

# Estancias Doctorales - Programa Fortalecimiento de Doctorados UNCPBA

La Secretaría Académica y la Secretaría de Ciencia, Arte y Tecnología obtuvieron, en el marco del Programa de Calidad Universitaria 2023, financiamiento para consolidar programas de doctorado estratégicos. Dicho financiamiento debe destinarse a desarrollar y consolidar programas de doctorado en áreas estratégicas, alineados con las prioridades del Plan Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación 2030, que generen conocimiento de vanguardia y contribuyan al desarrollo científico y tecnológico de la región y del país.

En dicho marco se otorgarán becas destinadas a facilitar visitas o estancias de investigación que sean fundamentales para el avance de la tesis doctoral, en equipos de trabajo distintos al equipo del postulante y dando prioridad a equipos externos a la UNCPBA. Los postulantes deberán ser estudiantes avanzados de Carreras de Doctorado de la UNCPBA.

## 1. Requisitos:

- o Ser estudiante de un doctorado de la UNCPBA con proyecto de tesis enmarcado en un área estratégica, alineado con las prioridades del Plan Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación 2030).
- o El postulante deberá ser un estudiante avanzado, entendiéndose como tal, aquel que ya cuenta con un 60% de los créditos requeridos en su carrera.
- o Solicitar financiamiento para una visita o estancia en un equipo de trabajo distinto al de pertenencia del postulante y prioritariamente externo a la UNCPBA.

Monto a financiar: hasta \$900.000 por estancia dependiendo de los gastos de traslado en que deba incurrir el postulante.

## Presentaciones:

- Se aceptarán postulaciones hasta el 28 de febrero de 2025.
- Aplicar a través del [formulario WEB](#) donde encontrarán más detalles e instrucciones. En dicho formulario se requerirá adjuntar:
  - o Un certificado analítico donde se pueda comprobar el avance en la trayectoria doctoral y donde conste que ha cumplido con todos los cursos necesarios.
  - o De manera no excluyente, un borrador de la tesis que será analizado por una comisión ad-hoc.
  - o Una carta del estudiante donde justifica la visita, el impacto de la misma en su carrera doctoral y se compromete finalizar su tesis en un plazo razonable que deberá indicar. Esta carta deberá estar avalada por su director de tesis, reconociendo la factibilidad de lo mencionado por su dirigido. También deberá avalarla el director de la carrera quien indicará que los plazos mencionados son coherentes.
  - o Una carta de invitación y acuerdo con la estancia del equipo de trabajo donde se desarrollará la estancia de investigación.

Correo \*

Nombre y Apellido \*

Carrera de doctorado \*

Facultad \*

 Dropdown

Indique y describa el equipo de trabajo de acogida \*

El equipo de trabajo de acogida esta integrado por la Dra. Virginia Albarracin, responsable del Centro Integral de Microscopía Electrónica (CIME – CONICET/UNT) y su equipo de técnicos en la ciudad de Yerba Buena, Tucumán.

El Centro Integral de Microscopía Electrónica (CIME) constituye un instituto pionero en Microscopía en Argentina fundado en 1982 en colaboración con la UNT y el CONICET, siendo actualmente uno de los servicios centrales del CCT- CONICET NOA Sur. Su misión es obtener conocimiento en el campo de la microscopía para desarrollar métodos propios, formar recursos humanos especializados y ofrecer mejores servicios a sus usuarios tanto aquellos integrantes del sistema científico-académico como aquellos pertenecientes a los sectores sociales y productivos de la Región. El CIME cuenta con dos microscopios de barrido, y dos microscopios de transmisión. El CIME forma parte del Sistema Nacional de Microscopía (SNM) del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva.

Explique la importancia de la estadía para la finalización de su tesis \*

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) es un importante patógeno emergente asociado a enfermedades transmitidas por alimentos, responsable de cuadros como diarrea, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (SUH). Este último es una afección severa que afecta principalmente a niños menores de 5 años y que, en Argentina, presenta la mayor incidencia a nivel mundial.

Una estrategia prometedora para el control de este patógeno es el uso de bacteriófagos nativos, capaces de eliminar selectivamente a STEC en distintas etapas de la producción e industrialización de alimentos. Sin embargo, para su desarrollo y optimización es importante conocer en detalle la estructura de los bacteriófagos que se seleccionen y su mecanismo de interacción con el hospedador. En el desarrollo de mi proyecto doctoral, he aislado bacteriófagos y seleccionado algunos candidatos como agentes para biocontrol de STEC.

En este contexto, el presente proyecto tiene como objetivo adquirir formación en microscopía electrónica de transmisión (TEM) y de barrido (SEM) para la caracterización estructural de bacteriófagos nativos activos contra STEC y su interacción con la membrana del hospedador. A través de esta capacitación, será posible obtener imágenes detalladas de los fagos, analizar su mecanismo de adsorción y evaluar su efecto sobre la integridad celular, lo que aportará información clave para su potencial aplicación en estrategias de biocontrol en alimentos.

Para ello, propongo llevar a cabo una estancia en el Centro Integral de Microscopía Electrónica (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - Universidad Nacional de Tucumán), un laboratorio con amplia trayectoria en el uso de técnicas de microscopía electrónica. La Dra. Albarracín, responsable del Centro, cuenta con una extensa experiencia en la aplicación de TEM y SEM, incluyendo su uso en la caracterización de bacteriófagos, lo que garantiza la adquisición de un entrenamiento de alto nivel con esta beca.

Realizaré la preparación de muestras para microscopía con suspensiones de los bacteriófagos seleccionados de mi tesis doctoral, así como con cultivos de STEC infectados con ellos para analizar las interacciones fago-hospedador. Las imágenes obtenidas permitirán evaluar la morfología viral, la adsorción de los fagos en la superficie celular y las posibles alteraciones estructurales en la membrana bacteriana.

Esta estancia constituye un paso fundamental para la finalización de mi tesis doctoral, cuyo objetivo es el desarrollo de alternativas biotecnológicas para reducir la presencia de STEC en la producción e industrialización de alimentos. La caracterización de los fagos mediante microscopía electrónica permitirá profundizar en su mecanismo de acción, favoreciendo la selección y optimización de candidatos para su aplicación en seguridad alimentaria. Además, la formación adquirida fortalecerá las capacidades del grupo de investigación, permitiendo la implementación de estas técnicas en estudios futuros y promoviendo colaboraciones con centros de microscopía de referencia.

En este marco, las actividades contempladas en la estancia incluyen capacitación en TEM y SEM, preparación de muestras, adquisición de imágenes y análisis de los resultados obtenidos.

La caracterización de los bacteriófagos nativos activos contra STEC mediante microscopía electrónica representa un paso esencial para validar su potencial como estrategia de control de patógenos en alimentos. Esta formación no solo contribuirá a la finalización de mi tesis, sino que también abrirá nuevas posibilidades para la aplicación de estos enfoques en seguridad alimentaria y biotecnología.

### Alineamiento con el Plan Estratégico 2030 \*

Indique con los desafíos relacionados con la temática del curso.

- Erradicar la pobreza y reducir la desigualdad y la vulnerabilidad socioambiental
- Impulsar la bioeconomía y la biotecnología para incrementar la producción sostenible y alcanzar la soberanía alimentaria.
- Contribuir al diseño de políticas para fortalecer la democracia y ampliar los derechos ciudadanos
- Construir una educación inclusiva y de calidad para el desarrollo nacional
- Lograr una salud accesible, equitativa y de calidad
- Desarrollar los sectores espacial, aeronáutico, de las telecomunicaciones y de la industria
- Fortalecer la investigación marítima, la soberanía y el uso sostenible de los bienes del Mar Argentino
- Promover la industria informática y de las tecnologías de la información para la innovación productiva y la transformación digital
- Potenciar la transición al desarrollo sostenible
- Fomentar y consolidar un sendero para la transición energética

Objetivos de desarrollo sostenible \*

Indique los ODS relacionados



- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15
- 16

Justifique la inserción de la temática de sus investigaciones en un área estratégica alineada con las prioridades del Plan Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación 2030. Mencione los ODS relacionados. \*

La caracterización estructural y funcional de bacteriófagos nativos con actividad contra Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) y de barrido (SEM) que se realizará en esta propuesta representa una estrategia alineada los objetivos del Plan Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación 2030. Se encuentra incluida dentro del objetivo de generación y ampliación del conocimiento para la innovación productiva, el desarrollo productivo y apunta a resolver un problema de la sociedad como es el Síndrome Urémico Hemolítico, de alta incidencia en niños de nuestro país y que constituye una grave enfermedad transmitida por los alimentos. Consideramos por lo tanto que esta propuesta se enmarca dentro del ODS Industria, Innovación, Infraestructura así como en el de Salud y Bienestar.

Adjunte su CV en pdf \*

 Curriculum vitae ...

 Añadir archivo

Adjunte Certificado Analítico \*

 Certificado analít...

 Añadir archivo

Adjunte Programa del Doctorado \*

 REGLAMENTO D...

 Añadir archivo

Adjunte carta del postulante donde justifica la visita, el impacto de la misma en su carrera doctoral y se compromete finalizar su tesis en un plazo razonable que deberá indicar explícitamente. Esta carta deberá estar avalada por su director de tesis, reconociendo la factibilidad de lo mencionado por su dirigido. También deberá avalarla el director de la carrera quien indicará que los plazos mencionados son coherentes. \*

[Ver modelo](#)

 Compromiso doc...

 Añadir archivo

Borrador de tesis: en el caso de tener la tesis en estado avanzado, adjunte una versión pdf.

 BORRADOR TESI...

 Añadir archivo

Adjunte carta de invitación del equipo de trabajo a visitar (pdf). \*

 Carta de Acepta...

 Añadir archivo

Este formulario se creó fuera de tu dominio.

Google Formularios

## Curriculum Vitae

### Datos personales – Identificación

Apellido y Nombres: Juarez, Ana Elisa

Número de documento: 39341934

Edad: 28 años

Sexo: Femenino

Estado civil: Soltera

CUIT-CUIL- 27-39341934-8

Fecha de Nacimiento: 23 de mayo de 1996

### Datos personales – Dirección Residencial

Nacionalidad: Argentina

Provincia: Buenos Aires

Localidad: Tandil

Dirección: Beretervide 1457

Código postal: 7000

Teléfono celular: 249 4504572

E-mail: [anajtandil@yahoo.com.ar](mailto:anajtandil@yahoo.com.ar) (Personal) [anajuarez@vet.unicen.edu.ar](mailto:anajuarez@vet.unicen.edu.ar) (Laboral)

### Datos personales – Lugar de Trabajo

Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN). Departamento Sanidad Animal y Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Paraje Arroyo Seco S/Nº, Campus Universitario, Tandil. Argentina.

### Formación

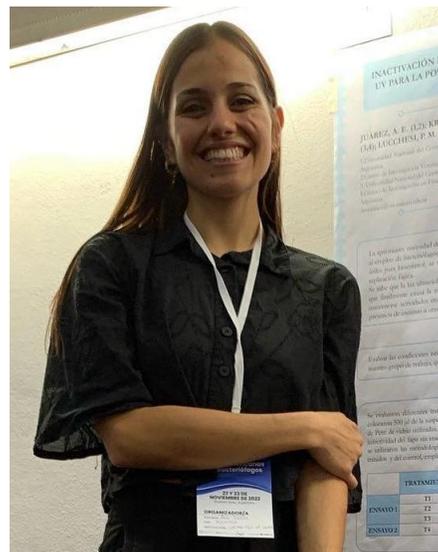
#### FORMACION ACADÉMICA- Nivel Universitario de Grado:

**Título:** Licenciada en Tecnología de los Alimentos

**Fecha de inicio:** 02- 2014

**Fecha de egreso:** 10- 2019

**Institución otorgante del título:** Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.



**Título de la tesis:** "Plan de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP) para Ricotta semigrasa". Director: Civit, D; Codirector: Barba, F.

**Promedio:** (único, sin aplazos): 8.30

#### **FORMACIÓN ACADÉMICA- Nivel Universitario de Posgrado:**

**Posgrado en realización:** Doctorado en Ciencia Animal (**Categorizado "A" por la CONEAU N°235/2008**).

**Fecha de admisión:** 12-2021.

**Institución:** Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.

**Tema de Tesis Doctoral:** "Bacteriófagos nativos para el desarrollo de estrategias de control de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga"

**Director:** Lucchesi, P. – **Co-director:** Krüger, A

#### **BECAS RECIBIDAS**

**Denominación de la beca:** Beca Interna Doctoral

**Institución de trabajo del becario:** CENTRO DE INVESTIGACIÓN VETERINARIA DE TANDIL (CIVETAN); (CONICET - UNICEN)

**Institución financiadora de la beca:** CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS (CONICET)

**Tema:** Bacteriófagos nativos para el desarrollo de estrategias de control de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga

**Fecha de inicio:** 04-2020 **Fecha de finalización:** 04-2026

**Director:** Lucchesi, P ; **Codirector:** Krüger, A

#### **FORMACIÓN COMPLEMENTARIA – Actividades de capacitación**

##### **Cursos de posgrado**

**Biología Molecular** - Curso obligatorio del Doctorado en Ciencia Animal

**Institución:** Facultad Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Año 2023. 80 horas. Calificación: 9.

**Metodología de las Ciencias** - Curso obligatorio del Doctorado en Ciencia Animal

Institución: Facultad Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Año 2022. 80 horas. Calificación: 10.

**Estadística y diseño experimental** - Curso obligatorio del Doctorado en Ciencia Animal

Institución: Facultad Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Año 2021. 80 horas. Calificación: 6.

**Herramientas de Bioinformática Aplicadas al Análisis de Secuencias Nucleotídicas y de Proteínas.**

Institución: Asociación Argentina de Microbiología (AAM). Año 2020. 20 horas. Aprobado

**Genética microbiana avanzada: Aplicaciones en biotecnología.**

Institución: Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBIO) (CONICET - UNSAM). Año 2021. 80 horas. Calificación: 71%

**Introducción al análisis bioinformático de grandes bases de datos.**

Institución: Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. Año: 2023. Calificación: 10

**Bacteriófagos: del genoma al metagenoma.**

Institución: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales; Universidad de Buenos Aires. Año 2022. 80 horas. Calificación: 9.

**Introducción a la bioinformática estructural.**

Institución: Universidad Nacional de San Luis, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Año: 2024. Calificación: 9.

**Análisis filogenético de virus**

Institución: Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Año: 2024. Calificación: 9.

**Curso de capacitación en docencia para graduados (CDG). Trayecto de Capacitación Docente en Ciencia y Tecnología Nivel I y II.**

Institución: Facultad Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Año 2023-2024. Finalizado.

**Planeamiento Científico-** Curso obligatorio del Doctorado en Ciencia Animal

Institución: Facultad Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Año 2024. 200 horas. En curso.

**FORMACIÓN COMPLEMENTARIA – Idiomas:**

**Idioma: inglés**

**Nivel Upper Intermediate aprobado**

Institución emisora del certificado: Departamento de Lenguas. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.

**Nivel Intermedio, Inglés para científicos** (Escritura y edición de artículos científicos, y práctica de presentaciones orales): **En curso**

Institución: *Academic style*

#### **FINANCIAMIENTO CYT - Proyectos I+D**

**Denominación del proyecto:** IDENTIFICACIÓN DE PÉPTIDOS INMUNODOMINANTES EN CEPAS *Escherichia coli* productor de toxina Shiga AISLADAS DE BOVINOS PARA EL DISEÑO DE UNA QUIMERA MULTIEPITOPE

**Tipo de proyecto y código:** PICT-2021-CAT-I 00178

**Fecha de inicio:** 02-2022 **Fecha de finalización:** 02-2025

**Titular:** Padola Nora Lía

**Función desempeñada:** Becario de I+D

**Denominación del proyecto:** Dos caras en el estudio de bacteriófagos nativos: su rol en la virulencia de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga y su utilidad para el desarrollo de estrategias para su control en alimentos.

**Tipo de proyecto y código:** PICT 2018 N° 03245

**Fecha de inicio:** 07-2020 **Fecha de finalización:** 07-2024

**Titular:** Lucchesi Paula

**Función desempeñada:** Becario de I+D

**Denominación del proyecto:** Estudio de bacteriófagos codificantes de verotoxinas en relación a la virulencia y epidemiología de *Escherichia coli* verotoxigénico

**Tipo de proyecto y código:** PIP CONICET 112 2015 01 00662

**Fecha de inicio:** 09-2017 **Fecha de finalización:** 09-2020

**Titular:** Lucchesi Paula

**Co- titular:** Krüger Alejandra

**Función desempeñada:** Becario de I+D

**Denominación del proyecto:** Bacteriófagos y *Escherichia coli* O145 productor de toxina Shiga

**Tipo de proyecto y código:** PIP CONICET 11220210100912CO

**Fecha de inicio:** 06-2023 **Fecha de finalización:** 06-2026

**Titular:** Lucchesi Paula

**Co- titular:** Krüger Alejandra

**Función desempeñada:** Becario de I+D

**Denominación del proyecto:** Impacto de actividades ganaderas en la calidad microbiológica del agua. Un enfoque en la resistencia a antimicrobianos.

**Tipo de proyecto y código:** PICT 2019-03188

**Fecha de inicio:** 05-2021 **Fecha de finalización:** 05-2025

**Director:** Krüger Alejandra

**Función desempeñada:** Becario de I+D

**Denominación del proyecto:** Enzimas de bacteriófagos nativos para el control de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga

**Tipo de proyecto y código:** PICT 2022-11-00335 aprobado, aún no financiado.

**Fecha de inicio probable:** 9-2024 **Fecha de finalización:** 06-2028

**Director:** Lucchesi Paula

**Función desempeñada:** Becario de I+D

#### **FINANCIAMIENTO CYT - Proyectos de extensión, vinculación y transferencia**

**Denominación del proyecto:** Programa integral de extensión: UN OBJETIVO COMÚN: UNA SALUD EN CONVIVENCIA

**Fecha de inicio:** 12-2021 **Fecha de finalización:** 12-2024

**Director:** Sanzano, Pablo Miguel

**Co- director:** Rivero, Mariana Alejandra

**Función desempeñada:** Becario de I+D

**Denominación del proyecto:** HÁBITOS SALUDABLES, FAMILIAS SALUDABLES

**Tipo de proyecto y código:** Acciones de Extensión en la Emergencia por el COVID-19

**Fecha de inicio:** 06-2021 **Fecha de finalización:** 11-2021

**Director:** Juliarena, Marcela Alicia

**Función desempeñada:** Becario de I+D

## PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

### ARTÍCULOS EN REVISTAS

#### En preparación

**Juarez AE**, Krüger A, Lucchesi PMA. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, food contamination and bacteriophages as a control strategy. Manuscrito ya listo, en últimas etapas de revisión por los autores, para ser enviado a *EcoSal Plus - ASM - American Society for Microbiology*.

Dualde M., Cisneros Basualdo N.E., Fernández Fellenz D, Touriñan C, Pascal S, Arrien M, Juarez AE, Tabera AE, Silva S, Pasucci J, Muniesa M, Lucchesi PMA, Rodriguez CI, Krüger A. Groundwater quality in dairy farms: an evaluation in the southeast center of Buenos Aires province, Argentina. Manuscrito ya listo, en últimas etapas de revisión por

todos los autores, para ser enviado a *Science of The Total Environment*.

**Juarez AE**, Krüger A, Lucchesi PMA. Characterization of three virulent phages infecting STEC *Escherichia coli* isolated from the dairy environment. Manuscrito en proceso de redacción.

### PRESENTACIONES EN CONGRESOS Y JORNADAS

- JUAREZ, A. E.; DUALDE, M.; COLELLO, R.; PADOLA, N.; KRÜGER, A.; LUCCHESI P. M. A. Evaluación de la actividad lítica de fagos específicos de STEC contra una cepa O121:H21 stx2e positiva. II Simposio Nacional sobre *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC/VTEC) responsable del Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Tandil, 2024.
- DUALDE, M.; JUAREZ, A. E.; LUCCHESI, P. M. A.; KRÜGER, A. Evaluación de colifagos somáticos en agua de bebida para ganado lechero en establecimientos de producción láctea en Argentina. Workshop: Biología y Aplicación de Bacteriófagos. Universidad de Antioquia, Colombia. 2024.
- JUAREZ, A. E.; RODRÍGUEZ, V. A.; PASCAL, S. B.; DUALDE, M.; KRÜGER, A.; LUCCHESI P. M. A. *Predicted endolysins from phages with broad lytic activity against Shiga toxin producing Escherichia coli of diverse serogroups. 13th annual Oxford bacteriophage conference. LibPubMedia, Oxford, 2023.*
- JUAREZ, A., KRÜGER, A.; LUCCHESI P. M. A. CARACTERIZACIÓN DE BACTERIÓFAGOS PARA EL BIOCONTROL DE *Escherichia coli* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA: RESISTENCIA A DIFERENTES TEMPERATURAS Y pH. Congreso de Microbiología Veterinaria. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Tandil, 2023.
- DUALDE, M.; NIETO F, M. V.; PASSUCCI, J. A.; JUAREZ, A. E.; PASCAL, S. B.; TABERA, A. E.; LUCCHESI, P. M. A.; KRÜGER, A. Evaluación microbiológica de muestras de agua subterránea de tambos. I Jornadas Integradas de Investigación y Salud. Hospital de niños Dr. Debilio Blanco Villegas, Sistema Integrado de Salud Pública, Tandil, 2023.
- RODRÍGUEZ, V.A.; JUAREZ, A.; KRÜGER, A.; LUCCHESI P. M. A. Los bacteriófagos y su rol en la prevención del síndrome urémico hemolítico. I Jornadas Integradas en Investigación y Salud. Hospital de niños Dr. Debilio Blanco Villegas, Sistema Integrado de Salud Pública, Tandil, 2023.

- DUALDE, M.; PASSUCCI, J. A.; JUAREZ, A. E.; PASCAL, S.; TABERA, A. E.; LUCCHESI, P. M. A.; KRÜGER, A. Colifagos somáticos en muestras de aguas de tambos. II Congreso de Microbiología Veterinaria. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Tandil, 2023.
- JUAREZ, A. E.; KRÜGER, A.; LUCCHESI P. M. A. BACTERIÓFAGOS NATIVOS PARA EL DESARROLLO DE ESTRATEGIAS DE CONTROL DE *Escherichia coli* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA. Jornadas de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires: el desafío de visibilizar la Ciencia. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, 2022
- JUAREZ, A; RODRÍGUEZ, V.A.; KRÜGER, A.; LUCCHESI P. M. INACTIVACIÓN DE BACTERIOFAGOS MEDIANTE UV PARA LA POSTERIOR EVALUACIÓN DE ENZIMAS FÁGICAS. 2º Jornadas Latinoamericanas de Bacteriófagos. Universidad Nacional de José C. Paz -IDEPI-CONICET-CIC-AGENCIA. José C. Paz, 2022.
- JUAREZ, A. E.; KRÜGER, A.; LUCCHESI P. M. A. BACTERIÓFAGOS PARA EL CONTROL DE STEC O157:H7. I Simposio Argentino sobre *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC/VTEC) responsable del Síndrome Urémico Hemolítico. Buenos Aires, 2022.
- DUALDE, M.; JUAREZ, A. E.; LUCCHESI P. M. A.; KRÜGER, A. Detección y cuantificación de colifagos somáticos en efluentes de tambos. II Jornadas latinoamericanas de bacteriófagos. Universidad Nacional de José C. Paz. José C. Paz, 2022.
- RODRÍGUEZ, V.A.; JUAREZ, A; KRÜGER, A.; LUCCHESI P. M. A. BACTERIÓFAGOS PARA CONTROL DE STEC: FRECUENCIA DE AISLAMIENTO A PARTIR DE DISTINTAS MUESTRAS. I Simposio Argentino sobre *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC/VTEC) responsable del Síndrome Urémico Hemolítico. Asociación. Buenos Aires, 2022
- JUAREZ, A. E.; PASCAL, S.B.; KRÜGER, A.; LUCCHESI P. M. A. *First report of phages isolated from dairy farms in Argentina to control Shiga toxin producing Escherichia coli. Virtual Bacteriophage in Medicine, Food and Biotechnology 11th International Bacteriophage Meeting. 2021. LibPubMedia, Oxford, 2021.*
- JUAREZ, A. E.; PASCAL, S.B.; KRÜGER, A.; LUCCHESI P. M. A. AISLAMIENTO DE BACTERIÓFAGOS PARA EL CONTROL DE DIFERENTES SEROTIPOS DE *Escherichia coli* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA. Congreso Argentino de Virología 2021. Asociación Argentina de Microbiología (AAM) y Sociedad Argentina de Virología (SAV). Buenos Aires, 2021.

## OTROS ANTECEDENTES

### Organización de eventos CyT

**Nombre del evento:** II Simposio Nacional sobre *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC/VTEC) responsable del Síndrome Urémico Hemolítico (SUH)

**Año:** 2024 **Lugar:** Tandil, Pcia de Buenos Aires, Argentina

**Modo de participación:** Miembro del comité técnico

**Institución organizadora:** Facultad de Ciencias Veterinarias; Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.

**Nombre del evento:** Taller LACER. Avances en la investigación de *E. coli* patógenas en Latinoamérica.

**Año:** 2024 **Lugar:** Tandil, Pcia de Buenos Aires, Argentina

**Modo de participación:** Miembro del comité técnico

**Institución organizadora:** Facultad de Ciencias Veterinarias; Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.

**Nombre del evento:** II Congreso de Microbiología Veterinaria 2023

**Año:** 2023 **Lugar:** Tandil, Pcia de Buenos Aires, Argentina

**Modo de participación:** Miembro del comité técnico

**Institución organizadora:** Facultad de Ciencias Veterinarias; Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN).

### **Asistencia a Jornadas y Congresos**

- II Simposio Nacional sobre *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC/VTEC) responsable del Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Tandil, 2024.
- I Jornadas Integradas de Investigación y Salud. Hospital de niños Dr. Debilio Blanco Villegas, Sistema Integrado de Salud Pública, Tandil, 2023.
- II Congreso de Microbiología Veterinaria. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Tandil, 2023.
- II Jornadas latinoamericanas de bacteriófagos. Universidad Nacional de José C. Paz, 2022.
- Jornadas de Investigación y Posgrado, el Desafío de visualizar la Ciencia. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Facultad Ciencias Veterinarias, Tandil, 2022.
- Jornada "Mecanismos de patogenicidad de STEC: Describiendo nuevos factores de virulencia" Primeras Jornadas Internacionales. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Pcia de Buenos Aires. Tandil, 2021.
- Jornada "Prescripción de antimicrobianos en Medicina Veterinaria. Criterios y fundamentos para la elección de las drogas a utilizar". Universidad Nacional Del Centro De La Provincia De Buenos Aires. Tandil, 2020
- "Mini-Congreso Argentino de Virología". ASOCIACIÓN ARGENTINA DE MICROBIOLOGÍA (AAM). Virtual, 2020
- VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICyTAC). Córdoba, Argentina. 2016.

### **Asistencia a Seminarios**

- Clonado y expresión de proteínas en células procariotas. Lic. Stefanía Pascal. Serie Webinar Ciencia en 30 minutos. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Mayo, 2023
- Seminario "Diarrea: síndrome urémico hemolítico. contaminación y transmisión. Soubeiran Chobet. Tandil, 2020
- Seminario "La ética en publicaciones científicas". ELSEVIER. Argentina, 2020
- Seminario "Acciones de nuestros investigadores/as en el marco de la pandemia por Covid-19". CENTRO CIENTÍFICO TECNOLÓGICO TANDIL (CONICET- TANDIL). Tandil, 2020.
- Seminario "Coronavirus y su vinculación con los alimentos". Centro de Investigación y Asistencia Técnica a la Industria. Argentina, 2020
- Seminario "Control de patógenos en productos cárnicos". HIGIENA. Buenos Aires, 2020
- Seminario "1er encuentro virtual de inocuidad". Equipos, Instrumentos y Tecnología (EQUITEC). Virtual, 2020
- Seminario "Cómo escribir y publicar un buen artículo". EURAXESS. Virtual, 2020
- Seminario "Cómo escribir una buena propuesta para obtener financiamiento". EURAXESS. Virtual, 2020
- Seminario de agregado de valor en la producción agroindustrial. Ministerio de Agroindustria, Gobierno de la Pcia de Buenos Aires. Tandil, 2017.
- XVI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CyTAL) . Asociación Argentina De Tecnólogos Alimentarios. Mar del Plata, 2017.

### **ANTECEDENTES LABORALES**

### **Antecedentes laborales en docencia**

#### **Docencia nivel superior universitario**

**Actividad Curricular:** Biología Celular y Sistémica

**Titular:** Carolina Ceriani

**Carrera de grado:** Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Pcia de Buenos Aires

**Fecha inicio** 07-03-22 **(continúa en la actualidad)**

**Cargo:** Colaborador externo **Tipo de cargo:** Ad Honorem

**Actividad Curricular:** Operaciones básicas en la industria alimentaria

**Titular:** Fernanda Vega

**Carrera de grado:** Licenciatura en Tecnología de los Alimentos. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Pcia de Buenos Aires

**Fecha inicio** 10-03-14 **Fecha finalización** 27-06-14.

**Cargo:** Ayudante de Alumno **Tipo de cargo:** Ad Honorem

#### **Antecedentes laborales en Control de Calidad de los Alimentos**

Control de Calidad en Planta de Procesamiento de Carne Cagnoli, Tandil. Departamento de Calidad. Año 2015.

Prácticas de Residencia en Planta de Quesos don Atilio, Tandil. Para la obtención del Título de Licenciatura en Tecnología de los Alimentos. Departamento de Calidad. Año 2018.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO  
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
Secretaría de Investigación y Posgrado



Certifico que la **Lic. Ana Elisa Juárez** (DNI: 39.341.934) es alumna de la carrera de posgrado de esta Unidad Académica, Doctorado en Ciencia Animal (RESFC-2017-426-APN-CONEAU#ME) admitida según Res. de Consejo Académico N° 282/2021 del 15 de diciembre de 2021, con el proyecto de tesis doctoral titulado: "Bacteriófagos nativos para el desarrollo de estrategias de control de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga", con lugar de trabajo en la Facultad de Ciencias Veterinarias, U.N.C.P.B.A. bajo la dirección doctoral de la Dra. Paula Lucchesi y la co-dirección de la Dra. Alejandra Krüger. A la fecha, acredita los siguientes cursos del Doctorado en Ciencia Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias, U.N.C.P.B.A.

ASIGNATURAS/CARGA HORARIA	Calificaciones N° LETRAS	FECHA	Folio	LIBRO
<u>Cursos Obligatorios</u>				
Biología molecular (80 horas)	9 (nueve)	10/10/2023	18	1.6.2.004
Metodología de las ciencias (80 horas)	10 (diez)	30/11/2022	14	1.6.2.007
Estadística y diseño experimental (80 horas)	6 (seis)	07/10/2021	15	1.6.2.001
<u>Cursos Optativos</u>				
CURSO VIRTUAL Herramientas de Bioinformática Aplicadas al Análisis de Secuencias Nucleotídicas y de Proteínas (20 horas)	Aprobado	25/11/2020		Asociación Argentina de Microbiología (AAM)
Genética Microbiana Avanzada: Aplicaciones en Biotecnología (80 horas)	7,50 (nueve, 50/100)	05/04/2021		Universidad Nacional de San Martín
Los bacteriófagos: del Genoma al Metagenoma (80 horas)	8 (ocho)	19/12/2022		Fac. Cs. Exactas y Naturales UBA
Introducción al análisis bioinformático de grandes bases de datos (30 horas)	10 (diez)	03/03/2023		Fac. Cs. Exactas UNLP
Introducción a la bioinformática estructural (60 horas)	9 (nueve)	08/07/2024		Universidad Nacional de San Luis
Análisis Filogenético de Virus (55 horas)	9 (nueve)	25/10/2024		Fac. Farmacia y Bioquímica UBA

Para ser presentado ante quien corresponda se extiende el presente en Tandil a los veinticinco días del mes de febrero de 2025.-

## BORRADOR TESIS DOCTORAL

### **Bacteriófagos nativos para el desarrollo de estrategias de control de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga**

#### **ANTECEDENTES**

*Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC o VTEC, por *Escherichia coli* verotoxigénico) es un importante patógeno emergente asociado a enfermedades transmitidas por alimentos, el cual causa diarrea, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (SUH) (Karmali, 1985). Este síndrome es una afección severa que ocurre principalmente en niños menores de 5 años y que en Argentina se presenta con la mayor incidencia a nivel mundial. Es una de las causas principales de insuficiencia renal aguda y crónica, derivando en muchos casos en trasplante renal e incluso, en la muerte (Ferraris et al., 2002; Cobeñas et al., 2007). No existe un tratamiento específico, por lo cual resultan fundamentales las medidas de prevención. El serotipo involucrado en la mayoría de los casos es O157:H7, hacia el cual han estado enfocadas las estrategias diagnósticas y de control, pero desde hace algunos años existe un aumento muy elevado a nivel mundial en el reporte de casos asociados a STEC no-O157. En 2017, según datos del Ministerio de Salud de nuestro país, en el 51% de los casos de SUH se diagnosticó STEC O157 mientras que el 29% presentó STEC No-O157 (y en los restantes no se pudo detectar STEC) (Boletín integrado de vigilancia, 2017).

Un reservorio importante de las cepas STEC es el ganado bovino, y en consecuencia, si los alimentos derivados del mismo se contaminan pueden convertirse en vehículo para la infección. Asimismo, la eliminación de estas bacterias en las heces bovinas produce la contaminación del ambiente en los establecimientos ganaderos (Polifroni et al., 2012). En nuestro país existe una alta prevalencia de STEC en bovinos, así como una alta proporción de alimentos derivados contaminados con estas cepas (Parma et al., 2000; Padola et al., 2004; Meichtri et al., 2004; Mercado et al., 2004; Rivas et al., 2006; Fernández et al., 2009; Masana et al., 2010).

STEC tiene una dosis infectiva muy baja, lo que la convierte en una importante amenaza a la seguridad alimentaria. Los bacteriófagos que son estrictamente líticos constituyen una alternativa para disminuir la contaminación con bacterias patógenas en diferentes etapas de la cadena alimentaria (de Melo et al., 2018). Dado que son predadores naturales de bacterias, regulan las poblaciones de las mismas, tanto en ecosistemas gastrointestinales como ambientales. Raya et al. (2011) sugirieron que los bacteriófagos presentes en el intestino serían una de las causas de la colonización no permanente por STEC O157:H7 en rumiantes. Asimismo, Hallewell et al. (2014) observaron que la frecuencia de aislamiento de fagos capaces de infectar *E. coli* O157:H7 fue mayor en los bovinos que eliminaban una baja concentración de esta bacteria (low shedders) con respecto a los que eliminaban una alta concentración (supershedders), por lo cual estos fagos determinarían, en parte, los niveles de eliminación de *E. coli* O157:H7 de cada animal.

En el último tiempo, los estudios sobre bacteriófagos para aplicaciones terapéuticas y para el biocontrol de patógenos han recobrado interés dada la preocupación mundial por la diseminación de la resistencia a antibióticos. Se han realizado numerosos estudios sobre fagos contra *E. coli* O157:H7 y más de 60 de estos fagos han sido estudiados in vitro e in vivo para el control de esta bacteria (revisado en Sabouri et al., 2017). Los tratamientos in vivo tienen el propósito de efectuar el biocontrol de este patógeno en animales pre-faena, a través de la administración oral/rectal o de la aplicación de los fagos sobre el cuero, mientras que

otros tratamientos persiguen como objetivo el control posterior en alimentos (carne y vegetales) o sobre superficies inertes (como mesadas y maquinarias que contactan con los alimentos y sobre las cuales STEC podría encontrarse formando *biofilms* difíciles de controlar). Varios estudios en rumiantes han obtenido una reducción significativa de la carga de *E. coli* O157:H7 en animales en pie después del tratamiento con fagos (Sheng et al., 2006; Callaway et al., 2008; Niu et al., 2008; Raya et al., 2011). También se ha reportado el empleo de bacteriófagos para reducir la concentración de *E. coli* O157:H7 en alimentos o superficies inertes contaminadas artificialmente (Viazis et al., 2011b y c; Hong et al., 2014; Hudson et al., 2013; Abuladze et al., 2008; Tomat et al., 2014, 2018; Sváb et al., 2018). No obstante, existe un número limitado de estudios donde se han aislado bacteriófagos capaces de lisar STEC de serogrupos no-O157 (Tomat et al., 2013; Dini y de Urraza, 2010; Viazis et al., 2011a; Wang et al., 2015; Litt et al., 2018; Liao et al., 2018), y la información sobre características fenotípicas y fisiológicas de los mismos es escasa (Litt et al., 2018).

Es importante considerar que los bacteriófagos en general tienen un limitado rango de hospedadores, por lo cual no son eficientes frente a cualquier serogrupo. Por ejemplo, se ha reportado que un prototipo de una preparación comercial de fagos aplicada sobre cuero bovino fue eficaz frente a STEC de los serogrupos O121 y O103, pero no para O111 y O45 (Tolen et al., 2018).

Otra estrategia de biocontrol sería el uso de proteínas fágicas (Kawa et al., 2012). Entre ellas, las lisinas de los bacteriófagos comprenden a las exolisinas y las endolisinas, que intervienen en la degradación del peptidoglicano de la pared celular para facilitar el ingreso del virus o para permitir la liberación de la progenie del mismo, respectivamente. Las exolisinas forman parte de las partículas fágicas, por lo cual se llaman también VALs (Virus Associated Lysins) y atacan a la pared celular desde afuera. Las endolisinas se sintetizan durante la infección viral y se acumulan dentro bacteria, necesitando luego un mecanismo que les permita atravesar la membrana celular para acceder a la pared celular. El mecanismo más conocido comprende la participación de holinas que forman un poro en la membrana y permiten el pasaje de las endolisinas (mecanismos revisados en Saõ-José, 2018). Debido a la propiedad que tienen las holinas de perforar rápidamente la membrana celular y a la consecuente dificultad para producirlas *in vitro*, no han sido muy estudiadas como antimicrobianos (Kawa et al., 2012).

Las endolisinas son capaces de lisar bacterias cuando son aplicadas de forma exógena (artificialmente) y se consideran seguras para humanos y muy buenos candidatos para biocontrol, ya que tienen como blanco el peptidoglicano que no está presente en células de mamífero. Además, no se ha reportado la generación de resistencia frente a ellas (Bai et al., 2016). En los últimos años ha crecido el interés en estudiar las endolisinas para aumentar la seguridad alimentaria, durante la producción y procesamiento de los alimentos, como un nuevo tipo de aditivos naturales y para tratamientos de descontaminación de superficies abióticas (revisado en Schmelcher and Loessner, 2016). Aunque en general se han evaluado para el control de bacterias Gram positivas, que al no poseer la membrana externa facilitan el acceso de las lisinas al peptidoglicano, se han iniciado estudios para controlar bacterias Gram-negativas. Esto ha sido posible por distintos motivos: por el hallazgo de lisinas que “naturalmente” poseen la capacidad de penetrar la membrana externa; por la incorporación (ingeniería de proteínas) de dominios proteicos que permitan ese pasaje; o a través de la utilización de las lisinas en conjunto con compuestos que permeabilicen la membrana externa (Oliveira et al., 2018; Antonova et al., 2019).

Las endolisinas presentan la ventaja de provocar rápidamente la lisis luego del contacto con la bacteria blanco (Casey et al, 2018). Además, dado que el peptidoglicano de las bacterias

Gram-negativas posee una estructura conservada, las lisinas de bacteriófagos que infectan a este grupo teóricamente poseerían un amplio espectro de acción (Maciejewska et al., 2018). Incluso se ha observado un efecto sinérgico con otros tipos de tratamientos (Saõ-José, 2018), por lo cual se presentan como una alternativa atractiva para su empleo en el control de STEC. Dado que el ganado bovino es un reservorio importante de STEC, nuestra hipótesis consiste en que es posible aislar, a partir de materia fecal bovina y de efluentes de tambo, bacteriófagos líticos con potencial aplicación en el biocontrol de este patógeno, ya sea de manera directa o como fuente de enzimas con actividad lítica. El Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología (FCV-UNCPBA) posee una importante trayectoria de más de 20 años en el estudio de STEC, desde el análisis de los reservorios, la caracterización genotípica y fenotípica de cepas STEC nativas y su control a través de bacterias probióticas y bacteriocinas. El grupo de investigación también tiene experiencia en el estudio de bacteriófagos de STEC, particularmente en los que son portadores de toxinas Shiga (Krüger et al., 2018; Lenzi et al., 2016; Krüger et al., 2015; Granobles Velandia et al., 2012) y se han desarrollado con éxito tesis de grado y de doctorado en el tema.

## **OBJETIVOS GENERALES**

- Controlar patógenos zoonóticos asociados a enfermedades transmitidas por alimentos en distintas etapas de la producción e industrialización.
- Disminuir la contaminación de bacterias patógenas en los alimentos.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Los bacteriófagos son predadores naturales de bacterias y, por lo tanto, un factor importante para limitar las poblaciones de las mismas. Consideramos que los bacteriófagos líticos son una alternativa para el biocontrol de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC), ya sea de manera directa o como fuente de enzimas con actividad lítica, por lo cual este plan incluye los siguientes objetivos:

- 1) Aislar y caracterizar bacteriófagos líticos que tengan actividad sobre STEC.
- 2) Secuenciar los genomas de bacteriófagos seleccionados e identificar los genes que codifiquen enzimas con actividad endolisina.
- 3) Realizar el clonado, expresión y purificación de endolisinas.
- 4) Evaluar in vitro la actividad de las endolisinas purificadas.
- 5) Ensayar las endolisinas en presencia de reactivos que potencien su actividad.
- 6) Evaluar la actividad de las endolisinas frente a diferentes combinaciones de temperatura y pH.

## ACTIVIDADES Y METODOLOGÍA

### 1) Aislar y caracterizar bacteriófagos líticos con actividad sobre STEC

#### 1.a. Obtención y procesamiento de las muestras

Se realizaron muestreos de materia fecal bovina y de efluentes de tambo. Las muestras sólidas se suspendieron en buffer SM y se clarificaron por centrifugación a baja velocidad (Carlson et al., 2005). Los sobrenadantes se filtraron mediante membranas de 0,22 µm. Se incorporaron estrategias para concentrar los bacteriófagos potencialmente presentes mediante centrifugación y para amplificarlos (enriquecimiento) utilizando una cepa hospedadora (Carlson, 2005; Dini y de Urraza, 2010; Amarillas et al., 2016). Las cepas STEC utilizadas como hospedadoras fueron seleccionadas del cepario de nuestro laboratorio para representar serogrupos prevalentes en casos de SUH (O26, O103, O111, O121, O145, O157), portadores de subtipos de toxina Shiga asociados a enfermedad grave e incluidos en el Código Alimentario Argentino.

#### 1.b. Aislamiento de bacteriófagos con capacidad lítica sobre diferentes serotipos de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga

Se realizó un *screening* de los filtrados para evaluar la presencia de fagos líticos sobre cepas STEC mediante la técnica de *spot test*. En el caso de filtrados enriquecidos, se utilizó como cepa hospedadora para el *spot test* la misma cepa STEC empleada en el enriquecimiento. A partir de los filtrados positivos en este *screening*, se confirmó la presencia de fagos mediante ensayos en doble capa de agar. Posteriormente, los fagos se purificaron a partir de placas de lisis individuales y se prepararon suspensiones de alto título mediante propagación en la cepa hospedadora. Para optimizar su propagación, se ensayaron distintas dosis infectivas y se utilizó la MOI (*multiplicity of infection*) con la cual se presentó lisis de forma más tardía. El lisado se centrifugó a 10.000 xg, se filtró (0,22 µm) y se conservó a 4°C y -80°C (en este último caso con agregado de glicerol o DMSO). El título se determinó mediante ensayos en doble capa de agar. En los casos en que los fagos resultaron infectivos para *E. coli* DH5α, se utilizó esta cepa como hospedadora tanto para la purificación como para la obtención de preparaciones de alto título.

#### 1.c. Evaluación del rango de hospedadores de los bacteriófagos

Se llevó a cabo una primera evaluación utilizando un número considerable de cepas STEC (al menos tres cepas representativas de cada serogrupo O26, O103, O111, O121, O145, O157) mediante la metodología de *spot test*. Las preparaciones de fagos que mostraron un efecto lítico en este ensayo fueron posteriormente confirmadas mediante la determinación de la eficiencia de plaqueo (EOP). Para ello, se titularon las suspensiones de fagos mediante ensayos en doble capa de agar. La EOP se expresó como la relación entre el título obtenido con la cepa en estudio y el título logrado con la cepa utilizada en el enriquecimiento o en el primer *screening* (Pereira et al., 2017).

#### 1.d. Comparación de la actividad de diferentes bacteriófagos sobre cultivos de STEC

Se realizaron cultivos en microplacas de las cepas STEC con los diferentes fagos a distintas MOI, empleando una concentración bacteriana similar a la que podría encontrarse en los alimentos (Dalmasso et al., 2016). Para las comparaciones, se consideraron los valores de reducción de DO<sub>600</sub> entre las combinaciones fago/cepa STEC.

**2) Secuenciar los genomas de bacteriófagos seleccionados e identificar los genes que codifican enzimas con actividad endolisina**

Mediante la tecnología NGS (*Next Generation Sequencing*), se determinó el genoma completo de una selección de fagos líticos considerados de interés a partir de los resultados obtenidos en los ensayos de rango de hospedadores y evaluación de actividad frente a STEC. La purificación del ADN se realizó en nuestro laboratorio a partir de una suspensión de alto título de fagos. El ADN se envió a *MicrobesNG*, donde se llevó a cabo la preparación de librerías y la secuenciación. Una vez obtenidos los datos, se realizó en nuestro laboratorio el análisis de calidad, procesamiento (*trimming*) y ensamblado (*de novo assembly*) utilizando el software CLCBio Workbench (u otro semejante). La anotación de los genomas fágicos se llevó a cabo mediante herramientas bioinformáticas como *Open Reading Frame (ORF) Finder*, *PHASTER* y *SMART BLAST*. Las secuencias codificantes de posibles lisinas fueron analizadas comparativamente *in silico* en cuanto a la presencia de diferentes dominios estructurales y funcionales. Se seleccionaron varios genes representativos de las distintas variantes encontradas para su clonado y expresión.

**3) Realizar el clonado, expresión y purificación de endolisinas**

Los genes fueron amplificados por PCR y clonados en un vector plasmídico (pET-28a(+)), expresándolos con un tag de histidinas para su posterior purificación. Esta estrategia, además, podría haber favorecido la penetración de las lisinas a través de la membrana externa de las bacterias (Antonova et al., 2019).

**4) Evaluar *in vitro* la actividad de las endolisinas purificadas**

**4.a.** Evaluación de la actividad muralítica sobre cepas STEC: una alícuota de cada cepa STEC cultivada en caldo LB hasta la fase exponencial media ( $OD_{600} = 0,6$ ) se mezclará con top agar, se volcará sobre una placa de agar LB y se incubará 18 h a 37°C. Después de un tratamiento con vapores de cloroformo para permeabilizar la membrana externa, se colocarán 30 µl de las lisinas purificadas y se observará la presencia de halos a los 30 min (Oliveira et al., 2016).

**4.b.** Evaluación de la actividad antibacteriana: El ensayo se realizará sobre bacterias a las que se permeabilizará su membrana externa con EDTA para permitir el pasaje de las lisinas y sin la permeabilización de la membrana externa, de manera de identificar lisinas que presenten la propiedad de penetrarla (Larpin et al., 2018). Alícuotas de cultivos de STEC en caldo LB se colocarán en microplacas y se tratarán con diluciones de las lisinas en ausencia/presencia de EDTA (0,5 mM de concentración final) durante 30 min. Se cuantificarán las bacterias antes y después del tratamiento por recuento en agar LB para determinar la actividad antibacteriana (Briers et al, 2014).

**5) Ensayar las endolisinas en presencia de reactivos que potencien su actividad** Se ensayará además la actividad antibacteriana de las lisinas en conjunto con aditivos alimentarios como el ácido cítrico y láctico, como agentes permeabilizantes de la membrana externa en reemplazo de EDTA (Oliveira et al., 2016).

**6)** Evaluar la actividad de las endolisinas frente a diferentes combinaciones de temperatura y pH Se evaluará la estabilidad de las lisinas a diferentes temperaturas (4, 20, 40 y 60°C), pH (4, 7 y 10) y combinaciones de esos factores. Luego se evaluará su actividad en combinaciones de temperatura y pH donde hayan mostrado estabilidad y que sean comparables a las que pudieran encontrarse en alimentos o superficies con las que contactan durante su manipulación/procesamiento industrial.

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS:** En los ensayos que se requiera efectuar un análisis estadístico, se realizarán análisis de varianza (ANOVA) y tests de comparación de medias.

## Resultados

### 1) Aislar y caracterizar bacteriófagos líticos con actividad sobre STEC

#### 1.a. Obtención y procesamiento de las muestras

Durante esta investigación, se recolectaron 29 muestras provenientes de cuatro establecimientos dedicados a la producción de leche o carne de bovinos. Estas muestras fueron procesadas y analizadas con el objetivo de detectar la presencia de bacteriófagos líticos con actividad sobre STEC.

TAMBO	N° DE MUESTRA	NOMBRE	ESTADO	FUENTE DE OBTENCION
1 (22/3/22)	1	D1	solida	Mat fecal Vaca
	2	D2	solida	Mat fecal Vaca
	3	D3	solida	Mat fecal Vaca
	4	D4	semisolida	Mat fecal Vaca
	5	D5	semilíquida	Mat fecal Vaca
	6	D6	semilíquida	Mat fecal Vaca
	7	D7	semisolida	Mat fecal Vaca
	8	D8	líquida	bebida de las vacas
	9	D9	líquida	efluentes del tambo
	10	D10	semisolida	efluentes del tambo
2 (22/3/22)	1	L1	Semisólida	Mat fecal Vaca
	2	L2	Semisólida	Mat fecal Vaca
	3	L3	Semisólida	Mat fecal Vaca
	4	L4	Semilíquida	Mat fecal Vaca
	5	L5	Semilíquida	Mat fecal Vaca
	6	L6	Semisólida	Mat fecal Vaca
	7	L7	Líquida	Efluentes del tambo
	8	L8	Líquida	Bebida en el tambo
	9	L9	Parte Líquida y Sólida	Zona de MF de varios animales
	10	L10	Semisólida	Mat fecal Ternero
3 (2/8/2021)	1	1p	solida	Efluente a partir del ordeño
	2	2p	líquida	Corral de espera
	3	3p	semi-sólida	Corral de espera
	4	4p	solida	
4 (19/10/2021)	1	PoolG1	solida	materia fecal
	2	PoolG2	solida	materia fecal

3	PoolgG3	solida	materia fecal
4	PoolgG4	solida	materia fecal
5	EG	liquida	bebedero y efluentes alrededor del mismo

### 1.b. Aislamiento de bacteriófagos con capacidad lítica sobre diferentes serotipos de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga.

Las muestras fueron procesadas de manera individual o en forma de pool, siguiendo la metodología previamente establecida. Como resultado, se aislaron 39 bacteriófagos. No obstante, tras un primer *screening* frente a nueve cepas STEC, se seleccionaron 26 fagos para su posterior caracterización. Se descartaron aquellos fagos positivos para *stx* y aquellos para cuyo enriquecimiento fuera indispensable la utilización de cepas STEC, debido al riesgo de liberación de profagos *stx*. Los resultados preliminares se encuentran resumidos en la **Tabla 1**.

Muestra	Fagos aislados	PCR -( <i>stx2</i> )	Nombre del fago
MF	4	(3+); 1(-)	5.MF sobre 65
ES	4	2(+); 2(-)	1. ES s/e sobre DH 2. ES s/e sobre DH
	4	4(-)	Stock 7 del 29/4 "C" Stock 8 del 29/4 "C" Stock 1 del 28/4 "C"
ES FLECHITA			Stock 1 del 29/4 "C"
B	2	2(+)	-
EL	5	5(-)	Stock 5 del 29/4 "C" Stock 6 del 29/4 "C" Stock 2 del 29/4 "C" Stock 3 del 29/4 "C" Stock 4 del 20/4 "C"
L9	1	1(-)	L93 filt -8 s/f -8
D10	1	1(+)	D10G3 s/f -7
L7	1	1(-)	L73 filt -8 s/f -7
	2	2(-)	L74(I75 puesto mal) 9-1 L74 59-2 (halo)
D9	2	1(+) 1(-)	D964A s/f -7 D9G4B s/f -7

P4	3	2(-)	7.4
			8.5
	1	1(-)	P4g1.5 9-1
PL2	6	6(-)	4G4
			5.5
			4.3
			5.3
			1.3
			1G4
PG1	1	(-)	Pg1.4 202-2
PG3	1	(-)	Pg3.3 de: 46 1 <sup>a</sup> y 2 <sup>a</sup> ; dh 3 <sup>a</sup>
EG	1	St.wg5(-)	Eg4.65 (st:wg5ydh)

**Tabla 1.** Fagos obtenidos y su caracterización preliminar por muestra procesada

### 1.c. Evaluación del rango de hospedadores de los bacteriófagos:

Todos los serogrupos fueron lisados por al menos un fago: O157 (3/3 cepas), O111 (1/1), O113 (3/3), O145 (1/6), O91 (4/5), O174 (4/4) y O26 (5/6).

Sin embargo, algunos serogrupos mostraron una mayor sensibilidad a un mayor número de fagos, como O157, O111 y O113. Por el contrario, serogrupos como O145, O91 y O26 fueron menos susceptibles a menos fagos y, en particular, ocho cepas de estos serogrupos no fueron lisadas por ninguno de los fagos de este panel.

Independientemente de la fuente de aislamiento, las cepas bacterianas fueron lisadas. Solo una cepa de origen ambiental no fue lisada, mientras que todas las demás cepas de fuentes bovinas, alimentarias y humanas fueron lisadas con éxito. Cabe destacar que estos fagos exhibieron una fuerte actividad lítica contra cepas aisladas de alimentos, lo que respalda aún más su posible aplicación para el uso previsto.

L73, 4.3 y PG3 fueron seleccionados como fagos representativos para una evaluación adicional en este estudio en función de su amplio rango de hospedadores (L73 (7), 4.3 (12) y PG3 (13), su capacidad para obtener EOP alta sobre ellas y su capacidad para lisar cepas difíciles de lisar (Resultados resumidos en **Tabla 2**).

Strains	Serotypes	Host Range			EOP		
		(solid media)					
		L73	PG3	4.3	L73	PG3	4.3

1.	O26:H11	+	-	+++	x	x	M
2.	O26:H11	++	+	++	x	x	X
3.	O26:H11	+	+++	+++	X	H	L
4.	O26:H11	+	+++	+	X	H	X
5.	O26:H11	+	+	+	X	X	X
6.	O91:H21	+++	-	+++	L	X	H
7.	O91:H21	+++	-	++	X	X	H
8.	O91:H21	+++	-	+++	L	X	M
9.	O91:H21	-	-	-	X	X	X
10.	O91:H21	-	-	-	X	X	X
11.	O103:H-	-	+++	+	X	M	X
12.	O103:H-	-	+++	+	X	M	X

13.	O111:H-	-	-	+++	X	X	M
14.	O113:H21	+++	-	+++	M	X	H
15.	O113:H21	+++	+++	+++	H	H	M
16.	O113:H21	++	+++	++	L	L	M
17.	O145:H-	-	+++	++	X	L	X
18.	O145:H-	-	++	-	X	X	X
19.	O145:H-	-	+++	-	X	L	X
20.	O145:H-	-	+++	++	X	M	X
21.	O145:H-	-	+++	+	X	M	X
22.	O145:H-	-	+	+	X	X	X
23.	O157:H7	+++	+++	+++	L	M	M
24.	O157:H7	+	+++	++	X	L	X

25.	O157:H7	+++	+++	+++	M	H	M
26.	O174:H21	-	+	+++	X	X	M
27.	O174:H21	-	-	+++	X	X	X
28.	O174:H21	-	-	+	X	X	X
29.	O174:H21	-	-	+	X	X	X

**Tabla 2.** Rango de hospedador y EOP de los 26 fagos obtenidos. Referencias: rango de Hosp “-” no efecto; “+” lisis turbia; “++” lisis traslucida; “+++”placas

Ref: EOP: 0.2-1(igual) high efficiency(H);0,1-0,01(1,2 log) medium efficiency(M); 0,01-0,001(3log+) low efficiency (L). “X” NO efficiency

#### 1.d. Comparación de la actividad de diferentes bacteriófagos sobre cultivos de STEC:

Los fagos individuales pudieron lisar cepas de tales serotipos observándose reducciones de hasta 91%. El cocktail permitió lisar el serogrupo O103 mientras que los fagos individuales no fueron efectivos. Resultados son resumidos en la **Tabla 3.**

Strains	Serotypes	Host Range (liquid media)			
		L73	PG3	4.3	MIX
1.	O26:H11	x	10	X	1,10,100

2.	O26:H11	x	1,10	x	1,10
3.	O91:H21	1,10	10(mayor> 30%)	1 (mayor>30%)	1,10,100
4.	O103:H-	x	1 y 10	x	1,10
5.	O111:H-	x	X	x	X
6.	O113:H21	1,10	10 y 1	1,10	1,10,100
7.	O145:H-	x	x	x	X
8.	O145:H-	X	X	X	X
9.	O157:H7	X	X	X	X
10.	O157:H7	1 y 10(mayor> 30%)	X	X	1,10,100
11.	O174:H21	X	X	X	X

**Tabla 3.** Rango de hospedador en medio liquido siendo una reducción >50% "1"MOI 1;"10" MOI 10; "100"MOI 100

**2) Secuenciar los genomas de bacteriófagos seleccionados e identificar los genes que codifiquen enzimas con actividad endolisina**

Los géneros de virus se asignaron utilizando el software Kraken. Se caracterizaron siete genomas diferentes correspondientes a diferentes géneros: Tequatrovirus (3), Vequintavirus (3) y Mosivirus (1).

Mediante el análisis con RAST, BLAST, Interpro, Uniprot y HHpred se analizaron las secuencias de posibles enzimas con actividad sobre el peptidoglicano. Finalmente dada la conservación de las secuencias las endolisinas predichas solo codificaban cinco secuencias de aminoácidos diferentes. Los dominios enzimáticamente activos pertenecían a la familia 24 de las glicósidos hidrolasas (IPR001296).

Mediante VIBRANT, PhaTYP (a través de la plataforma PhaBOX) y PHASTEST se determinó que los 7 contigs pertenecían a fagos completos, de alta calidad y virulentos.

El análisis con VirulenceFinder no detectó genes de virulencia en los fagos analizados, lo que respalda su potencial seguridad en aplicaciones de control biológico contra *Escherichia coli* productor de toxina Shiga.

### **3) Realizar el clonado, expresión y purificación de endolisinas**

En el marco del objetivo de clonado, expresión y purificación de endolisinas, se completó con éxito la primera etapa del proceso. Se optimizaron los primers de PCR para una endolisina seleccionada, y se prepararon células competentes DH5 $\alpha$  para la transformación. Posteriormente, se realizó el control de las células competentes con el plásmido pGem, seguido de la ligación con pGem. La transformación fue llevada a cabo de manera efectiva, y se purificaron los plásmidos utilizando un kit especializado. Para asegurar la calidad y concentración del ADN, se realizó la medición de la cantidad de ADN mediante un espectrofotómetro Nanodrop, permitiendo avanzar de manera sólida hacia la siguiente fase del proyecto.

## **Análisis adicionales realizados a los bacteriófagos**

**Determinación del tamaño de placa de los fagos sobre su host DH5 $\alpha$ .** PG3, 4.3 y L73 podrían formar placas transparentes con tamaños que van desde 1,0 a 2,0 mm de diámetro. Respecto a la formación del halo, el 4.3 fue capaz de producir un halo más grande que los otros.

### **Evaluación de la actividad lítica de fagos específicos de STEC contra una cepa O121:H21 *stx2e* positiva**

Se seleccionaron 7 fagos aislados previamente del ambiente de tambos bovinos que poseen actividad lítica sobre cepas STEC portadoras de *stx2a* de diferentes serogrupos u otros subtipos *stx* también asociados a enfermedad en humanos. Se evaluaron mediante la técnica de “spot test” sobre una cepa O121:H21 positiva a *stx2e* aislada de una sala de desposte de carne de cerdo. Asimismo, se estimó la eficiencia de plaqueo (EOP) en referencia a la cepa hospedadora DH5 $\alpha$ . Seis fagos evidenciaron efecto lítico frente a la cepa *stx2e* STEC con EOP comparable, y en algunos casos superior, a la observada con las otras cepas STEC.

### **Caracterización de bacteriófagos para el biocontrol de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga: resistencia a diferentes temperaturas y pH**

Se seleccionaron cinco fagos (stocks de alto título) luego de una incubación de 60 minutos a distintas temperaturas (4, 20, 40, 60 y 75°C) a pH 7 y diferentes condiciones de pH (2, 3, 4, 7 y 10) a 25°C. Los experimentos se realizaron por duplicado y los títulos fágicos se determinaron mediante diluciones en ensayo de spot test. Observamos que, luego de las incubaciones a 4°, 20° y 40°C el título fágico se mantuvo para la totalidad de los fagos. Sin embargo, luego del tratamiento a 60°C cuatro fagos disminuyeron 1 log su título, mientras que luego de 75°C no pudieron detectarse fagos infectivos. La totalidad de los fagos conservó su título luego de los tratamientos a pH 4,7 y 10. Mientras que a pH 3 el título de dos fagos se redujo 1 log y no se pudo detectar fagos infectivos en otro caso, y a pH 2 no se detectaron fagos infectivos en ningún caso. Dado que componentes de los alimentos o del ambiente en que se encuentren pueden producir condiciones que disminuyan el título de los fagos, fue importante determinar que varios de éstos resistieron temperaturas elevadas (60°C), acidez (pH 3) y/o alcalinidad (pH10). Además, observamos que temperaturas  $\geq 75^\circ\text{C}$  o pH  $\leq 2$  serían condiciones para la inactivación de estos fagos.

### **Estabilidad a diferentes temperaturas de almacenamiento durante períodos prolongados.**

Para evaluar la posible aplicabilidad de estos fagos en la conservación de alimentos, se evaluó su el título fagico de 3 fagos almacenando 200 ml del stock de alto título a 25 °C, 4 °C, -20 °C y -80 °C y se tomaron muestras a los 15, 60 y 180 días. Los tubos a -80 °C se mezclaron con glicerol, lo que dio como resultado una concentración final del 15 %. Los títulos de bacteriófagos antes del almacenamiento fueron de 109 PFU/ml. El título de todos los bacteriófagos antes y después del almacenamiento se estimó utilizando la prueba de spot test (Lit y Jaroni, 2017; Alvi et al., 2018).

Después de 15 días a -80 °C, los fagos PG3 y L73 exhibieron una reducción de 1 logaritmo en el título, mientras que el fago 4.3 permaneció estable. Para el día 60, PG3 y L73 experimentaron una reducción adicional de 1 logaritmo a -80 °C, mientras que 4.3 permaneció inalterado. Después de 180 días, los tres fagos (4.3, PG3 y L73) mostraron una reducción de

1 logaritmo en el título a 25 °C. En este punto temporal, PG3 y L73 también experimentaron una reducción adicional de 1 logaritmo a -80 °C. En particular, L73 mantuvo su título a 4 °C, mientras que el fago 4.3 permaneció estable a -80 °C durante los periodos de 15, 60 y 180 días.

### **Inactivación de bacteriófagos mediante uv para la posterior evaluación de enzimas fágicas**

Colocamos 500ul de la suspensión del fago L7.3 (stock de alto título fágico,  $\sim 1 \times 10^{10}$  UFP/ml) de manera que forme una capa muy delgada sobre las placas de Petri de vidrio utilizadas. Realizamos un primer ensayo en el que evaluamos 3 tratamientos con luz UV de una longitud de 254 nm a 10 cm de distancia (T1: 5' de exposición sin agitación; T2: 20" de exposición sin agitación; T3: 1'40" de exposición realizando 2 agitaciones intermedias de forma manual) así como un control sin tratar (stock fágico colocado en placa de Petri sin exponer a luz UV). Se realizó un ensayo en doble capa de agar y un spot test para cuantificar los fagos que conservaron su infectividad, colocando diferentes diluciones de los fagos tratados y del control, empleando la cepa *E. coli* DH5 $\alpha$  como hospedadora. Posteriormente, se realizó un nuevo ensayo con mayor tiempo de exposición a luz UV (5' 20") y agitaciones manuales cada 20" (T4). Se observaron disminuciones de ufp de  $\sim 2$  log por efecto del tratamiento T1, 1 log por T2 y  $\geq 9$  log por T3 y T4. En estos 2 últimos tratamientos, se observó efecto lítico sin presencia de placas de lisis con las menores diluciones de la suspensión tratada, en el ensayo de spot test. Este estudio permitió identificar tratamientos con luz UV eficaces para inactivar este fago y continuar detectando actividad lítica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abuladze T, Li M, Menetrez MY, Dean T, Senecal A, Sulakvelidze A. (2008). *Appl. Environ. Microbiol.* 74:6230-8.
- Antonova NP, Vasina DV, Lendel AM, Usachev EV, Makarov VV, Gintsburg AL et al. (2019). *Viruses.* 11:284.
- Bai J, Kim Y-T, Ryu S and Lee J-H (2016) *Front. Microbiol.* 7:474.
- Briers Y, Walmagh M, Van Puyenbroeck V, Cornelissen A, Cenens W, Aertsen A, et al. (2014). *mBio* 5(4):e01379-14.
- Boletín integrado de vigilancia-Ministerio de Salud de la Nación. N° 392 – SE 52 – Diciembre de 2017. 98 p.
- Callaway TR, Edrington TS, Brabban AD, Anderson RC, Rossman ML, Engler MJ et al. (2008) *Foodborne Pathog Dis*;5:183–91.
- Carlson, 2005 Appendix: Working with Bacteriophages: Common Techniques and Methodological Approaches. In: Kutter p. 437.
- Casey E, van Sinderen D, Mahony J. (2018). *Viruses.* 10:163.
- Cobeñas, C.J.; Alconcher, L.F.; Spizzirri, A.P.; Rahman, R.C. (2007). *Pediatr. Nephrol.* 22 :1343–47.
- Dalmasso M, Strain R, Neve H, Franz CM, Cousin FJ, Ross RP, Hill C. (2016). *PLoS One.* 11(6):e0156773.
- de Melo AG, Levesque S, Moineau S. (2018). *Curr. Opin. Biotechnol.* 49:185-90.
- Dini C, De Urza PJ. (2010). *J. Appl. Microbiol. Sep*;109(3):873-7.
- Fernández, D., Rodríguez E.M., Arroyo G.H., Padola N.L., Parma A.E. (2009). *J. Appl. Microbiol.* 106:1260-7.
- Ferraris J.R.; Ramirez J.A.; Ruiz S.; Caletti M.G., Vallejo G., Piantanida J.J. et al. (2002). *Pediatr. Nephrol.* 17:809-814.
- Granobles Velandia CV, Krüger A, Parma YR, Parma AE, Lucchesi PM. (2012). *Front Cell Infect Microbiol.* 2:82.
- Hallewell J, Niu YD, Munns K, McAllister TA, Johnson RP, Ackermann HW et al. (2014). *Appl. Env. Microbiol.* 80:3819-25.
- Hong Y, Pan Y, Ebner PD. (2014). *J. Anim. Sci.* 92:1366–77.
- Hudson, J., Billington, C., Wilson, T., & On, S. (2013). *Food Science and Technology International*, 21:104–9.
- Karmali, M.A.; Petric, M.; Lim, C.; Fleming, P.C.; Arbus, G.S.; Lior, H. (1985). *J. Infect. Dis.* 151:775-82.
- Kawa, ZD Majkowska-Skrobek, G Maciejewska B, Delattre A-S; Lavigne, R. (2012). *Curr. Protein Pept. Sci.* 13:699-722.
- Krüger, A., Burgán, J., Friedrich, A. W., Rossen, J. W. A., Lucchesi, P. M. A. (2018). *Infect. Genet. Evol.* 60:126-32.
- Krüger, A., Lucchesi, P. M. (2015). *Microbiology*, 161:451-62.
- Larpin Y, Oechslin F, Moreillon P, Resch G, Entenza JM, Mancini S (2018). *PLoS ONE* 13(2): e0192507.
- Lenzi LJ, Lucchesi PM, Medico L, Burgán J, Krüger A. (2016). *Front. Microbiol.* 7:992.
- Liao Y-T, Quintela IA, Nguyen K, Salvador A, Cooley MB, Wu VCH (2018). *PLoS ONE* 13(1): e0190534.
- Litt, KP; Saha, J and Jaroni, D. (2018) *J. Food Prot.* 81:785-94.
- Maciejewska B, Olszak T, Drulis-Kawa Z. (2018). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 102:2563-81.
- Masana MO, Leotta GA, Del Castillo LL, D'Astek BA, Palladino PM, Galli L et al. (2010). *J. Food Prot.* 73:649-56.

Meichtri L, Miliwebsky E, Gioffré A, Chinen I, Baschkier A, Chillemi G et al. (2004). *Int. J. Food Microbiol.* 96:189-98.

Mercado E.C., Gioffré A., Rodríguez S.M, Cataldi A., Irino K., Elizondo A.M. et al. (2004). *J. Vet. Med. Series B.* 51:82-8.

Niu YD, Xu Y, McAllister TA, Rozema EA, Stephens TP, Bach SJ et al. (2008) *J. Food Prot.* 71:691-8.

Oliveira H, Vilas Boas D, Mesnage S, Kluskens LD, Lavigne R, Sillankorva S et al. (2016). *Front. Microbiol.* 7:208.

Oliveira H, São-José C, Azeredo J. (2018). *Viruses.* 10:292.

Padola, NL, Sanz ME, Blanco JE, Blanco M, Blanco J, Etcheverría AI et al. (2004). *Vet. Microbiol.* 100:3–9.

Parma, A.E.; Sanz, M.E.; Blanco, J.E.; Blanco, J.; Viñas, M.R.; Blanco, M. et al. (2000). *Eur. J. Epidemiol.* 16:757–62.

Pereira C, Moreirinha C, Lewicka M, Almeida P, Clemente C, Romalde JL et al. (2017) *Virus Res.* 227:171-82.

Polifroni R, Etcheverría AI, Sanz ME, Cepeda RE, Krüger A, Lucchesi PMA et al. (2012). *Curr. Microbiol.*, 65:337-43.

Raya RR, Oot RA, Moore-Maley B, Wieland S, Callaway TR, Kutter EM, Brabban AD. (2011). *Bacteriophage* 1:15-24.

Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I, Roldán CD, Balbi L, García B et al. (2006). *Foodborne Pathog. Dis.* 3:88-95.

Sabouri S, Sepehrizadeh Z, Amirpour-Rostami S, Skurnik M. (2017) *Int. J. Food Microbiol.* 243:52-7.

Saõ-José, C. (2018). *Antibiotics (Basel).* 22;7(2).

Schmelcher M, Loessner MJ (2016) *Curr. Opin. Biotechnol.* 37:76–87.

Sheng H, Knecht HJ, Kudva IT, Hovde CJ. (2006). *Appl. Environ. Microbiol.* 72:5359–5366.

Sváb D, Falgenhauer L, Rohde M, Chakraborty T, Tóth I (2018). *Infect. Genet. Evol.* 64:254-261.

Tolen TN, Xie Y, Hairgrove TB, Gill JJ, Taylor TM. (2018) *Foods.* 16;7(7).

Tomat D, Migliore L, Aquili V, Quiberoni A, Balagué C. (2013) *Front. Cell. Infect Microbiol.* 6;3:20.

Tomat D, Quiberoni A, Mercanti D, Balagué C. (2014) *Food Res. Int.* 57:123–9.

Tomat D, Casabonne C, Aquili V, Balagué C, Quiberoni A. (2018) *Food Microbiol.*76:434-42.

Viazis S, Akhtar M, Feirtag J, Brabban AD, Diez-Gonzalez F. (2011a). *J. Appl. Microbiol.* 110:1323-31.

## Carta de Aceptación

Por la presente declaro oficialmente mi aceptación para recibir a la candidata Ana Juárez de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA) para realizar una pasantía de formación en el Centro Integral de Microscopía Electrónica (CIME – CONICET/UNT), bajo mi supervisión.

Durante la pasantía, la candidata recibirá capacitación en microscopía electrónica de transmisión (TEM) y de barrido (SEM) para la caracterización estructural y funcional de bacteriófagos. Para tal efecto, me comprometo a proporcionar la infraestructura computacional y de laboratorio necesaria.

En la esperanza de que la solicitud de beca de la candidata sea aprobada, agradezco de antemano, a los 24 días del mes de febrero de 2025.



Virginia H. Albarracín  
Responsable Científica - CIME



## Facultad de Ciencias Veterinarias

Secretaría de Investigación y Posgrado

### CAPITULO I

#### DE LA CARRERA DE DOCTORADO

##### Artículo 1°

- a. El título de Doctor en Ciencia Animal que otorga la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires a través de la Facultad de Ciencias Veterinarias será el de máxima jerarquía académica.
- b. El título de Doctor en Ciencia Animal se otorgará de acuerdo a lo dispuesto en el presente reglamento.

##### Artículo 2°

Podrán aspirar a ingresar a la Carrera de Doctorado en Ciencia Animal los egresados de esta Facultad o de otras Facultades de Ciencias Veterinarias, Agronomía y/o disciplinas afines del país o del extranjero. Los egresados con título del extranjero deberán cumplir con los requisitos de validación de título de grado para la República Argentina.

##### Artículo 3°

Para obtener el grado de Doctor, previo cumplimiento de los requisitos generales de este reglamento y de los especiales que se establezcan para cada candidato, el doctorando deberá:

- a. Desarrollar, defender y aprobar un trabajo de Tesis que acredite su capacidad para la investigación o el desarrollo de tecnologías originales, en forma independiente, que contribuya al progreso del área de conocimiento que eligió. La Tesis deberá ser realizada bajo la dirección de un Director de Tesis. Cuando la naturaleza de la propuesta lo justifique se podrá aceptar la figura de un Co-director de Tesis.
- b. Aprobar cuatro cursos de posgrado obligatorios de formación general con una duración total de 440 horas.
- c. Aprobar cursos de formación específica de acuerdo con la especialidad elegida hasta reunir un total de 160 horas.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO  
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**



- d. Aprobar dos seminarios públicos, el primero como requisito para la admisión formal a la Carrera de doctorado y el segundo para la presentación de resultados parciales.
- e. Demostrar conocimiento de idioma Inglés aprobando el examen de idioma implementado al efecto por el Departamento de Idiomas de esta Universidad.

#### **Artículo 4°**

El desarrollo del programa, del trabajo de Tesis y la defensa de la misma deberán ser cumplidos en un periodo mayor a 3 años y sin exceder los 4 años y medio calendario. Las fechas de iniciación y finalización de la Carrera serán las correspondientes a la admisión y a la defensa de Tesis, respectivamente. En caso de existir circunstancias que lo justifiquen, el plazo podrá ser extendido por un año por única vez.

## **CAPITULO II DE LA ORGANIZACION**

#### **Artículo 5°**

La Carrera de Doctorado en Ciencia Animal dependerá administrativamente de la Secretaría de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.N.C.P.B.A.

#### **Artículo 6°**

La conducción de la Carrera será ejercida por la Comisión de Doctorado. Uno de los miembros de dicha Comisión ejercerá la dirección de la Carrera. El Director será designado por el Consejo Académico entre los miembros de la Comisión de Doctorado a propuesta de la Comisión y por un periodo de cuatro años pudiendo ser reelegido por un periodo adicional. La Comisión de Doctorado será designada por el Consejo Académico a propuesta de la Secretaría de Investigación y Posgrado. Estará integrada por un mínimo de



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO  
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**



(5) cinco profesores ordinarios. Tanto el Director como los miembros de la Comisión deberán poseer el título de Doctor y acreditar una labor científica original de jerarquía reconocida, en particular por sus publicaciones y haber demostrado capacidad para la formación de recursos humanos y discípulos.

### **Artículo 7°**

El Director de la Carrera de Doctorado tendrá las siguientes funciones:

- a. Presidir la Comisión de Doctorado.
- b. Convocar a la Comisión del Doctorado toda vez que se estime necesario.
- c. Asesorar a potenciales candidatos al Doctorado acerca de las políticas, procesos y condiciones de admisión, evaluación, promoción y graduación.
- d. Conducir seminarios, defensas de Tesis y todo otro tipo de actividades inherentes a la Carrera de Doctorado.
- e. Proponer acciones tendientes a mantener o incrementar la excelencia del Doctorado.
- f. Llevar adelante los procesos de acreditación del Doctorado.
- g. Promover actividades que favorezcan el aprovechamiento del potencial académico, científico y tecnológico tendiente a la creación de grupos de trabajo e implementación de líneas de investigación relacionadas con el desarrollo del doctorado.
- h. Promover convenios con otras instituciones nacionales o extranjeras.
- i. Gestionar fondos para la financiación de la Carrera de Doctorado.
- j. Toda otra actividad que se desprenda de los objetivos de la presente Carrera.

### **Artículo 8°**

La Comisión de Doctorado tendrá las siguientes funciones:

*Pinto 399 (7000) Tandil - ARGENTINA - Tel/Fax: (54) 249 -4439850 y líneas rotativas  
www.vet.unicen.edu.ar*



- a. Cumplir y hacer cumplir estrictamente el presente reglamento.
- b. Evaluar los antecedentes de los postulantes al Doctorado.
- c. Acreditar cursos y otros antecedentes a solicitud de los doctorandos.
- d. Designar evaluadores externos e internos.
- e. Proponer al Consejo Académico, la admisión definitiva de los postulantes a la Carrera de Doctorado.
- f. Formar parte del Comité evaluador en instancias del primer y segundo seminario.
- g. Proponer al Consejo Académico los aranceles a aplicar.
- h. Supervisar el desarrollo general de los estudios del Doctorado y proponer al Consejo Académico, para su ulterior aprobación, las medidas y normas complementarias que estime convenientes para la mejor realización y una mayor jerarquización del mismo.
- i. Toda otra actividad que se desprenda de los objetivos de la presente Carrera.

### **CAPITULO III**

#### **DE LOS ARANCELES DEL DOCTORADO**

#### **Artículo 9°**

El Doctorado será arancelado. Los doctorandos deberán abonar:

- Un arancel anual a partir de su admisión formal a la Carrera y hasta la defensa final de Tesis.
- Los aranceles correspondientes a cursos obligatorios y optativos.

#### **Artículo 10°**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO  
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**



El Consejo Académico de la Facultad de Ciencias Veterinarias establecerá anualmente los montos de los distintos aranceles a propuesta de la Comisión de Doctorado.

## **CAPITULO IV**

### **DE LA ADMISIÓN A LA CARRERA Y EL PLAN DE TESIS**

#### **Artículo 11°**

- a. El aspirante deberá solicitar una entrevista con el Director de la Carrera o Secretario de Investigación y Posgrado a efectos de manifestar los motivos de su interés en realizar el Doctorado a la vez de interiorizarse sobre los distintos aspectos del mismo.
- b. Posteriormente deberá presentar una solicitud de admisión a la Carrera del Doctorado, adjuntando la documentación requerida en el formulario correspondiente. Asimismo, propondrá un Director de Tesis, tema y lugar de trabajo.

#### **Artículo 12°**

La propuesta de Tesis no deberá exceder 30 páginas a doble espacio, de acuerdo al siguiente esquema:

1. Título
2. Resumen
3. Antecedentes existentes sobre el tema
4. Objetivos generales y particulares
5. Diseño experimental
6. Resultados experimentales, si los hubiera
7. Lugar de trabajo y disponibilidad de equipamiento, infraestructura y recursos económicos
8. Cronograma tentativo de tareas
9. Bibliografía
10. Dictamen del Comité de Bienestar Animal si el proyecto contemplara la utilización de animales.



### **Artículo 13°**

- a. Una primera evaluación de la propuesta de Tesis será realizada por la Comisión de Doctorado a fin de evaluar aspectos tales como pertinencia y salvaguarda ética y ambiental. En caso de que la propuesta de Tesis no fuera aceptada, la Comisión de Doctorado dará el trámite que corresponda a las objeciones y/o recomendaciones que motivaron tal decisión.
- b. Una vez aceptada la propuesta por parte de la Comisión, la misma será enviada a un mínimo de tres pares evaluadores externos a la Institución, a efectos de la evaluación de la calidad científica, originalidad y factibilidad de la misma.
- c. En base a los informes de los evaluadores externos, la Comisión de Doctorado resolverá si la propuesta merece ser aceptada sin cambio alguno, si requiere cambios o si debería ser rechazada. Estas conclusiones serán comunicadas al aspirante, quien deberá contestar, con conocimiento y aval de su Director, dentro de los sesenta días. A requerimiento de alguno de los evaluadores o de la Comisión de Doctorado, el proyecto reformulado podrá ser remitido nuevamente para su evaluación luego de realizadas las modificaciones requeridas.
- d. Una vez finalizado el proceso de evaluación externa, la Comisión de Doctorado resolverá sobre la presentación oral de la propuesta de Tesis. Dicha resolución será comunicada al aspirante quien contará con un plazo máximo de seis meses para la presentación del primer seminario.

### **Artículo 14°**

- a. Primer seminario: el aspirante deberá presentar y defender en forma oral y pública su propuesta de Tesis demostrando conocimientos sobre la temática a estudiar y capacidad para sintetizar y presentar información científica.
- b. Luego de concluida la presentación pública el doctorando mantendrá una entrevista privada con el Comité Evaluador a efectos de ampliar aspectos inherentes a su programa en la Carrera de Doctorado.
- c. El Comité Evaluador estará integrado por al menos uno de los evaluadores externos, un evaluador interno perteneciente a la Universidad convocado a tal fin y miembros de la Comisión de Doctorado.
- d. En caso de no ser satisfactorio, el aspirante podrá presentar el seminario nuevamente por única vez.



### **Artículo 15°**

Como requisito para la admisión, el aspirante deberá rendir un examen de idioma inglés de carácter diagnóstico implementado al efecto por el Departamento de Idiomas de esta Universidad. En caso de no poseer el nivel exigido para cumplir con el requisito establecido en el *Art. 3.e* del presente reglamento al momento de la admisión, el doctorando deberá rendir nuevamente y acreditar el nivel requerido como condición previa para la defensa final de la Tesis.

### **Artículo 16°**

Una vez cumplidos con todos los requisitos de admisión, la Comisión de Doctorado solicitará al Honorable Consejo Académico, la admisión formal a la Carrera de Doctorado del aspirante.

## **CAPITULO V**

### **DE LOS CURSOS REQUERIDOS**

### **Artículo 17°**

- a. Para cumplir con los requisitos referidos en el *Art. 3.b* el doctorando deberá aprobar cuatro (4) cursos de formación general cuya obligatoriedad es común a todos los doctorandos y comprenden un mínimo de 440 horas:
  - Estadística y Diseño Experimental,
  - Biotecnología Molecular,
  - Planeamiento Científico,
  - Metodología de las Ciencias

- b. Cada curso tendrá una evaluación final la que podrá rendirse sólo en dos oportunidades. Las fechas de examen serán establecidas por el responsable del curso dentro del año

*Pinto 399 (7000) Tandil - ARGENTINA - Tel/Fax: (54) 249 -4439850 y líneas rotativas*

*www.vet.unicen.edu.ar*



calendario del dictado del mismo. En caso de ser necesaria una segunda instancia de evaluación, el doctorando deberá solicitarla por escrito al responsable del curso.

- c. Los doctorandos podrán solicitar la equivalencia con cursos de contenidos similares realizados y aprobados en otros sistemas formales de posgrado. Las solicitudes serán analizadas por la Comisión de Doctorado y puestas a consideración de los docentes responsables de los cursos propios del Doctorado.

### **Artículo 18°**

- a. Para cumplir con los requisitos referidos en el *Art. 3.c* el doctorando deberá reunir 160 horas en cursos de formación específica con anterioridad a la presentación de su trabajo de Tesis. Dichos cursos serán propuestos a la Comisión de Doctorado para su evaluación previo acuerdo con el Director de Tesis. Si la Comisión de Doctorado considerare que la propuesta de cursos no es la adecuada y/o suficiente para la formación académica del candidato, la misma podrá ser rechazada y/o sugerirse modificaciones.
- b. Los cursos de formación específica deberán ser dictados por especialistas, revestir el carácter de posgrado, tener evaluación y la temática debe mantener relación con el tema de Tesis.
- c. Serán aceptados cursos de posgrado ofrecidos por la Facultad de Ciencias Veterinarias (U.N.C.P.B.A.) o dictados en otras instituciones nacionales o extranjeras. En el caso de cursos dictados en otras instituciones, el doctorando deberá proporcionar a la Comisión de Doctorado información acerca de los contenidos, duración, responsables, modalidad, y forma de evaluación.

### **Artículo 19°**

- a. Podrán acreditarse horas por cursos realizados hasta 6 años antes de la inscripción al doctorado.
- b. Una vez cumplido el total de horas curso requeridas (600 horas), el doctorando solicitará la certificación de los mismos a la Comisión de Doctorado mediante presentación de los certificados que acrediten su aprobación para su elevación al Consejo Académico.



---

## **CAPITULO VI**

### **DE LOS DIRECTORES DEL PLAN DE ESTUDIO Y TESIS**

#### **Artículo 20°**

- a. El Director y Co-Director del plan de estudio y Tesis podrán ser profesores o investigadores pertenecientes a la Facultad o no, que acrediten haber realizado una labor científica original y demostrado capacidad para la formación de recursos humanos.
- b. El Director y el Co-Director deberán poseer grado académico de Doctor o antecedentes equivalentes.
- c. El lugar de trabajo del doctorando deberá coincidir con el del Director o Co-Director.
- d. En caso de ausencia/licencia del Director será reemplazado en sus funciones por el Co-Director. En caso de no contar con un Co-Director, la Comisión de Doctorado evaluará la situación y eventualmente propondrá un Director suplente durante la ausencia del Director.
- e. En caso de renuncia del Director y/o Co-Director, la Comisión de Doctorado evaluará la situación con el doctorando y propondrá al Consejo Académico la designación de un nuevo Director/Co-Director.

#### **Artículo 21°**

Serán funciones y responsabilidades del Director y Co-Director:

- a. Asesorar al doctorando en la elaboración del plan de investigaciones, orientarlo sobre las metodologías más adecuadas para su desarrollo y en la elaboración de la Tesis.
- b. Supervisar en forma permanente el desarrollo del trabajo de investigación.
- c. Asesorar al doctorando sobre los cursos específicos a realizar.
- d. Evaluar periódicamente el desarrollo de las investigaciones y el cumplimiento de los estudios y tareas indicadas en su programa.
- e. Informar sobre la actividad y desempeño del doctorando a la Comisión de Doctorado cuando lo considere oportuno y/o le sea requerido.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO  
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**



- f. Supervisar el cumplimiento del presente Reglamento por parte del doctorando y avalar sus presentaciones ante la Carrera del Doctorado.

## **CAPITULO VII**

### **DEL SEGUIMIENTO DEL DOCTORANDO**

#### **Artículo 22°**

- a. Una vez alcanzado un desarrollo significativo del trabajo de investigación y con el acuerdo del Director de Tesis, el doctorando deberá presentar un segundo seminario en el que expondrá el grado de avance del proyecto, las dificultades encontradas y las tareas pendientes para la finalización de su plan de Tesis.
- b. Dicho seminario tendrá las mismas pautas y formas de evaluación que el primero, pudiendo ser presentado en una única segunda oportunidad en caso de ser considerado no satisfactorio.

#### **Artículo 23°**

- a. El plan original de Tesis podrá ajustarse o modificarse, con el acuerdo del Director/ Co-Director de Tesis, en base a los avances en la investigación si ello no significa una modificación sustancial del plan de trabajo original. En caso de que los cambios sean sustanciales, dichos ajustes o modificaciones deberán ser comunicados a la Comisión de Doctorado pudiendo dar lugar a una nueva revisión por parte de los evaluadores externos. Los evaluadores externos podrán sugerir cambios o ajustes al plan original.
- b. El título de la Tesis podrá ser modificado total o parcialmente con respecto a la presentación original a criterio de los evaluadores externos/interno o del doctorando y el Director/Co-Director. Dicho cambio deberá ser debidamente informado a la Comisión de Doctorado.

## **CAPITULO VIII**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO  
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**



## **DE LA PRÓRROGA Y EXCLUSIÓN DE LA CARRERA DEL DOCTORADO**

### **Artículo 24°**

- a. Si el doctorando no pudiera concretar la presentación de la Tesis en los plazos previstos en el artículo 4 del presente reglamento, podrá solicitar una prórroga a la Comisión de Doctorado, con anterioridad a su vencimiento. Dicha solicitud deberá estar debidamente fundamentada y avalada por el director. La prórroga se concederá por el plazo de un año. En casos excepcionales se podrá extender, por única vez, por otro año adicional.
- b. El doctorando podrá solicitar licencia por un plazo acumulado no mayor a un año por motivos justificados. Durante dicho período quedarán suspendidos los plazos y obligaciones académicas y administrativas contempladas en el presente reglamento.

### **Artículo 25°**

El vencimiento de los plazos de prórroga otorgados o la falta de cumplimiento por parte del doctorando de los requisitos y obligaciones emanados de este reglamento, serán motivo, previa comunicación al director, de exclusión del doctorando de la Carrera de Doctorado.

## **CAPITULO IX**

### **DEL EXAMEN DE TESIS Y EL JURADO DE TESIS**

### **Artículo 26°**

- a. Una vez cumplidos los requisitos establecidos en el programa de Doctorado, el doctorando podrá solicitar, previa conformidad con su Director, la evaluación final del trabajo de Tesis. Para ello, presentará una solicitud, acompañada de la versión escrita de la Tesis redactada de acuerdo con la forma y estilo detallados en la Guía para la confección de la Tesis Doctoral. En caso de que el Director no diera su conformidad, la Comisión intervendrá al respecto.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO  
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**



- b. El Jurado de Tesis estará constituido por dos de los tres evaluadores externos que evaluaron el proyecto de Tesis y el evaluador interno. En aquellos casos en los que no sea posible contar con la participación de los evaluadores que participaron en la evaluación del proyecto, se deberá convocar a nuevos evaluadores al solo fin de constituir el Jurado de Tesis.
- c. La evaluación de la versión escrita de la Tesis podrá resultar en su:
1. Aceptación sin correcciones o con correcciones menores.
  2. Aceptación condicionada a modificaciones mayores.
  3. Rechazada con dictamen fundado el cual deberá ser avalado por la Comisión de Doctorado.

#### **Artículo 27°**

- a. Si el Jurado considera que el trabajo de Tesis está en condiciones de ser defendido, y a solicitud del doctorando, se acordará la fecha de la defensa oral y pública y se dará a publicidad.
- b. El tribunal evaluador estará constituido por los dos evaluadores externos y el evaluador interno.
- c. Al momento de la defensa, el doctorando deberá entregar un ejemplar del manuscrito de Tesis adjuntando una nota del Director quien se responsabiliza de que todos los cambios sugeridos por el Jurado hayan sido tomados en consideración.
- d. El doctorando en clase pública efectuará la defensa de su Tesis, en una exposición de una hora como máximo. El Jurado podrá, al finalizar la presentación, efectuar las preguntas que estime pertinentes.
- e. Realizada la defensa de la Tesis, el Jurado deberá expedirse al término de dicho acto y comunicar a la Comisión de Doctorado su dictamen. El mismo, que estará fundado en la evaluación de la versión escrita de la Tesis y en su defensa oral, podrá:



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO  
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**



1. Aprobarla por dictamen fundado y calificarla con:

- Aprobado: 6 (seis)
- Aprobado bueno: 7 (siete)
- Aprobado muy bueno: 8 (ocho)
- Aprobado distinguido: 9 (nueve)
- Aprobado excelente: 10 (diez)

2. Desaprobarla con dictamen fundado.

- f. En caso de dictamen dividido, se dará participación a los miembros de la Comisión de Doctorado presentes en la defensa oral.
- g. Todas las actuaciones del Jurado deberán asentarse en el Libro de Actas habilitado a tal efecto, con la firma de sus integrantes y miembros de la Comisión.
- h. El doctorando dispondrá de un plazo de 30 días para la entrega de tres ejemplares encuadernados en su versión final.

### **Artículo 28°**

Cumplidos todos los requisitos emanados de este Reglamento, la Secretaría de Investigación y Posgrado dará curso a los trámites necesarios para que la Universidad Nacional del Centro expida el título de Doctor en Ciencia Animal.