



## Curso de Posgrado

---

### *Aplicación de herramientas de biología molecular para el diagnóstico y estudio epidemiológico de microorganismos patógenos presentes en cadenas agroalimentarias*

#### Curso de posgrado

**Organizado por:** Departamento de Salud Pública, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV) - Universidad Nacional del Litoral (UNL), Laboratorio de Análisis de Alimentos, ICIVET Litoral UNL/CONICET, Laboratorio de Epidemiología y enfermedades infecciosas (IDICAL, INTA-CONICET, EEA-INTA Rafaela).

**Directora:** Dra. Cecilia Camussone

**Coordinadora:** Dra. M. Virginia Zbrun

**Docente invitada:** Dra. Lucía Galli

**Docentes:** Dr. Marcelo Signorini, Dr. Ariel Amadio, Lic. Joaquín Cicotello, Dr. Jorge A. Zimmermann, Dr. Federico Acosta, Dra. Ma. Laura Werning, Dra. Lorena P. Soto, Dra. Julia Ruiz.

#### OBJETIVOS:

- Comprender la importancia del estudio de las cadenas agroalimentarias en la epidemiología de los patógenos presentes en alimentos.
- Introducir al alumno en las diferentes metodologías que permiten la identificación de microorganismos que afectan la inocuidad de los alimentos.
- Evaluar diferentes estrategias para el estudio epidemiológico de microorganismos patógenos presentes en cadenas agroalimentarias.
- Comprender la importancia de los estudios de secuenciación de genomas completos como herramienta de biología molecular.

**DIRIGIDO A:** Veterinarios, Lic. en Biotecnología, Profesionales de la Industria, Bioquímicos, Profesionales del Área de Salud, Profesionales del Área de Alimentos, Biólogos, Médicos y Profesionales afines.

**REQUISITOS DE FORMACIÓN PREVIA DE LOS INSCRIPTOS:** Técnicos de Laboratorio y/o Profesionales con conocimientos básicos de Biología y Microbiología. Se requiere previo conocimiento del Idioma Inglés (lectura y comprensión de textos).

#### Cronograma de dictado:

Jueves 2 y viernes 3 de junio, jueves 9 y viernes 10 de junio. **Horario:** de 16 a 20 h.

**Carga horaria:** Carga horaria total 20 h (1 UCA). Las mismas se distribuirán en 4 encuentros virtuales



## Curso de Posgrado

---

semanales de 4 horas y se destinarán 4 h a la realización de un trabajo final.

**Evaluación:** Escrita (multiestructurada). Se entregará una evaluación, la cual deberá ser resuelta individualmente por cada uno de los asistentes.

**Modalidad del curso:**

Virtual. Las actividades son teóricas y prácticas. Las actividades prácticas se realizarán mediante la utilización de videos explicativos de las técnicas empleadas en el laboratorio.

**Costo del curso:** \$5000

**CONTENIDOS**

1. Introducción a la aplicación de herramientas de Biología Molecular aplicadas al estudio de patógenos (*Campylobacter* termotolerante, *S. aureus*, *E. coli*) presentes en cadenas agroalimentarias. Revisión de conceptos generales sobre estructura y función de ácidos nucleicos. Obtención y purificación de ADN. Métodos de cuantificación. Electroforesis en geles de agarosa. Equipamiento y elementos básicos, bioseguridad.
2. Utilización de PCR convencional y PCR en tiempo real. Ventajas y desventajas. Aplicación en el área de patógenos presentes en cadenas agroalimentarias.
3. Aplicación de herramientas de biología molecular al estudio epidemiológico de microorganismos relacionados a la salud pública (PCR-RFLP, PFGE, WGS).
4. Usos y aplicaciones de la secuenciación de genomas completos en los estudios epidemiológicos de patógenos presentes en cadenas agroalimentaria.

**LINK DE INSCRIPCIÓN:** [Formulario Inscripción](#)

**CONSULTAS:** [posgrado@fcv.unl.edu.ar](mailto:posgrado@fcv.unl.edu.ar)

**CRONOGRAMA:**

**Jueves 02/06/22**

**16 a 17.30:** Teoría 1. BIENVENIDA AL CURSO. Introducción a la aplicación de herramientas de Biología Molecular aplicadas al estudio de patógenos (*Campylobacter termotolerante*, *S. aureus*, *E. coli*) presentes en cadenas agroalimentarias. Ma. Virginia Zbrun.

Teoría 2. Revisión de conceptos generales sobre estructura y función de ácidos nucleicos. Obtención y purificación de ADN. Métodos de cuantificación. Electroforesis en geles de agarosa. Equipamiento y elementos básicos, bioseguridad. Cecilia Camussone, Lorena Soto



## Curso de Posgrado

---

**17.45 a 18.45 h:** Práctica. Extracción de ADN de bacterias Gram positivas y negativas (*S. aureus*, *Campylobacter termotolerante*, *Salmonella* y *E. coli*). Cuantificación de ADN. Armado de gel de agarosa. Corrida electroforética. Joaquín Cicotello, Jorge A. Zimmermann, Federico Acosta, Ma. Laura Werning.

**19 a 20 h:** Interpretación de resultados. Actividades a resolver. Respuesta a dudas. Conclusión y cierre. Ma. Virginia Zbrun, Cecilia Camussone, Lorena Soto, Joaquín Cicotello, Jorge A. Zimmermann, Federico Acosta, Ma. Laura Werning.

### Viernes 03/06/22

**16 a 17.30:** Teoría 3. Utilización de PCR convencional y PCR en tiempo real. Cecilia Camussone, Lorena Soto, Dra. Julia Ruiz.

Teoría 4. Aplicación de PCR real time para detección de *E. coli* O:157. Utilización de una PCR multiplex para identificación de *Campylobacter termotolerante*. Lucía Galli, Ma. Virginia Zbrun.

**17.45 a 18.45 h:** Práctica. Insumos y cálculos de PCR convencional. Reacción de PCR convencional. Insumos y cálculos de Real time PCR. Reacción de Real time PCR. Jorge A. Zimmermann, Federico Acosta, Ma. Laura Werning, Lucía Galli

**19 a 20 h:** Interpretación de resultados. Actividades a resolver. Respuesta a dudas. Conclusión y cierre. Cecilia Camussone, Lorena Soto, Lucía Galli, Ma. Virginia Zbrun, Jorge A. Zimmermann, Federico Acosta, Ma. Laura Werning, Dra. Julia Ruiz.

### Jueves 09/06/22

**16 a 17.30:** Teoría 5. Conceptos básicos de epidemiología. Estudios de brotes epidemiológicos. Marcelo Signorini.

Teoría 6. Aplicación de herramientas de biología molecular al estudio de patógenos zoonóticos presentes en las cadenas agroalimentarias. Ma. Virginia Zbrun.

**17.45 a 18.45 h:** Práctica. Aplicación en estudios epidemiológicos de metodologías como PCR-RFLP, MLST (tipificación multilocus de secuencias) y PFGE (electroforesis en gel de campos pulsados). Ma. Virginia Zbrun, Cecilia Camussone.

**19 a 20 h:** Interpretación de resultados. Actividades a resolver. Respuesta a dudas. Conclusión y cierre. Ma. Virginia Zbrun, Cecilia Camussone, Marcelo Signorini.

### Viernes 10/06/22



## Curso de Posgrado

---

**16 a 17:** Teoría 7. Usos y aplicaciones de la secuenciación de genomas completos en los estudios epidemiológicos. Ariel Amadio

**17.15 a 18.15 h:** Práctica. Estudio de un brote de ETA (enfermedad transmitida por alimentos): importancia de las herramientas de biología molecular para el estudio epidemiológico. Ma. Virginia Zbrun, Ariel Amadio, Lucía Galli.

**18.30 a 20 h:** Interpretación de resultados. Actividades a resolver. Respuesta a dudas. Conclusión y cierre.

### **Bibliografía**

- Carson, S., Miller, H.B. and Witherow, D.S. 2012. Molecular Biology Techniques. Third edition. Elsevier Inc. Isolation and Quantification of DNA Cold Spring Harb Protoc; 2018; doi:10.1101/pdb.top093336
- Chen, W. P., & Kuo, T. T. (1993). A simple and rapid method for the preparation of gram-negative bacterial genomic DNA. *Nucleic acids research*, 21(9), 2260.
- Cornejo Romero Amelia, Alejandra Serrato Díaz, Beatriz Rendón Aguilar, Martha Graciela Rocha Munive. Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos. Capítulo 2: Electroforesis de ADN. Francisco Fierro Fierro.
- Díaz, A. S., Rentería, L. F., Cortez, J. A., & Palacios, E. S. (2014). PCR: reacción en cadena de la polimerasa. *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos*, 53.
- Foddai, A.C.G., Grant, I.R. Methods for detection of viable foodborne pathogens: current state-of-art and future prospects. *Appl Microbiol Biotechnol* 104, 4281–4288 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10542-x>.
- Green, M. R., & Sambrook, J. (2018). Constructing a standard curve for real-time polymerase chain reaction (PCR) experiments. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018(10), pdb-prot095026.
- Hawkins S.F.C., Guest P.C. (2017) Multiplex Analyses Using Real-Time Quantitative PCR. In: Guest P.C. (eds) Multiplex Biomarker Techniques. *Methods in Molecular Biology*, vol 1546. Humana, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6730-8\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6730-8_8).
- Jahan, S., Chowdhury, S. F., Mitu, S. A., Shahriar, M., & Bhuiyan, M. A. (2015). GENOMIC DNA EXTRACTION METHODS: A COMPARATIVE CASE STUDY WITH GRAM-NEGATIVE ORGANISMS. *Banat's Journal of Biotechnology*, 6(11).
- Karcher, S.J. 1995. MOLECULAR BIOLOGY. A Project Approach. ACADEMIC PRESS, INC. San Diego. California
- Lorenz, T. C. (2012). Polymerase chain reaction: basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (63), e3998.
- Queipo-Ortuño, M. I., De Dios Colmenero, J., Macias, M., Bravo, M. J., & Morata, P. (2008). Preparation of bacterial DNA template by boiling and effect of immunoglobulin G as an inhibitor in real-time PCR for serum samples from patients with brucellosis. *Clinical and Vaccine Immunology*, 15(2), 293-296.
- Shanwei Tong, Luyao Ma, Jennifer Ronholm, William Hsiao, Xiaonan Lu (2021). Whole genome



## Curso de Posgrado

---

- sequencing of *Campylobacter* in agri-food surveillance. *Current Opinion in Food Science*, 39, 130-139. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799321000047#!https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.12.020>
- World Health Organization. (2018). Whole genome sequencing for foodborne disease surveillance: landscape paper. World Health Organization <https://www.who.int/publications/i/item/whole-genome-sequencing-for-foodborne-disease-surveillance>
  - Xiao, X., Zhang, J., Zhang, Q., Wang, L., Tan, Y., Guo, Z., ... & Zhou, D. (2011). Two methods for extraction of high-purity genomic DNA from mucoid Gram-negative bacteria. *African Journal of Microbiology Research*, 5(23), 4013-4018.