strains, potentially pathogenic for human, and the prevalence in the different calf categories. From 808 rectal swabs analysed by PCR, 38% were stx-positive. The prevalence in newborn (< 24 h from birth), milk-fed (< 2 months old) and growing calves (2-8 months old) were 25%, 43% and 58%, respectively. Forty different STEC serotypes were found among isolates from newborn, milk-fed, and growing calves which shed STEC strains potentially pathogenic for human. These results show that STEC strains could be acquired early from mothers, enabling the infection of other animal categories and confirming the risk to public health.

Mi aporte a este trabajo fue la dirección de las actividades planteadas, la escritura en conjunto con el Dr Fernández y la corrección del manuscrito

7.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION. *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo, indicando el lugar al que han sido enviados. Adjuntar copia de los manuscritos.*

7.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION.

Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo.

Genetic characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O130:H11 and O178:H19 isolated from dairy cows

Fernández, D.1; Krüger, A.; Polifroni, R; Bustamante A. V.; Sanso, A. M.; Lucchesi, P. M. A.; Etcheverría, A, Parma, A. E.; Padola, N. L.

In the present study, we characterized O130:H11 and O178:H19 STEC isolates from different farms regarding to stx subtypes, presence of sab gene and MLVA typing, in order to evaluate the genetic diversity of isolates belonging to these serotypes which are prevalent in dairy cattle. A total of 37 and 25 STEC isolates belonging to O130:H11 and O178:H19 serotypes were studied. All strains demonstrated cytotoxic effect after 48 h post-inoculation in Vero cells and most of the isolates carried only one subtype of sxt2.

Among 36 stx2-positive O130:H11 isolates, stx2EDL933 was the predominant subtype (83%). On the other hand, the most frequent sxt2 subtype among O178:H19 isolates was stx2vha (72%), while the stx2EDL933 and stx2vhb subtypes were found less frequently (20 and 8%, respectively). The sab gene was detected in 65% and 28% of the O130:H11 and O178:H19 isolates, respectively. To our knowledge this is the first time that STEC O130:H11 is typed by MLVA. Notably, only one MLVA profile was detected among the studied isolates. The lack of diversity found in this serotype could be indicating that it is an emergent serotype. Among the 25 O178:H19 strains, ten MLVA profiles were detected, 6 of them being unique.

7.5 COMUNICACIONES. *Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).*

2009 R Polifroni, D Fernández, AI Etcheverría, NL Padola, AE Parma. Geno-Phenotypic Characterization Of Genes Involved In Expression of Curli Fimbriae In Vtec (Verocytotoxigenic *Escherichia Coli*) Isolated From Dairy Farm's Environment And Cattle. VTEC 2009 Buenos Aires, 7th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections. May 10-13 2009

2009 AV Bustamante, AM Sanso, D Fernández, NL Padola, PMA Lucchesi, AE Parma Genetic Diversity of Verocytotoxigenic *Escherichia coli* O178:H19 Isolated from Dairy Farms in Argentina. VTEC 2009 Buenos Aires, 7th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections. May 10-13 2009

MZ Alonso, NL Padola, PMA Lucchesi, AE Parma. Detection of Verocytotoxigenic *Escherichia coli* (Vtec) and Enteropathogenic *Escherichia coli* (Epec) Virulence Genes in Chicken Products. VTEC 2009 Buenos Aires, 7th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections. Pág 68. May 10-13 2009

R Polifroni, ME Sanz, MC Villalobo, L Elichiribehety, A Taraborelli, JA Passucci, EM Rodríguez, MD Díaz, D Civit, A Krüger, AI Etcheverría, NL Padola, M Ballerio, AE Parma Detection of Meat Contamination with VTEC in the Marketing chain of Beef in Argentina VTEC 2009 Buenos Aires, 7th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections. May 10-13 2009

R Polifroni, GH Arroyo, AI Etcheverría, NL Padola, AE Parma. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Water of Animal-Drinking Troughs in Dairy Farm. VTEC 2009

Buenos Aires, 7th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing Escherichia coli Infections. May 10-13 2009

D Fernández, A Krüger, ME Sanz, R Polifroni, GH Arroyo, PMA Lucchesi, NL Padola, AE Parma Characterization of Verocytotoxin-Producing Escherichia coli O178:H19, The Serotype prevalently isolated From Dairy Farms in Argentina VTEC 2009 Buenos Aires, 7th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing Escherichia coli Infections. May 10-13 2009

D Fernández, ME Sanz, NL Padola, AE Parma Virulence genes and Serotypes of Verocytotoxin Producing Escherichia coli isolated from dairy cows in Argentina VTEC 2009 Buenos Aires, 7th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing Escherichia coli Infections. May 10-13 2009

AI Etcheverría, GH Arroyo, NL Padola, AE Parma. Comparison of adhesion and invasion of VTEC (Verocytotoxigenic Escherichia coli) O157:H7 and O91:H21 in two Lines of cultured cells. VTEC 2009 Buenos Aires, 7th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing Escherichia coli Infections. May 10-13 2009

2010 Fernández, D, Padola, N. L., Parma, A. E. Detección de Escherichia coli Verocitotoxigénica (VTEC) en terneros recién nacidos en dos temporadas de Parición. Pág 116, P242 Revista Argentina de Microbiología 2010. XII Congreso Argentino de Microbiología. VI Congreso de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y parasitología clínica (SADEBAC). I Congreso de Microbiología Agrícola y ambiental (DIMAyA) Buenos Aires, 17 al 20 de octubre

Fernández, D; Kruger, A; Bustamante, A. V.; Sanso, A. M.; Polifroni, R.; Sanz M. E.; Arroyo, G. H.; Lucchesi P. A., Padola N. L.; Parma A. E. Caracterización de Escherichia coli verotoxigénica (VTEC) del serotipo O130:H11 aislada de bovinos de tambos de Argentina. Pág 194, P450. Revista Argentina de Microbiología 2010. XII Congreso Argentino de Microbiología. VI Congreso de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y parasitología clínica (SADEBAC). I Congreso de Microbiología Agrícola y ambiental (DIMAyA) Buenos Aires, 17 al 20 de octubre

2010 R. Polifroni, D. Fernández, M. Z. Alonso, A. I. Etcheverría, N. L. Padola y A.E. Parma. Detección del gen sab y su asociación con la formación de biofilm en cepas VTEC de medioambiente de tambo y animales. Pág 127, P271 Revista Argentina de Microbiología 2010 XII Congreso Argentino de Microbiología. VI Congreso de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y parasitología clínica (SADEBAC). I Congreso de Microbiología Agrícola y ambiental (DIMAyA) Buenos Aires, 17 al 20 de octubre

Colello, R.; Etcheverría, A.I.; Padola, N.L.; Parma, A.E. Detección de Escherichia coli verocitotoxigénica en hortalizas de consumo directo. Pág 115 P240 Revista Argentina de Microbiología 2010. XII Congreso Argentino de Microbiología. VI Congreso de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y parasitología clínica (SADEBAC). I Congreso de Microbiología Agrícola y ambiental (DIMAyA) Buenos Aires, 17 al 20 de octubre

Alonso, MZ; Padola, NL; Lucchesi, PMA; Parma, AE. Detección de Escherichia coli enteropatogénico (EPEC) en diferentes etapas del proceso de faena en un establecimiento avícola. Pág 117, P245 Revista Argentina de Microbiología 2010. XII Congreso Argentino de Microbiología. VI Congreso de la Sociedad Argentina de

Bacteriología, Micología y parasitología clínica (SADEBAC). I Congreso de Microbiología Agrícola y ambiental (DIMAyA) Buenos Aires, 17 al 20 de octubre

Alonso, MZ; Irino, K; Sanz, ME; Lucchesi, PMA; Padola, NL; Parma, AE. Serotipos y factores de virulencia de Escherichia coli verocitotoxigénico (VTEC) y enteropatogénico (EPEC) en muestras de pollo. Pág 192, P443 Revista Argentina de Microbiología 2010. XII Congreso Argentino de Microbiología. VI Congreso de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y parasitología clínica (SADEBAC). I Congreso de Microbiología Agrícola y ambiental (DIMAyA) Buenos Aires, 17 al 20 de octubre

Angel Villegas, N; Polifroni, R; Etcheverría, AI; Padola, NL; Parma, AE; Albesa, I; Becerra, MC; Paraje, MG. Factores de virulencia asociados a Escherichia coli productor de toxina shiga. Pág 2, O8 Revista Argentina de Microbiología 2010. XII Congreso Argentino de Microbiología. VI Congreso de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y parasitología clínica (SADEBAC). I Congreso de Microbiología Agrícola y ambiental (DIMAyA) Buenos Aires, 17 al 20 de octubre

2011 Polifroni, R. Fernández, D., Colello, R., Parma, A.E., Etcheverría, A.I. y Padola, N. L. Caracterización fenotípica de cepas VTEC aisladas del medio ambiente de tambos de Argentina. I Congreso Internacional de Zoonosis Y Enfermedades Emergentes Y VII Congreso Argentino De Zoonosis.. Palais Rouge, Buenos Aires. Organizado por Asociación Argentina de Zoonosis.

2011 Alonso, M.Z., Krüger, A., Parma, A.E., Padola, N.L., Lucchesi, P.M.A. Variantes del gen vt2 presentes en cepas de Escherichia verocitotoxigénico aisladas de hamburguesas de pollo. I Congreso Internacional de Zoonosis Y Enfermedades Emergentes Y VII Congreso Argentino De Zoonosis.. Palais Rouge, Buenos Aires. Organizado por Asociación Argentina de Zoonosis.

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. . 7º Jornadas Internacionales de Veterinaria Práctica. Sheraton Hotel - Mar del Plata, 2-3 de septiembre.

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. . 7º Jornadas Internacionales de Veterinaria Práctica. Sheraton Hotel - Mar del Plata, 2-3 de septiembre.

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. 7º Jornadas Internacionales de Veterinaria Práctica. Sheraton Hotel - Mar del Plata, 2-3 de septiembre.

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. 7º Jornadas Internacionales de Veterinaria Práctica. Sheraton Hotel - Mar del Plata, 2-3 de septiembre.

Angel Villegas, N., Arroyo, G., Etcheverría, A.I., Padola, N.L., Parma, A.E., Albasa, I., Becerra, M.C., Paraje, M.G.. Relación entre formación de Biofilms, estrés oxidativo y efecto citotóxico de cepas de Escherichia coli productoras de toxina Shiga. 1º Congreso Bioquímico- Córdoba 2011. Córdoba, 27-29 de octubre.

Trabajos enviados en 2011

2012 Padola, N.L., Etcheverría, A.I., Lucchesi, P.M.A., Krüger, A., Sanz, M.E., Fernández, D., Alonso, M.Z., Polifroni, R., Parma, A.E . Prevalent STEC serotypes isolated from cattle, foods and environment in Argentina VTEC 2012 Amsterdam (Holanda), 8th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing Escherichia coli Infections. May 6-9 2012

Alonso, M.Z.; Parma, A.E; Lucchesi, P.M.A.; Padola, N.L. Detection of verocytotoxigenic (VTEC) and enteropathogenic (EPEC) Escherichia coli virulence genes in chicken and retail products. VTEC 2012 Amsterdam (Holanda), 8th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing Escherichia coli Infections. May 6-9 2012

2012 Lucchesi P.M.A., Krüger A., Padola N.L., Etcheverría A.I., Sanz M.E., Fernández D., Alonso M.Z., Polifroni R., Arroyo G.H., Parma A.E. Differences in virulence genes frequency among VTEC isolates from cattle, foods and environment. VTEC 2012 Amsterdam (Holanda), 8th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing Escherichia coli Infections. May 6-9 2012

Colello; R; Moredo, F.; Etcheverría, A.; Leotta, G.; Parma, A.; Padola; N.. Detection of integrons class 1 and class 2 in STEC strains isolated from pigs. VTEC 2012 Amsterdam (Holanda), 8th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing Escherichia coli Infections. May 6-9 2012

7.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS. *Incluir un listado y acompañar copia en papel de cada uno o referencia de la labor y del lugar de consulta cuando corresponda.*

8. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.

8.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS. *Describir la naturaleza de la innovación o mejora alcanzada, si se trata de una innovación a nivel regional, nacional o internacional, con qué financiamiento se ha realizado, su utilización potencial o actual por parte de empresas u otras entidades, incidencia en el mercado y niveles de facturación del respectivo producto o servicio y toda otra información conducente a demostrar la relevancia de la tecnología desarrollada.*

8.2 PATENTES O EQUIVALENTES. *Indicar los datos del registro, si han sido vendidos o licenciados los derechos y todo otro dato que permita evaluar su relevancia.*

8.3 PROYECTOS POTENCIALMENTE TRANSFERIBLES, NO CONCLUIDOS Y QUE ESTAN EN DESARROLLO. *Describir objetivos perseguidos, breve reseña de la labor realizada y grado de avance. Detallar instituciones, empresas y/o organismos solicitantes.*

8.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES *(desarrollo de equipamientos, montajes de laboratorios, etc.).*

8.5 Sugiera nombres (e informe las direcciones) de las personas de la actividad privada y/o pública que conocen su trabajo y que pueden opinar sobre la relevancia y el impacto económico y/o social de la/s tecnología/s desarrollada/s.

9. SERVICIOS TECNOLÓGICOS. Indicar qué tipo de servicios ha realizado, el grado de complejidad de los mismos, qué porcentaje aproximado de su tiempo le demandan y los montos de facturación.

Desde 2003 soy responsable del Laboratorio de ADN. FCV. UNCPBA (Resolución del HCA N° 153/2003). El Laboratorio de ADN, creado por resolución de HCA N° 116/03 depende de la gestión de la FCV-UNCPBA y realiza servicios para distintas fiscalías en temas referidos a abigeato e identificación genética de animales. Se trabaja por demanda de servicios, por lo que no se puede asegurar un tiempo fijo. El Lab de ADN no factura servicios. Estamos trabajando bajo convenio de colaboración con el IGEVET-UNLP y he sido convocada para dictar conferencias a Fiscales, productores agropecuarios tanto en Argentina como en Paraguay.

10. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:

10.1 DOCENCIA

2008 Cuaderno de protocolos para el curso de post-grado “Detección de Escherichia coli enteropatogénico (EPEC) y verocitotoxigénico (VTEC) en reservorios animales”.

2008. Publicación impresa. Autores: Padola, N.L.; Lucchesi, P.M.A.; Bentancor, A.B.; Pestana de Castro, A.F.; Moura, R

2006-2011 Guía de Trabajos Prácticos de Inmunología Básica, destinada a alumnos de 2º año de la carrera de Veterinaria. La guía consta de 7 trabajos prácticos, contiene también el perfil del curso, los temas de los talleres y consignas de cada taller. Centro de Estudiantes. FCV. UNCPBA.

10.2 DIVULGACIÓN

11. DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES. Indicar nombres de los dirigidos, Instituciones de dependencia, temas de investigación y períodos.

2007 Director Beca Doctoral Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica de Lic. Rosana Polifroni: Detección y caracterización genotípica de VTEC Viables No cultivables y potencialmente formadoras de biofilms en un tambo de la Cuenca Mar y Sierra. FCV-UNICEN. Co-director: MV Analía Etcheverría

2010 Director Beca Posgrado tipo II CONICET de Lic. Rosana Polifroni: Detección y caracterización genotípica de VTEC Viables No cultivables y potencialmente formadoras de biofilms en un tambo de la Cuenca Mar y Sierra. FCV-UNICEN. Co-director: MV Analía Etcheverría

2011 Director Beca Posdoctoral CONICET del Dr Daniel Fernández. El bovino como reservorio de VTEC. Respuesta del huésped a la colonización gastrointestinal por E. coli O157 y no-O157. FCV-UNICEN

2011 Director Beca Posgrado Tipo I CONICET de Lic Rocío Colello. Detección y caracterización molecular de bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos en la cadena productiva porcina. FCV-UNICEN

Co-dirección de becas

- 2006 Co-director Beca Doctoral CONICET de MV Daniel Fernández. “Estudios de la ecología de Escherichia coli verocitotoxigénico en rodeos lecheros de la Cuenca Mar y sierras. Su rol como contaminante de la leche y del medio ambiente. FCV-UNICEN. Director: Dr Alberto Parma
- 2006 Co-director Beca Doctoral de CONICET de MV Mónica Alonso. Caracterización genotípica de Escherichia coli verocitotoxigénica (VTEC) y Escherichia coli enteropatógena (EPEC) aisladas de pollo y alimentos derivados. FCV-UNICEN. Director: Dra Paula Lucchesi
- 2009 Co-director Beca Posgrado tipo II CONICET de MV Daniel Fernández. “Estudios de la ecología de Escherichia coli verocitotoxigénico en rodeos lecheros de la Cuenca Mar y sierras. Su rol como contaminante de la leche y del medio ambiente. FCV-UNICEN. Director: Dr Alberto Parma
- 2010 Co-director Beca Posgrado tipo II CONICET MV Mónica Alonso. Caracterización genotípica de Escherichia coli verocitotoxigénica (VTEC) y Escherichia coli enteropatógena (EPEC) aisladas de pollo y alimentos derivados. FCV-UNICEN. Director: Dra Paula Lucchesi

12. DIRECCION DE TESIS. *Indicar nombres de los dirigidos y temas desarrollados y aclarar si las tesis son de maestría o de doctorado y si están en ejecución o han sido defendidas; en este último caso citar fecha.*

- 2006 Director de la Tesis Doctoral de MV Daniel Fernández. “Estudios de la ecología de Escherichia coli verocitotoxigénico en rodeos lecheros de la Cuenca Mar y sierras. Su rol como contaminante de la leche y del medio ambiente. Doctorado en Ciencia Animal. FCV-UNICEN. Calificación 10/10. Defensa 22 de marzo de 2011.
- 2007 Director Tesis Doctoral MV Mónica Alonso. Caracterización genotípica de Escherichia coli verocitotoxigénica (VTEC) y Escherichia coli enteropatógena (EPEC) aisladas de pollo y alimentos derivados. Doctorado en Ciencia Animal. FCV-UNICEN. Fecha de defensa: junio de 2012
- 2008 Director de la Tesis Doctoral de Lic Rosana Polifroni. Detección y caracterización genotípica de Escherichia coli verocitotoxigénico (VTEC) viables no cultivables (VNC) y potencialmente formadoras de biofilms en muestras de medio ambiente de tambo. “Doctorado en Ciencia Animal. FCV-UNICEN. Defensa de Tesis: junio de 2012
- 2011 Codirector Tesis Doctoral de Lic Rocío Colello. Detección y caracterización molecular de bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos en la cadena productiva porcina. Doctorado en Ciencia Animal. FCV-UNICEN. Fecha primer seminario: junio 2012.

13. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS. *Indicar la denominación, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo, títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas y autores de los mismos.*

Las 26 comunicaciones a Congresos se informaron en el punto 7.5

- 2009 1º Jornadas pediátricas de Tandil.

Clase: Avances en la investigación del agente etiológico.. Tandil, 26 al 28 de marzo

2009 1º Jornadas de Actualización de Antropozoonosis.

Clase: Escherichia coli O157 y no-O157. Situación epidemiológica.

Organizado por Colegio Veterinarios de Olavarría- 17-18 de abril. Primera Jornada Regional de Síndrome Urémico Hemolítico. Organizado por: APRESUH.. Disertante con el tema: Escherichia coli O157 y no-O157. Situación epidemiológica. Bahía Blanca, 15 de octubre.

14. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC. *Señalar características del curso o motivo del viaje, período, instituciones visitadas, etc.*

Invitación de la Directora del Laboratorio del Instituto de Ciencias de la Salud, Asunción, Paraguay, para dictar dos conferencias: una para Fiscales de justicia: Aplicación de las Técnicas de Biología Molecular a la Medicina Forense. y otra para Productores Agropecuarios sobre El rol del Laboratorio de ADN en la resolución de casos de Abigeato.2010. Visité el Insituto de Ciencias de la Salud y la Facultad de Veterinaras de Asunción.

2012. Viaje a Amsterdam, Holanda al Congreso VTEC y reunión con el coordinador del Grupo LACER, del cual soy miembro

15. SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO. *Indicar institución otorgante, fines de los mismos y montos recibidos.*

2007 Programa de Promoción de la Universidad Argentina. Proyecto “Promoción de una red para el estudio epidemiológico de reservorios de cepas (VTEC) causante del Síndrome (SUH)” (en red junto con la Universidad de Buenos Aires y la Universidad de San Pablo, Brasil). UNCPBA. \$30000

PICT 2005 Cod. 38059. Estudio de la ecología de Escherichia coli verocitotoxigénico (VTEC) en bovinos lecheros de la Cuenca Lechera Mar y Sierras. Su rol como contaminante de la leche y medio ambiente. Adjudicado

FONCyT. Finalización abril 2010. \$280000

Responsables: Dr. Alberto E. Parma- Dra. Nora Lía Padola

2009 03/H224. Escherichia coli verocitotoxigenico

01-01-09 al 31/12/11

Director: A.E. Parma

Codirectores: P.M.A. Lucchesi y NL Padola

2011 PICT-2010-1655. Estudio comparativo de Escherichia coli verocitotoxigénicos (VTEC) en reservorios, alimentos y humanos. Adjudicado

FONCyT. Responsables: Dr Alberto Parma-Dra Nora Lía Padola \$320000

PICTO CIN II Prevención de Enfermedades Transmitidas por Alimentos: determinación de la calidad microbiológica y aislamiento de Salmonella sp Escherichia coli O157:H7 y no-O157 en carne picada fresca destinada a consumo minorista PICTO-2010-0082.

Responsable Dr G. Leotta., Nora Lía Padola, Analía Etcheverría. \$ 200000

Escherichia coli verocitotoxigenico

01-01-012 al 31/12/14

Director: Nora Lía Padola Codirector: Analía Etcheverría

2011 Subsidios Institucional para Investigadores CIC. Resolución N° 1535/10. CIC-PBA\$3600

.2012Subsidios Institucional para Investigadores CIC. Resolución N° 2410/12 . CIC-PBA \$5600

Subsidio para Asistencia de Reuniones Científicas y Tecnológicas.“VTEC 2012 - 8th International Symposium on Shiga toxin (Verocytotoxin) producing Escherichia coli Infections”.- Acta N° 1352. CIC-PBA \$7500

16. OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO. *Describir la naturaleza de los contratos con empresas y/o organismos públicos.*

17. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.

2011 Mención en el Area de Microbiología, considerando el significativo aporte a las Ciencias Veterinarias y la claridad de su transmisión a través de la modalidad póster al trabajo: Detección de genes de VTEC en muestras de carne provenientes de la ciudad de Nogoyá, Entre Ríos, Argentina. Alonso, Mónica; Colello, Rocío; Etcheverría, Analía; Zárate, Juan; López, Alejandro; Padola, Nora; Parma, Alberto. 7 Jornadas Internacionales de Veterinaria Práctica. Sheraton Hotel - Mar del Plata,

2011 Invitación para ser Reviewer of Editorial Board of Frontiers in Livestock Genomics, a specialty of Frontiers in Genetics.

2011 Designación of Guest Associate Editor of Topic Research Shiga toxin-producing Escherichia coli in human, cattle and foods. Strategies for detection and control. Journal Frontiers in Cellular and Infection Microbiology

Reviewer for African Journal of Microbiology Research (AJMR)

18. ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA. *Indicar las principales gestiones realizadas durante el período y porcentaje aproximado de su tiempo que ha utilizado.*

2011-2013- Jefe de Departamento SAMP-FCV-UNCPBA.

2010-y sigo Miembro de LACER (Latin American Coalition for Escherichia coli Research)

2011 y sigo Miembro del Comité Académico de la Especialización en Seguridad Alimentaria. Facultad de Ciencias Veterinarias-UNLP.

19. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO. *Indicar el porcentaje aproximado de su tiempo que le han demandado.*

curso Inmunología Básica- cuatrimestral (2° año de la Carrera de Medicina Veterinaria)

Curso Inmunología Especial -Bimestral (4° año de la Carrera Medicina Veterinaria)

Estos cursos se dictan durante el primer cuatrimestre, dedicándole el 25% aproximadamente de mi tiempo.
(11 h/ semana)

2010 Curso de Biotecnología Molecular, para el Doctorado en Ciencia Animal. (Categ. A, CONEAU). RHCA 101/01. 01/10/2001. Este curso es obligatorio del Doctorado en Ciencia Animal y se dicta cada dos años.

Clases dictadas: Aplicaciones de la biología molecular en las prácticas forenses. Determinación de perfiles genéticos en bovinos. Aplicaciones en Producción Animal.

Sistema Inmunitario y Vacunas recombinantes Coordinador: Dr. Alberto E. Parma.
Dra Paula Lucchesi

20. 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.*

2010 Evaluadora interna Tesis Doctoral del Doctorado en Ciencia Animal de Fernando Shimizu "Genotipificación de cepas de M. Boris, su relación con el grado de lesión y la presencia de genes de resistencia en bovinos". 7 de setiembre de 2010. FCV-UNCPBA

2010 Jurado de Tesis Doctoral de la Med. Vet. Victoria Brusa para optar al Título de Doctor en Ciencias Veterinarias de la Universidad de La Plata

2010 Jurado de la Tesis de Maestría de Raquel Pedrozo. Posgrado de Maestría y Doctorado en Ciencias Biomédicas (PCB). Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS) de la Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

2011 Jurado de Tesis Doctoral de Daniel E. Goszczynski para optar al Título de Doctor en Ciencias Veterinarias de la Universidad de La Plata. Título: CARACTERIZACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS PRESENTES EN LOS GENES BOVINOS PPARG, C/EBP α , LIPE Y RXR α INVOLUCRADOS EN EL METABOLISMO LIPÍDICO EN DIFERENTES RAZAS BOVINAS.

2011 Evaluadora interna Tesis Doctoral del Doctorado en Ciencia Animal de Laura Moreno. Respuesta inmunitaria al virus de la leucosis bovina (BLV) en animales con resistencia natural a la diseminación viral. FCV-UNCPBA

7.d.3 Evaluador de artículos científicos, técnicos y de presentaciones en reuniones científicas

2009 Evaluador de artículo científico (Número de referencia Ref. 09/033) para el Comité Editorial de la Revista Argentina de Microbiología.

2009 Evaluador de artículo científico (Número de referencia Ref FOOD-D-09-00410.) para el Comité Editorial de International Journal of Food Microbiology.

2009 Evaluador de artículo científico (Número de referencia Ref FOOD-D-09-00653.) para el Comité Editorial de International Journal of Food Microbiology.

2009 Evaluador de artículo científico (Número de referencia Ref FOOD-D-09-01015.) para el Comité Editorial de International Journal of Food Microbiology.

2010 Evaluador de artículo científico (Número de referencia Ref. 10/014) para el Comité Editorial de la Revista Argentina de Microbiología

2010 Evaluador de artículo científico (Número de referencia JVS-10-133) para el Comité Editorial de Journal of Veterinary Science

2010 Evaluador de artículo científico (Número de referencia Ref FOOD-D-10-00788.) para el Comité Editorial de Internacional Journal of Food Microbiology

2011 Evaluador del Manuscript ID: JVS-11-123 para Comité Editorial de Journal of Veterinary Science

2011 Evaluador de Manuscript para Journal Frontiers in Livestock Genomics

21. TITULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO. *Desarrollar en no más de 3 páginas. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

CICLO ECOLOGICO DE ESCHERICHIA COLI VEROCITOTOXIGÉNICO: RESERVORIOS, MEDIO AMBIENTE Y ALIMENTOS

Director: Padola, Nora Lía Prof. Adjunto Iqca y Biotcnol- Invest Adj CIC-PBA

Codirector: Etcheverría, Analía Prof. Adjunto Iqca y Biotcnol- CIC

Hemos demostrado que en Argentina los serotipos VTEC están ampliamente distribuidos entre los bovinos. El conocimiento de cómo actúan estas cepas en los animales, principalmente aquellas EHEC no-O157 de las que no hay investigaciones realizadas, permitirá ver qué factores intervienen en la colonización en el ganado. Dada la severidad de los síntomas y la frecuencia de secuelas renales y neurológicas, el SUH tiene un gran impacto social y existe una importante demanda para el desarrollo de un tratamiento o de estrategias de prevención. La disminución del riesgo de la transmisión de este patógeno humano contribuirá a evitar los altísimos costos económicos que conlleva la atención y tratamiento de los niños afectados y que es de aproximadamente 7 millones de pesos (datos correspondientes a 300 casos en el 2005). Actualmente, el Ministerio de Salud ha informado que cada año se producen más de 400 casos nuevos. Este proyecto contempla la investigación sobre aspectos integrales y específicos de la epidemiología de VTEC en animales. Los estudios en bovinos y pollos acerca de la colonización, y rol de la toxina en la patogenia del bovino permitirá elaborar estrategias para intervenir en una de las etapas de la cadena epidemiológica y así disminuir la transmisión de estos patógenos al hombre, disminuyendo de esta manera la posibilidad de contraer la enfermedad al ingerir alimentos contaminados.

Objetivos

-General: Estudiar factores ecológicos en cepas VTEC aisladas de reservorios, medio ambiente y alimentos, que influyan en la colonización de los animales, en la supervivencia en el medio ambiente formando biofilms o bajo formas de estrés y en la contaminación a lo largo de distintos puntos de la cadena de producción-comercialización. Este objetivo permitirá generar estrategias de prevención para disminuir los riesgos en la salud pública.

-Específicos:

- Determinar la presencia de Escherichia coli O157 y no-O157 en cerdos en las distintas etapas de producción y en el producto final a nivel de boca de expendio minorista,
- Determinar por PCR factores de adherencia y colonización en cepas VTEC aisladas de bovinos, pollos, porcinos, medio ambiente y alimentos.
- Determinar en las bacterias aisladas y sometidas a diferentes tipos de estrés, la capacidad potencial de formar biofilms.
- Caracterizar las cepas aisladas por la presencia de genes de resistencia a antimicrobianos de importancia en salud pública.
- Estudiar la viabilidad y persistencia de VTEC en muestras de agua y materia fecal mediante estudios in vitro.
- Evaluar la eliminación intermitente en bovinos de distintos sistemas de producción.
- Estudiar la adherencia de las cepas seleccionadas (O157:H7 y no-O157) y de verocitotoxinas purificadas a explantos de distintas regiones de intestino bovino y de pollos.

La selección de las cepas se realizará teniendo en cuenta los factores de virulencia y de colonización.

- Determinar la presencia de anticuerpos con actividad neutralizante anti soma bacteriano y anti-verocitotoxina en suero de bovinos naturalmente infectados con VTEC.

Para cumplir con los objetivos:

- 1) Determinar la presencia de *Escherichia coli* O157 y no-O157 en cerdos en las distintas etapas de producción y en el producto final a nivel de boca de expendio minorista.

Se tomarán muestras en:

- Criadero: materia fecal por hisopado rectal para cada una de las categorías, instalaciones: 50 ml de agua de bebederos, 25 g del alimento de los comederos
- Frigorífico: Se tomarán muestras mediante hisopados de medias reses e instalaciones (bandejas, cuchillos, mesadas) 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).
- Boca de expendio: Se tomarán muestras de hisopos de instalaciones, utensilios, cortes de carne fresca y productos finales como por ejemplo embutidos secos 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).

Metodología

Se utilizará PCR para realizar un tamizaje de vt a partir de la zona confluyente de los cultivos bacterianos. A las muestras vt positivas se les realizará PCR para detectar el gen *eae* específico de *E. coli* O157 y a las positivas a este factor, se les realizará separación inmunomagnética para aislar *E. coli* O157. De esta manera, no se ejercerá presión de selección, pues de las muestras vt positivas pero negativas a O157, se podrán aislar serotipos no-O157 (Padola y cols., 2002; 2004; Parma y cols., 1996; 2000; Sanz y cols., 1998). Los factores de virulencia (vt1, vt2, *eae*, *saa*, *ehxA*) de los aislamientos se determinarán utilizando PCR multiplex (Paton y Paton, 2002) y luego se serotificarán mediante las técnicas de aglutinación en placa mediante el empleo de antiseros O específicos y aglutinación en tubo para antígeno H.

- 2) Determinar por PCR factores de adherencia y colonización en cepas VTEC aisladas de bovinos, pollos, porcinos, medio ambiente y alimentos.

Se analizarán las cepas VTEC aisladas y caracterizadas previamente para poner a punto las técnicas de PCR que permitan detectar genes codificantes de adhesinas putativas (*lpf*, *lifA*, *iha*) y para adhesinas fimbriales y afimbriales (*afa* 8, F17, *cs31A*) según Szalo y cols. (2002), *Efa* 1 según Stevens y cols. (2002), *Sab* según Herold y cols. (2009), *AIDA* (*aah* y *AIDA-I*) (Nierwerth y cols., 2001), *fim*, *agn43* y *agn43 EDL933* (Brandt et al., 2011 y Biscola et al., 2011).

- 3) Determinar en las bacterias aisladas y sometidas a diferentes tipos de estrés, la capacidad potencial de formar biofilms

En las VTEC aisladas se detectará la presencia de la fimbria curli mediante la implementación y puesta a punto de una reacción de PCR para detectar los genes que codifican proteínas para las subunidades de curlina (*csgA*) y el regulador transcripcional (*csgD*) y del regulador indirecto de la expresión de *csgA* (*crl*). Debido a que es importante no sólo detectar los genes codificantes de la fimbria involucrada en la formación de biofilms, sino también evaluar su producción, se utilizará una metodología basada en el cultivo de las cepas en agar Luria Bertani modificado (sin NaCl) suplementado con rojo Congo y azul brillante G de Coomassie. Los resultados se basan en el análisis visual de las placas incubadas a 37° C durante 24 hs. y a 28° C por 5 días. Un resultado positivo se da cuando la colonia bacteriana presenta una coloración rosada, violácea o roja (+, ++, +++). Se interpreta un resultado como negativo cuando la colonia permanece blanca (-) (Bokranz y cols., 2005; Robbe-Saule y cols., 2006; Ryu y Beuchat, 2005). Posteriormente, se reproducirán biofilms sobre superficies inertes como placas de poliestireno, utilizando la técnica desarrollada por Robbe-Saule y cols., 2006 y Ulrich y cols., 2006). Para evaluar la formación de biofilms bajo distintas condiciones de estrés, se seleccionarán 30 cepas no-O157 y 5 O157 que se someterán a diferentes condiciones de acidez (pH ácido y pH básico) y estrés térmico (5°C y 54°C) (Molina et al.; 2003) para evaluar la expresión de la fimbria curli mediante placas de

Rojo Congo y la posterior producción de biofilm en placas de poliestireno. Este ensayo se realizará por triplicado y en eventos independientes para cada una de las cepas seleccionadas y para cada situación de estrés.

- 4) Caracterizar las cepas aisladas por la presencia de genes de resistencia a antimicrobianos de importancia en salud pública.

En las cepas VTEC aisladas se detectará la presencia de los integrones mediante la implementación y puesta a punto de una reacción de PCR para detectar los genes de los integrones de clase 1 (intl1), clase 2 (intl2), clase 3 (intl3) según metodología descrita por Rosser et al. (1999), Oman et al. (2002), Shibata et al. (2003), respectivamente.

- 5) Estudiar la viabilidad y persistencia de VTEC en muestras de agua y materia fecal mediante estudios in vitro.

Se inoculará agua de bebederos de animales previamente autoclavada con E. coli O157:H7 resistente a ácido nalidíxico (50µg/ml) a una concentración final de 10³ UFC ml⁻¹ y en otra matriz con una cepa VTEC no-O157 también resistente a ácido nalidíxico. El mismo procedimiento se realizará con muestras de materia fecal bovina (negativas a VTEC)

Se tomarán muestras a intervalos regulares y se realizarán:

- Conteo de viabilidad mediante el recuento en placas a partir de diluciones estándares en Agar MacConkey sorbitol con ácido nalidíxico.
 - Detección de bacterias totales y bacterias viables mediante la utilización del kit Live/Dead BacLight Bacterial Viability Test (Invitrogen). Este kit permite distinguir bacterias con su membrana intacta (coloración verde) de aquellas bacterias que tienen su membrana dañada (coloración roja).
 - Determinación de la recuperación mediante la siembra en placas de agar Luria Bertani modificado con 0,1% de piruvato de sodio (m/m) (Mizunoe y cols., 1999). Este reactivo permite a las bacterias estresadas recuperar su condición de crecer en medios de cultivo. Si bien los resultados de otros investigadores son controvertidos, consideramos útil la información que esta técnica aporta.
- PCR directo en simultáneo con PCR previo enriquecimiento de la muestra.

- 6) Evaluar la eliminación intermitente en bovinos de distintos sistemas de producción.

Se tomarán muestras cada 15 días a animales de distinto sistema productivo (feedlot, tambo y pastoreo) y se utilizará la metodología descrita en el punto 1.

- 7) Estudiar la adherencia de las cepas seleccionadas (O157:H7 y no-O157) y de verocitotoxinas purificadas a explantos de distintas regiones de intestino bovino y de pollos.

Determinar la presencia de anticuerpos anti soma bacteriano y anti-verocitotoxina en suero de bovinos naturalmente infectados con VTEC. Para el estudio de la interacción de VTEC con células intestinales se utilizará la técnica gold estándar de adherencia a explantos bovinos según Baehler y cols (2000) y Girard y cols. (2007). Se utilizará para cada cepa (O157 y no-O157) el anticuerpo primario serotipo-específico y se realizará la técnica de peroxidasa antiperoxidasa, utilizando un segundo anticuerpo anti-conejo marcado (Alzola y cols., 2004). Este mismo ensayo se realizará con 35 sueros de bovinos naturalmente infectados que fueron detectados por PCR como positivos a distintos serotipos de VTEC (Padola y cols, 2004). Los sueros corresponden a animales que habían sido detectados positivos a uno o más serotipos en 10 muestreos previos y animales que siempre fueron negativos. Para determinar la presencia y localización de la verocitotoxina en los explantos se utilizará una técnica de inmunohistoquímica, utilizando la subunidad B de VT2 purificada y en un ensayo paralelo la toxina VT2 completa clonada. Se revelará ambas presencias con anticuerpos monoclonales anti VT2. La presencia de anticuerpos antitoxina en suero de animales naturalmente infectados se realizará utilizando la técnica anteriormente descrita utilizando un segundo anticuerpo marcado.

Condiciones de la 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 Investigador, la que deberá incluir:
- Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 21).
 - Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, en otra carpeta o caja, en cuyo rótulo se consignará el apellido y nombres del investigador y la leyenda "Informe Científico Período".
 - Informe del Director de tareas (en los casos que corresponda), en sobre cerrado.
- B. Envío por correo electrónico:
- Se deberá remitir por correo electrónico a la siguiente dirección: ininvest@cic.qba.gov.ar (puntos 1 al 21), en formato .doc zipeado, configurado para papel A-4 y libre de virus.
 - En el mismo correo electrónico referido en el punto a), se deberá incluir como un segundo documento un currículum resumido (no más de dos páginas A4), consignando apellido y nombres, disciplina de investigación, trabajos publicados en el período informado (con las direcciones de Internet de las respectivas revistas) y un resumen del proyecto de investigación en no más de 250 palabras, incluyendo palabras clave.

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