



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)

A. DATOS GENERALES DEL PROYECTO

TIPOLOGÍA		
Investigación Básica <input checked="" type="checkbox"/>	Investigación Aplicada <input type="checkbox"/>	Desarrollo Tecnológico <input type="checkbox"/>

TÍTULO
Determinación de la actividad antimicrobiana de extractos de uchuva (<i>Physalis peruviana</i>) sobre bacterias patógenas aisladas de carne e identificadas mediante técnicas moleculares.

ÁREA TEMÁTICA DE I+D EN EL QUE TENDRÁ IMPACTO EL PROYECTO

GENÉTICA Y BIOTECNOLOGÍA	Conservación, mejoramiento y propagación de especies vegetales de interés local, regional y nacional	
	Mejoramiento genético de variedades de interés comercial, medicinal, artesanal, nutricional y forestal	
	Caracterización genética del ganado	
	Caracterización de plantas y principios activos	✓
	Identificación de metabolitos secundarios de plantas, hongos y bacterias	
	Caracterización botánica de especies endémicas y de la región.	
	Aplicación de organismos y/o productos generados, en el mejoramiento de suelos, alimentos y agua.	✓
GESTION EN SALUD	Atención primaria en salud	
	Talento humano (formación del talento humano en salud y enfermería)	
	Calidad del cuidado de enfermería	
	Participación Social	
ENFERMEDADES PREVALENTES TRANSMISIBLES Y NO TRANSMISIBLES	VII y Tuberculosis	
	Alteraciones de la nutrición	
	Patologías maternas y neonatales	
	Enfermedades tropicales	
	Alteraciones en la salud mental	
SALUD ANIMAL	Enfermedades transmisibles y no transmisibles en relación a aspectos epidemiológicos, manejo clínico, diagnóstico y tratamiento.	
	Enfermedades Endócrinas	
BIODIVERSIDAD Y PATRIMONIO NATURAL	Caracterización, manejo y conservación de ecosistemas	
HIDROLOGÍA	Hidrología/ Hidráulica, Distribución de precipitaciones, periodos de retorno	
RIESGOS Y CATÁSTROFES	Prevención de Riesgos/Catástrofes, vulnerabilidad a diferentes tipos de fenómenos naturales. Meteorología, Vulcanología y sismología	
AGROPECUARIAS	Seguridad y Soberanía Alimentaria	
	Mejoramiento genético; pastos y forrajes; incremento de la producción pecuaria.	
AGROINDUSTRIA	Potenciamiento del desarrollo de técnicas y tecnologías	✓



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



	Agroindustriales	
BIOMASA	Valorización de la Biomasa residual , con fines de utilización energética, industrial y agrícola	
ACUICULTURA	Estudios de sistemas acuícolas	
TECNOLOGÍAS DE LA INFORMACIÓN Y COMUNICACIÓN (TIC'S)	Software para procesos de gestión y administración público y privada	
	Conectividad y telecomunicaciones en la sociedad de la información y el conocimiento.	
	Aplicaciones de geo informática	
ADMINISTRACIÓN	Economía popular y solidaria: creación de emprendimientos sustentables	
	Modelos económico administrativos en el desarrollo y crecimiento de las PYMES	
GESTIÓN EMPRESARIAL	Modelos de gestión administrativa en el sector público y privado en el campo turístico y hostelero, en zonas y áreas de riqueza paleontológica, arqueológica, antropológica	
	Estrategias administrativas de gestión social en los GADS parroquiales.	
	Mecanismos de desempeño para la preservación de las expresiones culturales	
EDUCACIÓN Y CONOCIMIENTO	Diversidad del aprendizaje - enseñanza	
	Correlaciones educativas en los procesos de generación de saberes y técnicas ancestrales.	
	Ambientes y estrategias de enseñanza - aprendizaje a grupos de vulnerabilidad social y económica	
	Pedagogía y Didáctica intercultural en contextos urbanos y rurales para la educación alternativa	
INTERCULTURALIDAD	Saberes	
	Aprendizaje intercultural y diálogo de saberes.	
	Comunicación intercultural en escenarios de identidad social	
	Modelos de estudios ancestrales e interculturales	
	Tecnología y practica ancestral en la formación	
DERECHOS Y GARANTIAS DEL BUEN VIVIR	Participación y organización del poder.	
	Derechos de naturaleza, humanos y biodiversidad	

TIEMPO DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO

Duración del proyecto en meses

12 meses.

FINANCIAMIENTO DEL PROYECTO

Monto total del financiamiento del proyecto

30000 USD

Monto Financiamiento Universidad Estatal de Bolívar

30000 USD

Monto Financiamiento Contraparte

0



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)

Instituto de Investigación



B. LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DEL PROYECTO.

COBERTURA DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO (Selección sólo un tipo de cobertura)	
Nacional <input type="checkbox"/>	
Zonas de Planificación <input type="checkbox"/>	Zona 1 (Carchi, Esmeraldas, Imbabura y Sucumbíos) <input type="checkbox"/>
	Zona 2 (Napo, Orellana y Pichincha) <input type="checkbox"/>
	Zona 3 (Chimborazo, Cotopaxi, Pastaza y Tungurahua) <input type="checkbox"/>
	Zona 4 (Manabí, Sto. Domingo de los Tsáchilas) <input type="checkbox"/>
	Zona 5 (Bolívar, Guayas, Los Ríos y Santa Elena) <input checked="" type="checkbox"/>
	Zona 6 (Azuay, Cañar y Morona Santiago) <input type="checkbox"/>
	Zona 7 (El Oro, Loja y Zamora Chinchipe) <input type="checkbox"/>
	Zona 8 (Cantones Guayaquil, Samborondón, Durán) <input type="checkbox"/>
	Zona 9 (Distrito Metropolitano de Quito) <input type="checkbox"/>
Provincial <input type="checkbox"/>	Bolívar
Local <input type="checkbox"/>	Provincia Bolívar Cantón Guaranda

C. DATOS DE LA INSTITUCIÓN EJECUTORA.

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR			
Representante Legal	Barragán Vinueza Ulises Eduardo	Cédula de identidad	0200563708
Teléfonos:	(593) 03 -2206059	Fax	Correo Electrónico ubarragan@ueb.edu.ec
Dirección	Avenida Ernesto Che Guevara s/n y Gabriel Secaira		
Página Web Institucional	www.ueb.edu.ec		
Órgano Ejecutor	Instituto de Investigación de la Universidad Estatal de Bolívar		

D. INVESTIGACIÓN COMPARTIDA

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE			
Representante Legal	Miguel Edmundo Naranjo Toro	Cédula de identidad	1060001070
Teléfonos:	(593 6) 2997800	Fax (593 6) 2997800 ext. 7001	gtenea@hotmail.com
Dirección	Calle Principal: Av. 17 de JULIO, Calle Secundaria: GRAL. JOSE MARIA CORDOVA		
Página Web Institucional	www.utn.edu.ec		
Órgano Ejecutor	Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular		



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología – SENESCYT)

Instituto de Investigación



GOBIERNO AUTÓNOMO DESCENTRALIZADO DE LA PROVINCIA DE BOLÍVAR			
Representante legal	Dr. Vinicio Coloma	Cedula de identidad	0200578797
Teléfonos	Telef. (593 6) 2982190		
Dirección	Calle principal: Av. Cándido Rada 101 y 9 de abril		
Página web Institucional	prefectura@bolivar.gov.ec		
Órgano ejecutor	Laboratorio de Análisis y Control de Calidad de Alimentos		

E. PERSONAL CIENTÍFICO-TÉCNICO DEL PROYECTO

PERSONAL DEL PROYECTO

Nota: Debe incluirse al personal tanto de la institución postulante, como de la(s) institución(es) que comparten la investigación. Si es necesario añade una fila por cada miembro del equipo científico-técnico del proyecto

FUNCIÓN	CÉDULA DE IDENTIDAD	NOMBRE COMPLETO	FACULTAD A LA QUE PERTENECE	TELÉFONO FIJO, CELULAR Y CORREO ELECTRÓNICO
Director del Proyecto	0701189433	María Bernarda Ruilova Cueva PhD. En Ciencias de los Alimentos.	Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente.	2982311 mruilova@ueb.edu.ec bernardaruilova@gmail.com
Investigador Aliado		Humberto Morris PhD. Ciencias Biológicas	CEBI Centro de Estudios sobre Biotecnología Industrial	119593992595985 Morrish@uo.cu
Investigadora Aliada		Gabriela Tenea PhD. Biotecnología y Biología Molecular	Universidad Técnica del Norte	gtenea@gmail.com
Ayudante de Investigación	1104623606	Rosa Angélica Tigre León	UEB	0992622995 roan_t@yahoo.es



F. RESUMEN EJECUTIVO

Actualmente el avance tecnológico en el campo de la biotecnología ha venido en aumento, lo que ha permitido brindar múltiples herramientas para el manejo, uso y mejor aprovechamiento de agentes biológicos de interés humano, como por ejemplo la utilización de microorganismos para la producción de alcohol, vinagre, enzimas comerciales, ácidos orgánicos, y con la evolución de la biotecnología se ha extendido su aplicación a nuevas áreas de la alimentación y la medicina, como la producción y uso de toxinas producidas por microorganismos capaces de inhibir otro tipo de microorganismo (mecanismo que es utilizado especialmente por los Hongos filamentosos como defensa y para poder adaptarse a un medio específico), principalmente patógenos que si bien es cierto son controlados con agentes antibióticos de uso clínico y con agentes químicos, pero muy poco se han investigado nuevas sustancias de origen vegetal alimentario que cumplan esta función y que a su vez no produzcan efectos colaterales para la salud humana **Chew et al. (2012)**.

Por lo que en el presente trabajo se propone un método antimicrobiano, que se trata del aprovechamiento de la uvilla *Physalis peruviana* (en extracto), para determinar el efecto antimicrobiano por medio de la técnica de antibiograma de disco-placa y su acción sobre microorganismos patógenos como; *Escherichia coli*, *Salmonella*, y *Listeria spp*, altamente contaminantes de los alimentos y que han sido la causa de muerte de muchas personas. Estas bacterias serán aisladas de carnes testadas en centros de expendio de la Ciudad de Guaranda.

El aislamiento permitirá identificar la presencia o no de estos patógenos y sus posibles factores epidemiológicos, ETAs, la identificación de género se realizará mediante la extracción del ADN bacteriano y su posterior análisis mediante la técnica molecular de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), para lo cual se utilizará pares de cebadores específicos para cada género.

Los cultivos serán resembrados y congelados para tener la primera colección bacteriana de la Universidad para posteriores investigaciones. El agente inhibidor (antibacteriano) será un extracto desarrollado a base de bayas y hojas de uvilla dicho extracto será obtenido siguiendo los métodos de **Areiza N. et al. (2013)** y **Ozgur Cakir et al. (2014)** adaptados de acuerdo al diseño de experimentos explicado en el literal G.

Este estudio será el primero en el país, en analizar la actividad antibiótica del extracto de hoja uvilla *Physalis peruviana* sobre la bacteria *E-coli*, *Salmonella spp* y *Listeria spp*, utilizando métodos de extracción que serán adaptados a nuestra necesidad y especificidad.

La selección de las tres bacterias se debe a que son patógenos emergentes de origen alimentario y además permitirán saber si el antibiótico a obtener es inhibidor de amplio espectro (Antibióticos inhibidores de bacterias Gram positivas y Gram negativas)

La capacidad de inhibición del nuevo antibiótico obtenido, será realizada mediante el cultivo y crecimiento en placa de las bacterias objetivo en medio específico para cada género previa dilución en la escala nominal de McFarland al 0.5. Posteriormente se medirá el halo de inhibición antimicrobiana de cada cepa recuperada de las carnes testadas, los resultados serán comparado con dos Antibióticos testigos de uso farmacéutico Ampicilina (AMP) y Ciprofloxacina (C), antibióticos recomendados por **CLSI (2010)**.



G. DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROYECTO

LÍNEA BASE DEL PROYECTO

A partir de la primera guerra mundial los investigadores han buscado la manera de evitar infecciones en heridas por causa de microorganismos y combatir así ciertas enfermedades, fue entonces en el año 1928 cuando el científico escocés Alexander Fleming (Premio Nobel 1945) encontró en una de sus placas de experimento que contenían cultivos de *Staphylococcus aureus*, un hongo crecido a manera de contaminación en placa, capaz de inhibir el crecimiento de *Staphylococcus*, fue cuando se pudo dar cuenta que este hongo le serviría de ayuda para destruir el patógeno y conociéndose más tarde que dicho hongo era *Penicillium notatum*, que a partir de ese entonces hasta la actualidad se le conoce farmacológicamente como (penicilina) **Park, B., et al. (2010)** dichos principios permitieron abrir las puertas a la revolución antibiótica.

Los antibióticos son medicamentos potentes que combaten las infecciones bacterianas. Su uso correcto puede salvar vidas. Actúan matando las bacterias o impidiendo que se reproduzcan. Después de tomar los antibióticos, las defensas naturales del cuerpo son suficientes. **Gross, R., et al. (2009)**. En nuestro estudio emplearemos la uvilla *P. peruviana*, como agente antibacteriano de amplio espectro, ya que esta planta y sus frutos se postulan como nutraceutico, por su alto contenido de vitaminas A, C, D, E y del complejo B; fitoquímicos como polifenoles que pueden actuar como "barredores" de radicales libres, **Brusotti., et al. (2014)**, otorgándole a la uchuya o uvilla propiedades antioxidantes, que brindan valor agregado con potencial benéfico para la salud **Castro, AM., Rodríguez, L., Vargas, EM. (2010)**.

La biotecnología no solo se ha encargado de estudiar métodos de fermentación aerobio y anaerobio para producir alimentos fermentados y alcoholes, sino también para la producción de fármacos de forma industrial, **Nereyda, E. (2011)**., pues hoy en día se obtiene un sinnúmero de fármacos no solamente de origen microbianos, sino también de origen vegetal, conocidas como antibióticos naturales, **Ayala, Z. (2009)** es el caso de ciertas especies de plantas como ajo albahaca, alfalfa, canela muy usadas en industrias europeas. **Areiza, N. (2013)**.

La biotecnología de la salud o también conocida como biotecnología roja, es la más visible y se dedica a la prevención, diagnóstico y tratamiento de un gran número de enfermedades nuevas y conocidas **Bauer, M.; W. (2011)**.

De acuerdo con EuropaBio (la asociación europea de bioindustrias) los medicamentos creados a partir de avances biotecnológicos son el 20% de los medicamentos comercializados y el 50% de los que están en ensayos clínicos. Por ejemplo el sector de la Biotecnología en India comprende alrededor de 350 compañías que generan ingresos de alrededor de 2 billones de dólares que se estiman alcanzarán los 7 billones en el 2015, produciendo así más del 40% de medicamentos en el mundo. **Kumar, N., et al. (2014)**.

Se calcula que más del 20% de todos los alimentos producidos en el mundo se pierden por acción de los microorganismos. **Nereyda E. (2011)**. Por otra parte, los alimentos alterados pueden resultar muy perjudiciales para la salud del consumidor.

Para el análisis de microorganismos patógenos en alimentos con métodos y técnicas tradicionales se requiere un proceso largo para obtener resultados. La aplicación de técnicas moleculares, como las técnicas de análisis del ADN y, concretamente, las basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), son herramientas cada vez más extendidas en el análisis microbiológico de los alimentos (Hill, 1996) ya que ofrecen una enorme rapidez, sensibilidad y especificidad. **Carrillo, M. (2010)**.

En un trabajo realizado en Turquía por Ozgur Cakir y colaboradores en el 2014 obtuvieron extractos de hojas y tallo de *P. peruviana* los cuales mostraron similares efecto de inhibición de crecimiento en microorganismos ensayados. Todos extractos inhibieron tanto Gram-positivas y Gram-negativas el crecimiento de bacterias, a partir de concentraciones superiores a 200 mg/disco. Los resultados de difusión en disco que los extractos mostraron como actividad antibacteriana en *Staphylococcus aureus* A950277,



Staphylococcus epidermidis 14990, *Lactococcus lactis* ATCC 11454, *Escherichia coli* DH5- α y *Erwinia herbicola*.

Para todo estudio de sensibilidad bacteriana a antibióticos se emplea hoy en día la técnica del antibiograma disco-placa, basado en la norma CLSI, por ser el método más utilizado y aceptado para el estudio de la sensibilidad a antimicrobianos y saber la inhibición según la norma CLSI que los clasifica en Resistentes, Intermedios y Sensibles. OMS. (2014).

Bacterias patógenas

El bacteriólogo alemán Theodor Escherich aisló por primera vez en 1885 en heces de niños con enteritis (ICMSF, 1998), la bacteria que conocemos hoy como *Escherichia coli* (Pascual, 1989). El estudio científico que se ha elaborado desde esa fecha ha sido muy extenso, por lo que, en la actualidad, posiblemente sea el microorganismo que mejor se conoce. Connor, D. R. (2012).

La posible contaminación fecal en las redes de abastecimiento de agua y los manipuladores de alimentos contaminados, han sido implicados frecuentemente en distintos brotes de enfermedad ICMSF, (1998). La mayoría de los brotes relacionados con este microorganismo han sido debido al consumo de carne picada de vacuno poco cocida y brotes relacionados con alimentos elaborados con leche cruda, La tendencia en los casos humanos de *E. coli* productoras de verocitotoxina (VTEC / STEC), ha ido en aumento desde 2008 y se fortaleció aún más debido a un brote en el verano de 2011 EFSA, (2014).

Salmonella fue observado por primera vez por los bacteriólogos alemanes Eberth y Koch en 1880 y, posteriormente fue cultivado por Daniel Salmon y Smith en 1885 quienes aislaron *Bacillus cholerae-suis* en cerdos con peste porcina, enfermedad cuya etiología vírica se desconocía y asimismo fueron aisladas bacterias tanto en casos de infección transmitida por alimentos como en casos de enfermedad animal, actualmente a esta especie incluye más de 2.500 serotipos EFSA, (2015).

Los alimentos que más suelen estar contaminados por *Salmonella* son las carnes y productos cárnicos, los ovoproductos y otros diversos como es la leche.

La listeriosis ha sido una de las principales enfermedades de origen alimentario según un estudio realizado por Doyle *et al.*, 1997. *Listeria monocytogenes*, por su gran interés para la salud pública y su impacto económico, es uno de los microorganismo más importantes en las últimas décadas Pascual y Calderón, (2000).

Murray y colaboradores fueron quienes hicieron una descripción clara en 1926 con el nombre de *Bacterium monocytogenes* (ICMSF, 1998), que causaba enfermedad en conejos y cuyes, ya que infectaba a los leucocitos de la sangre Bennett, L. (2011). Desde su aislamiento, se ha nombrado de muchas formas. Primero se nombró *Bacterium monocytogenes*, por ser la monocitosis. Después pasó a llamarse *Listeria hepatolytica*, en honor a Lister y por su asociación con una alteración del hígado de conejo. Por último en 1940, se denominó *Listeria monocytogenes*, hay evidencia que los bajos números de *Listeria monocytogenes* en un alimento puede causar Listeriosis Bennett, L. (2011).



DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Problema de Investigación:

Existe la necesidad de trabajar en el desarrollo de agentes antimicrobianos naturales debido a que el empleo de antibióticos comerciales son unos de los principales enemigos de todo nuestro "ecosistema" intestinal. Al igual que acaban con las bacterias responsables de una infección también suelen dañar nuestra flora intestinal. **Aricapa, D. (2010)**. Esto produce muchas de las veces; diarreas agudas, infecciones persistentes, estreñimiento crónico, y graves daños a ciertos órganos vitales como el hígado y los riñones. Consecuentemente los antimicrobianos de origen natural alimentario podrían jugar un rol fundamental, en tratamientos y control de infecciones sufridas por patógenos.

La investigación realizada por **Özgür ÇAKIR et al.**, en el 2014 determinó la actividad antibiótica del extracto etílico de hojas y tallo de uvilla, sobre patógenos de colección tipo; *Escherichia coli* DH5-a, *Chromobacterium violaceum* 12472, *Staphylococcus aureus* A950277, *Staphylococcus epidermidis*, y *Lactococcus lactis* ATCC 11454, demostrando la efectividad del nuevo antibiótico, mientras que en el estudio de Araiza Natalia y colaboradores en el 2013, obtuvieron un extracto acuoso de bayas de uvilla y estudiaron capacidad antioxidante y antiploriferativa sobre células cancerosas, pero no estudiaron la actividad antibiótica del extracto, por lo tanto evidenciándose la necesidad de realizarlo en nuestro trabajo, partiendo del uso de métodos adaptados, y a su vez se podrá determinar si las bayas de uvilla tienen la capacidad antibiótica en microorganismos patógenos aislados de alimentos cárnicos de la ciudad de Guaranda.

Justificación de la Investigación.

Con la aplicación de técnicas microbiológicas de vanguardia, esta investigación permitirá realizar aislamientos de microorganismos presentes en carnes comercializadas en los principales mercados de la Ciudad de Guaranda, determinado así la calidad del alimento, y por ende las posibles rutas de infección y patogenicidad.

Para no tener errores en los aislamientos y conservación de los patógenos más difíciles de identificar por técnicas de laboratorio (fenotípicas, morfológicas y bioquímicas), se amplificará secuencias de genoma específicos para cada género mediante reacciones en cadena de la polimerasa (PCR), Este método nos proporcionará resultados positivos en un corto periodo de tiempo con los que se estudiará la presencia de un posible patógeno en las muestras analizadas. **Bastyns, K. (2009)**

Al obtener cepas aisladas de microorganismos, se podrá realizar los estudios de resistencia o susceptibilidad al antibiótico experimental, fruto de la aplicación de los métodos adaptados mencionados, esto permitirá saber la efectividad o no del antibiótico natural y compáralo con antibióticos de uso clínico, para lo cual se aplicará la técnica de antibiograma disco-placa basado en la norma **CLSI. (2010)**.

Los resultados obtenidos en esta investigación serán de gran aporte para las ciencias médicas, industrias farmacéuticas y de alimentos, y por otra parte contribuirá a incentivar el cultivo de la uvilla que en nuestro país no se le ha dado importancia.

Por otra parte, la uvilla, tiene un alto contenido de propiedades curativas de hojas y fruto por lo que han permitido su uso en la industria química, farmacéutica y alimenticia, siendo Alemania el país que más importa este fruto para sus industrias. **Pardo J y col., (2010)**.

Es importante también recordar que en épocas pre colombinas, esta fruta era cultivada y consumida por los habitantes andinos ya que aparte de alimentarlos, les ayudaba a aliviar y eliminar dolencias estomacales **Brusotti et al., (2014)**.



METODOLOGÍA

Para el desarrollo del proyecto se cumplirán los siguientes objetivos:

Objetivo 1.- Muestrear locales de venta de carnes en los mercados de Guaranda.

El muestreo se desarrollará en los mercados de la Ciudad de Guaranda y sus locales de expendio de carnes (pollo, cerdo, res) de forma aleatoria por tipo de carne, se considerará la siguiente ecuación:

$$n = \frac{Z^2 pq}{E^2}$$

Las muestras adquiridas se refrigerarán a 4°C para su posterior preparación.

Objetivo 2.- Aislar patógenos como Salmonella, Escherichia coli, y Listeria presentes en carnes de consumo de los mercados en la Ciudad de Guaranda.

El tipo de microorganismo ensayados en este estudio serán bacterias Gram positivas y Gram negativas, siendo estas *Salmonella spp*, *Escherichia Coli spp* y *Listeria spp*.

Serán necesarios 25 gr de muestra mezcladas con 225 ml de Agua peptona tamponada (APT), este caldo nutritivo se colocará en una bolsa de estomacher. Respetando los métodos para cada tipo de microorganismo a aislar.

De la bolsa de estomacher se tomarán alícuotas y se seguirá los métodos correspondientes a los aprobados para cada microorganismo de interés:

E.Coli spp: Pascual y Calderón (2000).

Listeria spp: Norma ISO 11290-2 (2010).

Salmonella spp: Norma ISO 6579:2002 (2007)

Se separará alícuotas de 1.5 ml en tubos ependorf por duplicado para conservar la alícuota. Las cepas aisladas de las muestras serán re suspendidas en 500ul de Tampón TAE 1X, esto permitirá la extracción de su ADN. Igualmente se conservará cepas en viales de conservación a temperatura bajo cero.

Objetivo 3.- Aplicar técnicas moleculares para identificar el género de los microorganismos aislados.

Las cepas re suspendidas en el Tampón serán descongeladas a temperatura ambiente, luego centrifugadas a 16000xg, posteriormente se procederá a la extracción de ADN cromosómico siguiendo las instrucciones del Kit comercial (GenElute Bacterial Genomic DNA kit).

La Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permitirá confirmar si el microorganismo aislado corresponde al deseado, para lo cual se usará cebadores de acuerdo al género y gen a amplificar.

Para detectar *Salmonella* se utilizará los iniciadores: ST11: 5'-GCC AAC CAT TGC TAA ATT GGC GCA-3', ST15: 5'-GGT AGA AAT TCC CAG CGG GTA CTG G-3', los cuales amplifican un fragmento de 429 pares de bases de ADN cromosómico, método desarrollado por: Aabo et al (1993).

Para detectar *Listeria* se usarán los cebadores List-univ: 1 (5'-ATGTCATGGAATAA-3') y List-univ: 2 (5'-GCTTTTCCAAGGTGTTTT-3'), método desarrollado por Cocolin, L., et al. (2002).

Estos cebadores formarán parte del mix de reacción de la PCR junto con (biotaq polimerasa 5u/ul, dNTP'S, MgCl2, Buffer) para lo cual se considerará metodologías descritas para cada género.

La reacción de PCR se colocará en un termociclador. El producto de PCR será corrido en un gel de electroforesis que contiene Red safe + o Bromuro de etidio se usará Gen Ruler como marcador de Pesos moleculares, Tampón de carga y se colocarán por pasillo identificados para c/u, esto se dejará por 40 min a 90 voltios.

El gel será observado en un trans-iluminador de luz UV, y su lectura será grabada. Para detectar *Escherichia Coli*, se realizara una prueba de Indol, lectura universal. Las cepas que darán positivas en estos análisis serán sometidas a la prueba de resistencia antibiótica.



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



Objetivo 4.- Obtener extracto de uvilla a partir de la adaptación de métodos.

Para obtener el extracto de uvilla se aplicará una adaptación a los métodos desarrollados por Areiza, N y col. (2013) y Ozgur Cakir y col. (2014), para lo cual se plantea el diseño de experimentos detallado a continuación:

DBCA con arreglo factorial Ax B.

A= Métodos de obtención del extracto.

A	A1	Extracto Acuoso (método de Areiza, N y col., 2013)
	A2	Extracto Etilico (método de Ozgur Cakir y col., 2014)

B= Partes del vegetal.

B	B1	Frutas de uvilla maduras
	B2	Frutas de uvilla semi-maduras
	B3	Hojas tiernas de uvilla

Y sus posteriores combinaciones:

A1B1	Extracto acuoso de frutas de uvilla maduras	a
A1B2	Extracto acuoso de frutas de uvilla semi-maduras	
A1B3	Extracto acuoso de hojas tiernas de uvilla	
A2B1	Extracto etilico de frutas de uvilla maduras	
A2B2	Extracto etilico de frutas de uvilla semi-maduras	
A2B3	Extracto etilico de hojas tiernas de uvilla	b

^a Método original de Areiza y col., pero no lo utilizó para inhibir microorganismos.

^b Método original de Ozgur Cakir y col., usado para inhibir *E. Coli*.

Todos los extractos obtenidos de este experimento serán suministrados en la prueba de efecto antibiograma en las siguientes concentraciones:

100µg/disco, 200 µg/disco, 400 µg/disco, 600 µg/disco y 800 µg/disco

Objetivo 5.- Probar la resistencia antibiótica de los microorganismos aislados a los extractos obtenidos.

Preparación de discos de antibiograma.

De las colonias crecidas aisladas y resembradas para obtener más cultivo, se cogerá ¼ de asa y se suspenderá las células en una solución salina hasta una escala de 0.5 MacFarland. Un hisopo estéril servirá para sumergir en la solución salina y se sembrará en placa con medio selectivo hasta un total agotamiento en superficie, transcurridos 5 min, se coloca sobre la placa sembrada los discos con antibiótico (extractos obtenidos), de igual manera se utilizarán discos con antibiótico de uso clínico Ampicilina (AMP) y Ciprofloxacina (C), esto permitirá ver comparativamente un nivel de inhibición, se deja incubar por 24 horas y se procede a la lectura, para lo cual se considerará el diámetro del halo formado.

Objetivo 6.- Realizar el Análisis económico de costo/ beneficio.

Los costes de operación serán tomados en cuenta, para analizar si es factible o no la producción del extracto en materia económica.

Objetivo 7.- Difundir los resultados obtenidos en el proyecto.

Este objetivo se cumplirá mediante la escritura científica para su publicación en la revista Talentos de la Universidad Estatal de Bolívar y Revistas Indexadas Especializadas, así como el diseño de folletos informativos, dípticos o trípticos, periódicos, participación en eventos de carácter científico, charlas, y casas abiertas.



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



RESULTADOS ESPERADOS

Recuperar un mayor número de aislados bacterianos, que permita un análisis micro y biotecnológico específico, ya que este será un estudio muy importante de prueba de resistencia antimicrobiana obtenido experimentalmente, partiendo desde el aislamiento inicial de patógenos presentes en carnes.

Se espera que el efecto antimicrobiano del extracto de uvilla sea similar a la acción antimicrobiana de los antibióticos de uso clínico, además que el extracto sea capaz de inhibir con doble espectro o sea que evite el crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas.

La creación de un banco microbiológico de cepas tipo, para posteriores estudios de la universidad en el campo de la microbiología y biología molecular.

Futuros trabajos de investigación, que tomen como punto de partida los resultados obtenidos en este estudio.

Incentivar el cultivo de uvilla con fines industriales en la provincia Bolívar.

H. SOSTENIBILIDAD

Como se lo describe en el apartado anterior, la Universidad Estatal de Bolívar contará con un banco inicial de cepas tipo, esto permitirá tener cultivos de colección, para estudios posteriores, e incluso para uso en laboratorios de prácticas de formación académica.

Si los patógenos son susceptibles a los antibióticos desarrollados, esto determinará la importancia de la uvilla para su uso en la industria farmacéutica y alimentaria, dándole relevancia a nuestra Universidad en este campo, mediante el desarrollo de investigaciones que abarcan un nuevo campo de la Agroindustria.

En este contexto probablemente resulte interesante esta investigación para posteriores trabajos en interacción con otras instituciones nacionales como Hospitales, clínicas industrias alimenticias y por qué no decirlo instituciones internacionales, que serían beneficiarias de este conservante natural.

I. EFECTOS MULTIPLICADORES

Los resultados del proyecto podrían contribuir a:

La generación de nuevas investigaciones.

En caso de existir resistencia de los patógenos a los antibióticos testigo (antibióticos de usos clínicos), deduciríamos que esto se debe a posibles mutaciones del microorganismo, o a nueva especie de los tres géneros a estudiar, algo que sería de mucho interés en la salud pública, permitiéndonos estudiar en futuras investigaciones, para lo cual se podría aplicar múltiples técnicas moleculares, como podría ser PCR-RFLP (Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción- Reacción en Cadena de la Polimerasa).

Al nivel celular y molecular, en caso de existir susceptibilidad por parte de los microorganismos en estudio, a futuro se podría trabajar para identificar en qué etapa de la división celular el nuevo antibiótico actúa sobre la bacteria; y por otra parte también, se podrá determinar qué región del genoma bacteriano es afectado por el agente antibiótico obtenido en el presente estudio.

Bajo pruebas bioquímicas se podría analizar los elementos de los extractos de uvilla, y determinar cuál actúa sobre la bacteria.

Desarrollo de nuevas metodologías, procesos o técnicas aplicables al campo de investigación.



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



Las pruebas de antibiograma disco-placa, es una técnica que podría ser aplicada para estudios en otros microorganismos.

El nuevo método de extracción estandarizado obtenido en esta investigación, podrá ser utilizado para otros procesos de la industria.

De igual manera si se lograra que el efecto antimicrobiano actúe sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas, se estaría hablando que el sustrato antimicrobiano obtenido de la *Physalis peruviana* sería de doble espectro, posibilitándose así también su utilización en el desarrollo de bio-películas para la conservación de alimentos.

La formación de recursos humanos a nivel de pre y post grado

Formar nuevos profesionales en el nivel de pre grado y post grado con conocimientos de biología molecular, para su buen desenvolvimiento profesional.

J. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

BENEFICIARIOS DIRECTOS

En el proyecto fortalecerá la formación del pasante egresado de ingeniería Agroindustrial de la Facultad de ciencias Agropecuarias de nuestra Universidad, mismo que podrá desarrollar su tesis de pre grado, y adquirir conocimientos nuevos en el campo de la microbiología y biotecnología en todo el proceso de ejecución del proyecto.

También es importante considerar que los investigadores se beneficiaran por medio de la adquisición de nuevos conocimientos y técnicas a aplicar en este estudio.

Adicionalmente los profesionales de la salud contarán con una nueva alternativa farmacológica de origen natural, para así contrarrestar enfermedades ocasionadas por microorganismos patógenos.

BENEFICIARIOS INDIRECTOS

Estudiantes de las carreras relacionadas con las ciencias de la vida, , los mismos que participarán de charlas continuas y capacitaciones sobre protocolos de seguridad alimentaria, microbiología de los alimentos, procesos agroindustriales de extracción y biología molecular, esto será mediante actividades de difusión, y participación en eventos científicos.

Industrias farmacéuticas como Life del Ecuador, Hospitales públicos, clínicas, Ministerio de Salud Pública del Ecuador, Ministerio de Industrias y Productividad e Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, se beneficiarán de los resultados obtenidos en este proyecto, ya que se pretende obtener un nuevo antibiótico de uso clínico.

K. IMPACTO DEL PROYECTO

Se considera que este proyecto tendrá un impacto a largo plazo, puesto que los conocimientos adquiridos por el talento humano capacitado y formado en la presente investigación, serán transferidos, y puestos en práctica en su cotidiano desenvolvimiento como profesionales dentro de la sociedad.

Esta investigación será de gran relevancia en el país y se espera así mismo un impacto en el contexto internacional, por su aporte a la investigación de un producto natural de fácil disponibilidad, como es el



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



estudio de la acción antimicrobiana de extracto de uvilla, sobre microorganismos patógenos presentes en carnes, convirtiéndose en un pilar esencial para el desarrollo de nuevos estudios en este campo, en especial en nuestro país, para el desarrollo de nuevas tecnologías en el campo de la agroindustria e industria farmacéutica.

Este estudio tendrá un gran impacto, dentro de las estrategias nacionales para el cambio de la matriz productiva del país, (Plan Nacional del Buen Vivir), en lo que respecta a una de las cadenas productivas propuestas como es la farmacéutica.

L. TRANSFERENCIA DE RESULTADOS

La transferencia de resultados se pretende realizar a través de la publicación de artículos en revistas científicas especializadas, participación en congresos, talleres, y seminarios en la Universidad Estatal de Bolívar y fuera de ella, capacitación a estudiantes de las Universidades interesadas en conocer sobre esta tecnología, la difusión se complementará mediante el diseño e impresión de folletos técnicos dirigido principalmente a los habitantes de Guaranda.

M. FACILIDADES DE TRABAJO

Este tipo de proyectos de investigación son financiados por la universidad. La Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente cuenta con un laboratorio de Biología Molecular equipado casi en su totalidad con materiales y equipos que serían de gran utilidad para el desarrollo de este proyecto, además se contará con la capacitación necesaria para el desarrollo tecnológico del trabajo (manejo de equipos y técnicas a aplicar).

Profesionalmente y administrativamente se cuenta con una amplia experiencia, puesto que nuestro personal ya ha trabajado años anteriores con proyectos de investigación, y se ha manejado las cuestiones financieras con total éxito.

N. IMPACTO AMBIENTAL

Al medio ambiente se vierten de forma continua residuos de diferentes antibióticos, no incluidos en la legislación de regulación, que van a parar a través de las aguas residuales urbanas a ríos y como si bien es cierto estos antibióticos en su mayoría son de origen químico y microbiológico lo que hace que su efecto continúe en acción en otros ambientes produciendo la destrucción de la microbiota acuática, suelos, alterando el equilibrio del ecosistema. Se ha encontrado residuos de antibióticos con una fuerte afinidad por la materia en suspensión a concentraciones que oscilan desde 1,4 a 2,4 mg/kg peso seco de lodo tratado. **Aguayo, S (2012).**

Al obtener un antibiótico de origen natural (origen vegetal), este no causaría mayores problemas al ser desechados de forma incorrecta como sucede con la mayoría de fármacos en el mundo, por ello lo podríamos considerar como un bio-remediador.

O. ASPECTOS BIOÉTICOS Y SOCIALES

En este proyecto se actuará con total ética profesional, en el manejo de reactivos, equipos, materiales, y en especial de los agentes biológicos en estudio.

En este estudio se tendrá precaución al momento de manipular microorganismos y su genética, se fomentará el desarrollo social, a través del incentivo al cultivo de vegetales andinos de alto interés científico e industrial en la provincia Bolívar, generando de esta manera el incremento del interés por parte de los agricultores en la siembra de este fruto, logrando así mejorar sus ingresos económicos



P. REFERENCIAS CITADAS

1. Aabo, S.; Rasmussen, O. F; Rossen, L.; Sorensen, P. D. and Olsen, J. E. (1993). *Salmonella* identification by the polymerase chain reaction. *Mol. Cell, Probes*. 7: 171-178.
2. Aguayo., S. (2012). Repercusión sanitaria en el medio ambiente del consumo de antibióticos. *Unidad de Contaminantes Orgánicos Ambientales. Servicio Contaminación Hídrica N° 127 España*. 2-6.
3. Areiza, N., Maldonado, M., Rojano, B (2013). Extracto acuoso de uchuva (*Physalis peruviana*): actividades antiproliferativa, apoptótica y antioxidante, Colombia, 4.
4. Aricapa, D. (2010). Actividad antimicrobiana de plantas sobre microorganismos cariogénicos. Universidad Pontificia Javeriana, tesis doctoral, Bogotá. 28-34
5. Ayala-Zavala J.F. (2009). Los aceites esenciales poseen propiedades antimicrobianas, uno de los más estudiados es el aceite de ajo, aplicación en productos vegetales, 5-9.
6. Bastyns, K. (2009). A variable 23S rDNA region is a useful discriminating target for genus-sp.ecific and sp.ecies-sp.ecific PCR amplification in *Salmonella spp.* *Syst Appl Microbiol* 18, 353-356.
7. Bauer M W. (2011) Distinguishing Red and Green Biotechnology: Cultivation Effects of the Elite Press. Address correspondence to Martin W. Bauer, London School of Economics, Institute of Social Psychology, Houghton Street, London WC2A 2AE, United Kingdom,1-12.
8. Bennett, L. (2011). *Listeria monocytogenes*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7th ed. Philadelphia, Pa: Elsevier Churchill Livingstone; chap 207.
9. Brusotti, G., Cesari, I., Dentamaro, A., Caccialanza, G., & Massolini, G. (2014). Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: The role of analysis in the ethnopharmacological approach. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 87, 218-228.
10. Carrillo, M. (2010). Comparación de los métodos fenotípico y molecular para identificación de patógenos en alimentos, *Revista académica Tlatemoani*, ISSN: 1989-930, México. 2.
11. Castro, AM., Rodríguez, L., Vargas, EM. (2010). Secado de uchuva (*Physalis peruviana* L) por aire caliente con pretratamiento de osmodeshidratación; 15:226-31.
12. Chew et al. (2012). Incan golden berries; 10 benefits of Peruvian super food.
13. CLSI. (2010). Manual de actualización en resistencia bacteriana y normas CLSI M100-S20. Grebo. Capítulo 3: 6-8.
14. Cocolin, L.M.; Manzano, M. Cantoni, C and Comi, G. (2002) Abstr. 101st Gen. Meet. Am. Soc. Microbiol., abstr. P-88, p. 575,
15. Connor, D. R. (2012). Report of the Walkerton Inquiry: The events of May 2000 and related issues. Part 1: A summary. Toronto, Ontario (Canadá), Ontario Ministry of the Attorney General, Queen's Printer for Ontario.
16. Doyle, M. P. and Padye, V. V. (1997). "Escherichia coli" in M. P. Doyle (ed.) *Foodborne Bacterial Pathogens*, New York: Marcel Dekker: 235-81.
17. EFSA. (2014). <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/ecolioutbreak2011.htm>. (Visto el día 16 de Marzo del 2015).
18. EFSA. (2015). <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/ecolioutbreak2011.htm>. (Visto el día 10 de Febrero del 2015).
19. EuropaBio (la asociación europea de bioindustrias) 2015.
20. Gross R., Morgan A.S., Kinky D.E., Weiner M., Gibson G.A., Fishman N.O. (2009) "Impact of a hospitalbased antimicrobial management program on clinical and economic outcomes". *Clin Infect Dis* ; 33(3): 289-295.
21. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) 1998. Relating Microbiological Criteria to Food Safety Objectives and Performance Objectives Illinois USA. 407.
22. Kumar N., Uyen, Q., Thorsteinsdóttir, K., Hemlatha, S., Abdallah S., & Singer, P. (2014). Indian biotechnology—rapidly evolving and industry led *Nature Biotechnology* 22, DC31 - DC36 doi: 10.1038/nbt1204supp-DC31.
23. Nereyda, E. (2011). Natural antimicrobial agent use in the preservation of fruits and vegetables, *Instituto Tecnológico de Los Mochis, Ra Ximhai* Vol. 7, Número 1, 3-19



24. Normas microbiológicas de los alimentos. (2014). [http://www.osakidetza.euskadi.net/contenidos/informacion/sanidad_alimentaria/es_1247/adjuntos/Normas%20microbiol%C3%B3gicas%20de%20los%20alimentos%20\(Enero%202015\).pdf](http://www.osakidetza.euskadi.net/contenidos/informacion/sanidad_alimentaria/es_1247/adjuntos/Normas%20microbiol%C3%B3gicas%20de%20los%20alimentos%20(Enero%202015).pdf) visto 11 Marzo 2015.
25. OMS. (2014). Antimicrobial resistance. Global Report on Surveillance. Who Library Cataloguing-in- Publication Data. Section 2. Pág. 17.
26. Pardo, J. M.; Fontanilla, M., Ospina, L., Espinoza, L. (2010). Determining the Pharmacological Activity of *Physalis peruviana* Fruit Juice on Rabbit Eyes and Fibroblast Primary Cultures, 4-12.
27. Park, B. J., Lim, Y. S., Lee, H. J., Eum, W. S., Park, J., Han, K. H., Choi, S. Y., & Lee, K. S. (2010). Anti-oxidative effects of *Phellinus linteus* and red ginseng extracts on oxidative stress-induced DNA damage. *BMB Reports*, 42(8), 500-505.
28. Pascual, M^a. R.; Calderón, V. (2000). Microbiología alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas. Ediciones Díaz de Santos.
29. Tenailon, O., Skurnik, D., Picard, B., Denamur, E. (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 8: 207–217.
30. Zorn, H. (2010). Fungal secretomes-nature's toolbox for white biotechnology, *Appl Microbiol Biotechnol* 80:381-388 DOI 10.1007/500253-008-1572-5.
31. OMS. (2014). Antimicrobial resistance. Global Report on Surveillance. Who Library Cataloguing-in- Publication Data. Section 2. Pág. 17.
32. NORMA ISO (2007). 6579:2002-2007. Disponible en http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=29315, visto 15 de febrero 2015.
33. NORMA ISO (2010). 11290-2-2010. Disponible en http://www.aenor.es/aenor/normas/normas/fichanorma.asp?tipo=N&codigo=N0023773#.VQ2ta_mG9EM, visto 9 de marzo del 2015.



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación
Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



Q. DECLARACIÓN FINAL

El equipo de investigadores, representado por el Director del Proyecto, y la Institución Postulante Principal, a través de su Representante Legal, de forma libre y voluntaria declaran lo siguiente:

- Que el proyecto descrito en este documento es una obra original, cuyos autores forman parte del equipo de investigadores y por lo tanto asumimos la completa responsabilidad legal en el caso de que un tercero alegue la titularidad de los derechos intelectuales del proyecto, exonerando a la UEB de cualquier acción legal que se derive por esta causal.
- Que el presente proyecto no causa perjuicio alguno al ambiente y no transgrede norma ética alguna, y que en el caso de que la investigación requiera de permisos previo a su ejecución, el Director del Proyecto remitirá una copia certificada de los mismos a la UEB.
- Que este proyecto no se ha presentado ninguna otra institución pública o privada, para el financiamiento del presupuesto solicitado a la UEB. El incumplimiento de este acuerdo será causal para que el proyecto no sea financiado o para la terminación anticipada unilateral del convenio firmado con la UEB.
- De otorgarse financiamiento por la UEB para la ejecución del proyecto, aceptamos que los bienes adquiridos con estos fondos permanecerán bajo la responsabilidad de la institución postulante durante la ejecución del proyecto, pero la UEB se reserva el derecho de determinar el destino final de los mismos, una vez finalizado el proyecto.
- Aceptamos que si el proyecto se accede a financiamiento de la UEB, y como parte de los resultados del mismo se genera algún producto o procedimiento susceptible de obtener derechos de propiedad intelectual, de los cuales se deriven beneficios, éstos serán compartidos por la UEB, la institución postulante, la(s) instituciones que compartieron la investigación y el equipo de investigadores, en los términos definidos en el respectivo convenio específico.

Lugar: *Guaranda.*

Fecha: *21-04-2015*

Nombre: Ing. Maria Bernarda
CI:0701189433

Directora del Proyecto

Nombre: Dr. Ulises Eduardo Barragán Vinuesa
CI: 0201104296

Representante Legal de la Universidad



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación
Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)

Instituto de Investigación

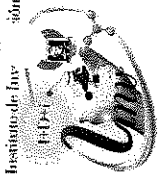


ANEXOS



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación



(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)

ANEXO I. MATRIZ DE MARCO LÓGICO

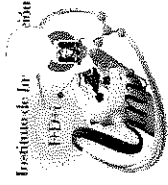
JERARQUÍA DE OBJETIVOS	DEFINICIÓN DEL INDICADOR	FUENTES DE VERIFICACIÓN	SUPUESTOS
<p>FIN (OBJETIVO A LARGO PLAZO): Esto será importante debido a que hay muy pocos trabajos sobre la identificación de patógenos en alimentos de origen cárnico en la ciudad de Guaranda, y no existe trabajo alguno publicado sobre el uso de una baya andina empleado como agente antimicrobiano inhibidor de patógenos; esto dará mayor soporte científico-tecnológico y su contribución a la industria farmacéutica y alimentaria</p>	<p>Para cumplir con el Objetivo general del proyecto se tomará en cuenta los siguientes indicadores:</p> <ol style="list-style-type: none"> Indicador Específico.- se comprobará experimentalmente los efectos antimicrobianos producidos por los nuevos extractos obtenidos en el proyecto. Indicador Medible.- se conocerán las concentraciones necesarias de antimicrobiano producido en mg/disco, capaz de evitar el crecimiento bacteriano, y su comparación con antibióticos de origen farmacológico. Indicador Relevante.- El número de cepas aisladas permitirán conocer el nivel de prevalencia de los patógenos en carnes de expendio en la Ciudad de Guaranda, y también saber cómo contrarrestarlas. Indicador Alcanzable.- La información obtenida en el proyecto será divulgada a través de charlas, publicación científica, folletos, y más recursos de información. Indicador Asociado a un plazo.- de acuerdo al avance de la ejecución del proyecto cada objetivo conseguido será informado a la institución financiadora 	<p>La manera mediante la cual se proporcionará información de los resultados, será a través de los siguientes medios:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Informes trimestral/semestral de los avances del proyecto a la Institución financiadora. • Escritura científica: Revista Científica: Revista Talentos de la UEB, Revistas Indexadas. • Folletos informativos, dípticos o trípticos y carteles o banner. • Charlas, casas abiertas • Participación en congresos, exposiciones y eventos de carácter científico. 	<p>Mediante la aplicación de las técnicas de laboratorio y métodos descritos en la metodología del proyecto, se podrá obtener un nuevo agente antimicrobiano que podría servir como inhibidor de patógenos de origen natural, que sería de gran interés por su aporte clínico y otras aplicaciones futuras.</p> <p>Será necesario contar con el material indispensable y equipamiento para el desarrollo de los ensayos de laboratorio estipulados en el protocolo para cada objetivo, de tal manera de no correr el riesgo que la ejecución del proyecto no se cumpla en el plazo previsto</p>
<p>Objetivo General Determinar la acción antimicrobiana de los extractos de uchuva (<i>Physalis peruviana</i>), sobre tres tipos de bacterias patógenas aisladas de carne, e identificadas mediante técnicas moleculares.</p>			



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



<p>OBJETIVOS ESPECIFICOS <u>Muestrear locales de venta de carnes en los mercados de Guaranda.</u> Este objetivo se conseguirá con la ayuda de las siguientes actividades:</p>	<p>Esto se lo realizará determinando el número exacto a muestrear considerando un tamaño de población (N locales).</p>	<p>Se usarán formulas estadísticas de muestreo.</p>	<p>El número de muestras a analizar serán suficientes para determinar la prevalencia de contaminantes en la carne.</p>
<p>Actividad 1.- Testado de carnes de los mercados de Guaranda.</p>	<p>Tipos de carnes a analizar. Se considerará un determinado peso por muestra de carne a usar con relación al medio de cultivo requerido.</p>	<p>Selección de la carne, y pesado considerando el método o protocolo establecido.</p>	<p>La aplicación de técnicas de laboratorio para cada género a analizar permitirá obtener cepas suficientes para aislarlas.</p>
<p>Actividad 2.- Preparar muestras.</p>	<p>Mediante técnicas de laboratorio y uso de caldos de cultivo específico para cada género bacteriano.</p>	<p>Comparación de métodos de operación.</p>	<p>Mediante el uso de crio viales se podrá congelar cepas aisladas de carnes.</p>
<p><u>Aislar patógenos como Salmonella, Escherichia coli, y Listeria presentes en carnes de consumo en la Ciudad de Guaranda.</u> Actividad 1.- Técnicas para aislar de Salmonella presente en carnes.</p>	<p>Pruebas Bioquímicas específicas para identificar cada patógeno en estudio.</p>	<p>Se verificará mediante el uso de reactivos y equipos específicos para cada microorganismos en estudio.</p>	<p>Con la aplicación de la técnica de PCR se agilitará el proceso de identificación de género de las bacterias en estudio.</p>
<p>Actividad 2.- Técnicas para aislar de E-coli presente en</p>	<p>Conservación de cepas recuperadas de los medios para cuantificaciones y</p>	<p>Mediante técnicas de reactivación y siembra en los diferentes medios de</p>	<p>El método adaptado en este proyecto permitirá conseguir un extracto</p>



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



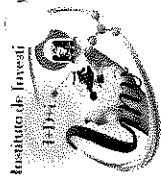
<p><i>carnes.</i></p> <p>Actividad 3.- Técnica para aislado de <i>Listeria</i> presente en carnes.</p> <p>Actividad 4.- Identificación morfológica de los patógenos en estudio.</p> <p><u>Aplicación de técnicas moleculares para identificar el género del microorganismo aislado.</u></p> <p>Actividades</p> <p>Actividad 1.- Extracción de ADN de cada aislado.</p>	<p><i>restiembras futuras.</i></p> <p>El uso de un Kit de extracción permitirá obtener el ADN y la cantidad necesaria para el análisis molecular de identificación del género mediante la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa por sus siglas en inglés).</p>	<p><i>cultivo, identificando la morfología de las colonias.</i></p> <p>Mediante la observación de los geles y comparándolos con los patrones o controles positivos ya identificados en estudios anteriores, se podrá comprobar si el microorganismo corresponde al deseado.</p>	<p><i>natural, similar o mejor a los ya obtenidos.</i></p>
<p>Actividad 2.- Uso de cebadores específicos para amplificar un gen que permita identificar las bacterias en estudio, mediante PCR.</p> <p>Actividad 3.- Observación y comparación del género identificado, mediante geles de electroforesis.</p>	<p>El uso de cebadores específicos para amplificación de genes específicos para cada género ayudará en este análisis.</p> <p>Comparación de patrones genéticos por electroforesis.</p>	<p>Se verificará contrastando los resultados nuestros con los de los autores de los métodos a adaptar.</p> <p>Mediante la medición de halos de inhibición.</p>	
<p><u>Obtención de extractos a partir de métodos combinados.</u></p> <p>Actividades:</p> <p>Actividad 1.- Obtención de tratamientos con extracto acuoso</p>	<p>Se evidenciará la mejor sustitución de los métodos adaptados de las técnicas ya descritas por Areiza N y col., (2013) y Ozgur Cakir et al., (2014).</p>		<p>El extracto obtenido en nuestro proyecto será capaz de inhibir microorganismos patógenos.</p>



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

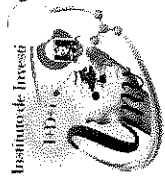
(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



<p>Actividad 2.- Obtención de tratamientos con extracto etílico.</p> <p><u>Prueba de la resistencia antibiótica de los microorganismos aislados a los extractos obtenidos.</u></p> <p>Actividades:</p> <p>Actividad 1.- Preparación de discos de antibiograma.</p>	<p>Cómo se lo describe en la combinación de factores del diseño de experimentos.</p> <p>Se utilizará discos de contendrán las siguientes concentraciones: 100 µg/disco, 200 µg/disco, 400 µg/disco, 600 µg/disco y 800 µg/disco, y su comparación con antibióticos de uso clínico. La medición de halos permitirá referenciar y saber si el antibiótico obtenido inhibe el crecimiento de los patógenos en estudio.</p>	<p>El extracto obtenido y aplicado como agente antimicrobiano será más económico que los antibióticos de uso clínico actuales.</p>
<p>Actividad 2.- Medición de halos en placa</p>	<p>Serán comparados con los estándares clínicos y de ser favorable será considerado a ser un nuevo antibiótico obtenido y de origen natural.</p>	<p>Con un balance económico se podrá saber cuan costoso o beneficioso resultó el trabajo.</p>
<p><u>Análisis económico de costo/beneficio.</u></p> <p>Actividades:</p> <p>Actividad 1.- Analizar si producir el antibiótico es económicamente rentable.</p> <p><u>Difusión de resultados.</u></p> <p>Actividades:</p> <p>Actividad 1.- Diseño y elaboración de folletos informativos.</p>	<p>Los costes de operación serán tomados en cuenta, para analizar si es factible o no la producción del extracto en materia económica.</p>	<p>Los resultados obtenidos serán de impacto tecnológico en el campo clínico, lo que permitirá darnos una apertura hacia la publicación de nuestros resultados.</p>
<p>Actividad 2.- Participación en</p>		

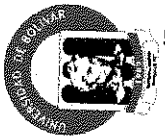


UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR
 Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación



(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)

<p>eventos científicos. Actividad 3.- Escritura científica.</p>	<p>Los resultados serán difundidos por medio de actividades científicas, documentación, entre otros.</p>	<p>Mediante la escritura científica, charlas, participación en eventos científicos.</p>	
------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------	--



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



ANEXO 2. CRONOGRAMA DE TRABAJO POR OBJETIVOS

Proyecto	Año 1												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Determinar la acción antibiótica de los extractos de uchuva (<i>Physalis peruviana</i>), sobre tres tipos de bacterias patógenas aisladas de carne, e identificadas mediante técnicas moleculares													
Objetivo Específico 1. Muestrear locales de venta de carnes en los mercados de Guaranda.													
Actividad 1.1: Testar carnes de los mercados de Guaranda													
Actividad 1.2: Preparar la muestra adquirida													
Actividad 1.3: Aplicar técnicas microbiológicas para identificar contaminación inicial													
Objetivo Específico 2. Aislar patógenos como <i>Salmonella</i>, <i>Escherichia coli</i>, y <i>Listeria</i> presentes en carnes de consumo en la Ciudad de Guaranda.													
Actividad 2.1 Utilizar técnicas de laboratorio, medios de cultivo específicos para aislar <i>Salmonella</i> de carnes.													
Actividad 2.2 Utilizar técnicas de laboratorio, medios de cultivo específicos para aislar <i>Escherichia coli</i> de carnes													
Actividad 2.3 Utilizar técnicas de laboratorio, medios de cultivo específicos para aislar <i>Listeria</i> de carnes													
Actividad 2.4 Identificar morfológicamente de los patógenos en estudio.													
Objetivo Específico 3 Aplicar técnicas moleculares para identificar el género de los microorganismos aislados.													
Actividad 3.1 Extracción de ADN de cada cepa aislada en el estudio.													
Actividad 3.2 Uso de cebadores específicos para amplificar un gen que permita identificar las bacterias en estudio, mediante PCR													
Actividad 3.3 Observación de resultados de PCR mediante geles de electroforesis, e interpretación.													
Objetivo Específico 4 Obtener extracto de Uvilla a partir de las combinaciones metodológicas de dos Autores.													
Actividad 4.1 Obtención de tratamientos con extracto acuoso													
Actividad 4.2 Obtención de tratamientos con extracto efílico.													
Objetivo específico 5. Determinar el mejor método de extracción mediante la técnica de Antibiograma disco-placa.													
Actividad 5.1 Preparación de discos de antibiograma.													
Actividad 5.2 Medición de halos en placa.													
Objetivo específico 6. Realizar el Análisis económico de costo/ beneficio.													
Actividad 6.1 Analizar si producir el antibiótico es económicamente rentable.													
Objetivo específico 7. Difundir los resultados obtenidos en el proyecto.													
Actividad 7.1 Diseño y elaboración de folletos informativos.													
Actividad 7.2 Participación en eventos científicos.													
Actividad 7.3 Escritura científica.													

ANEXO 3. PRESUPUESTO MENSUAL POR LÍNEAS DE FINANCIAMIENTO



UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR
Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



Proyecto: Determinación de la actividad antimicrobiana de extractos de uchuva (*Physalis peruviana*) sobre tres tipos de bacterias patógenas aisladas de carne e identificadas mediante técnicas moleculares.
Director: Ing. María Bernarda Ruilova PhD
Institución: UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR

ANEXO 3. PRESUPUESTO MENSUAL POR LÍNEAS DE FINANCIAMIENTO, FONDOS U.E.B

Rubros / Detalle	Código Clasificador presupuestario de ingresos y gastos del Sector Público GRUPO 7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	TOTAL
1) RECURSOS HUMANOS														
Dra. PhD. En Ciencias de los Alimentos María Bernarda Ruilova Cueva Especialización: Alimentos Directora del proyecto Institución UEB	I RMU-PAG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ingeniera Rosa Angélica Tigre León Especialización: Agroindustria Cargo en el proyecto: Ayudante de Investigación Modo de Contratación: servicios profesionales	I RMU-PAU	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	10.500,00
Subtotal		875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	875,00	10.500,00

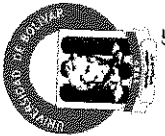


UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR
Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



2) VIAJES TECNICOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Quito, 2 personas, 2 días casas comerciales de Kits de extracción de ADN y reactivos varios necesarios para el desarrollo del proyecto (destino, número de personas, días)	100,00	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	300,00
Quito, 2 personas, 2 días casas comerciales	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	200,00
Ibarra, 3 personas, 2 días Universidad Técnica del Norte.	0,00	125,00	0,00	0,00	125,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	250,00
Ibarra, 3 personas, 2 días Universidad Técnica del Norte.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	140,00	140,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	280,00
Ibarra 3 personas 2 días Yachay	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	145,00	145,00	0,00	0,00	0,00	0,00	290,00
Otros destinos, 4 personas, 2 días Capacitaciones	0,00	0,00	240,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	240,00	0,00	300,00	780,00
Subtotal	200,00	225,00	240,00	100,00	225,00	140,00	285,00	145,00	0,00	240,00	0,00	300,00	2 100,00



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



3) EQUIPOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Nombre: ** Estomacher 400 circulator													
Descripción Corta: ** 80 to 400 ml	1.000,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1.000,00
Cantidad: ** 1													
Nombre: ** Homogenizador Ultra turrax													
Descripción Corta: ** 4000-12000 rpm	2.000,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2.000,00
Cantidad: ** 1													
Subtotal	3.000,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3.000,00

4) RECURSOS BIBLIOGRAFICOS Y SOFTWARE													Total
Nombre: ** software para clustering													
Descripción Corta: ** Ex.SON.	200,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	200,00
Cantidad: ** 1													
Nombre: ** Microbiología y biotecnología de los alimentos													
Descripción Corta: **	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
Cantidad: ** 1													
Subtotal	300,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	300,00



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación



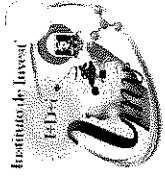
(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología - SENESCYT)

5) MATERIALES Y SUMINISTROS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Nombre: ** Puntas paja Cantidad: ** 200	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100,00
Nombre: ** miceopipeta acura para puntas paja Cantidad: ** 2	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200,00
Nombre: ** Bolsas de stomacher Cantidad: ** 100	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	300,00
Nombre: ** pinzas Cantidad: ** 3	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50,00
Nombre: ** pipetas descartables Cantidad: ** 100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100,00
Nombre: ** Propipeta Cantidad: ** 3	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50,00
Nombre: ** tubos de ensayo con tapa metálica 10ml Cantidad: ** 50	70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	70,00
Nombre: ** Pac, tubos eppendorf 2 ml Cantidad: ** 2	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100,00
Nombre: ** pac microtubos eppendorf de 0,2 ml Cantidad: ** 1	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100,00



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación



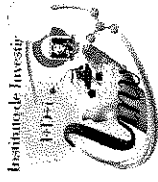
(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)

Nombre: ** Pac. Tubos eppendorf 1 ml Cantidad: ** 1	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100,00
Nombre: ** pac. Tubos eppendorf 1,5 ml Cantidad: ** 1	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100,00
Nombre: ** crioviales Cantidad: ** 2	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200,00
Nombre: ** matraces de 500 ml Cantidad: ** 4	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100,00
Nombre: ** pac de algodón Cantidad: ** 3	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40,00
Nombre: ** rollo papel aluminio Cantidad: ** 2	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10,00
Nombre: ** jarras cristal Cantidad: ** 5	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20,00
Nombre: ** bandejas 3 tamaños Cantidad: ** 1 de cada	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50,00
Nombre: ** Gradillas de plástico, varias medidas Cantidad: ** 12	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50,00
Nombre: ** cajas petric descartables Cantidad: ** 4 cartones	600,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	600,00
Nombre: ** tubos falcon 100ml	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100,00



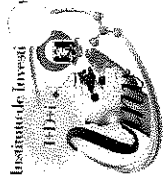
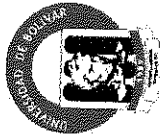
UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación



Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología - SENESCYT

Cantidad: ** 1 cartón																							
Nombre: ** Probetas de 100, 500, 1000 ml																							
Cantidad: ** 1 de cada	120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	120,00	
Nombre: ** Asas de seimbra en superficie																							
Cantidad: ** 1 pac.	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50,00	
Nombre: ** micro pipetas de 10, 100, y 1000 ul																							
Cantidad: ** 1 de cada	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	300,00	
Nombre: ** campanas Durham																							
Cantidad: ** 40	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200,00	
Nombre: ** paquetes de filtro de membrana de 0,22 um																							
Cantidad: ** 1	75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	75,00	
Nombre: ** gradillas de incubación de cajas petric																							
Cantidad: ** 3	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50,00	
Nombre: ** cajas porta eppendorf																							
Cantidad: ** 5	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100,00	
Nombre: ** puntas de micropipetas de 10, 100, 1000 ul																							
Cantidad: ** 2 pac de cada.	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200,00	
Nombre: ** Galón de Alcohol Abs																							
Cantidad: ** 1	70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	70,00	



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR
Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

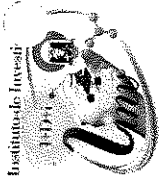
(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología - SENESCYT)

Nombre: ** Galón de Legia Cantidad: ** 1	70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	70,00
Nombre: ** Pac. De estándares de McFarland Cantidad: ** 1	70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	70,00
Nombre: ** Frasco peptona tamponada Cantidad: ** 1	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50,00
Nombre: ** Frasco Agar Agar bacteriológico Cantidad: ** 1	120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	120,00
Nombre: ** Frasco Agar Muller Hilton Cantidad: ** 1	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	150,00
Nombre: ** Frasco Agar PCA (Plate Count Agar) Cantidad: ** 1	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100,00
Nombre: ** Frasco RVS (Rappaport Vassiliadis Salmonella Enrichment Broth) Cantidad: ** 1	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100,00
Nombre: ** Frasco XLD (Xylose Lysine)	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	150,00



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR
Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



Nombre: ** Frasco Agarosa Cantidad: ** 1	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60,00
Nombre: ** Red Safe (Nucleic Acid Staining Solution) Cantidad: ** 2	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50,00
Nombre: ** Tampón TAE 50X Cantidad: ** 1	70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	70,00
Nombre: ** Bio taq polimerasa Cantidad: ** 2	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50,00
Nombre: ** dNTP'S (nucleótidos) Cantidad: ** 2	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100,00
Nombre: ** Solución Buffer para PCR Cantidad: ** 2	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100,00
Nombre: ** MgCl2 para PCR Cantidad: ** 2	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	250,00
Nombre: ** Frasco de medio esencial mínimo (MEM) Cantidad: 1	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	150,00
Nombre: ** Marcador de PM, 50bp Cantidad: ** 2	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	150,00
Nombre: ** Tampón de carga electroforesis Cantidad: ** 2	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200,00



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



Nombre: ** otros (materiales y suministros de oficina)	775	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	775,00
Cantidad: **																			
Subtotal	6.800,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6.800,00

6) TRANSFERENCIA DE RESULTADOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Nombre del evento: ** nnnn													
Número de asistentes: **	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	900,00	0,00	900,00
Lugar: **													
Duración: **													
Nombre de la Publicación: ** nnnn													
Tipo: **	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	900,00	0,00	900,00
Tiraje: **													
Subtotal	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1.800,00	0,00	1.800,00

7) SUBCONTRATOS Y SERVICIOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Nombre: ** Tabuladores, Técnicos, Laboratoristas, otros.													
Descripción Corta del Servicio: ** muestreo	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	600,00	0,00	1000,00
Tipo: ** Análisis													
Nombre: ** impresión de folletos informativos, otros													
Descripción Corta del Servicio: ** transferencia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1.200,00	0,00	1.250,00
Tipo: ** Documentación													
Subtotal	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1.800,00	0,00	2.500,00



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



8) CAPACITACION	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Gastos necesarios para la capacitación en el campo de la investigación vinculada al proyecto. Nombre: ** técnicas de laboratorio Tipo: ** profesional Lugar: ** Guaranda, Ibarra # Participantes: ** 4	0,00	1.000,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1.000,00
Nombre: ** capacitación a investigadores en materias de biología molecular Lugar: ** Guaranda, Quito, Guayaquil, Ibarra # Participantes: ** 4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2.000,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2.000,00
Subtotal	0,00	1.000,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2.000,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3.000,00
TOTAL	10.400,00	1.480,00	900,00	1.020,00	1.020,00	1.020,00	900,00	900,00	4.000,00	1.360,00	4.600,00	1.400,00	30.000,00

Sello de la Institución

Nombre: Ing. María Bernarda Rulova PhD
Directora del Proyecto

Nombre: ING. JAIME ALDÁZ CÁRDENAS
Decano Ciencias Agropecuarias

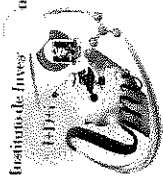
ANEXO 4. RESUMEN DEL RESUPUESTO DEL PROYECTO



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Formulario para la Presentación de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación

(Formulario tomado de la Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología - SENESCYT)



Esta tabla sintetiza el total de fondos necesarios para la ejecución del proyecto por cada uno de los rubros de financiamiento y por cada año de ejecución del proyecto. Esta información se obtendrá una vez que se haya completado el ANEXO 3.

RUBROS	APORTES UEB		APORTE OTRAS INSTITUCIONES		TOTAL	
	EFECTIVO	Año 1	EFECTIVO	EFECTIVO	EFECTIVO	EFECTIVO
1. Remuneración recursos humanos (Director, Ayudante de Investigación, Pasantes)	10.500,00		0		10.500,00	
2. Viajes Técnicos	2.100,00		0		2.100,00	
3. Capacitación (cursos, seminarios)	3.000,00		0		3.000,00	
4. Equipos	3.000,00		0		3.000,00	
5. Recursos Bibliográficos y Software.	300,00		0		300,00	
6. Materiales y Suministros	6.800,00		0		6.800,00	
7. Transferencia de resultados	1.800,00		0		1.800,00	
8. Subcontratos y servicios	2.500,00		0		2.500,00	
Total	30.000,00		0		30.000,00	
Porcentajes	100		0		100,00	