



FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

ESCUELA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

**Secuenciación de la región 16S de cepas aisladas de BAL y
determinación de su capacidad bactericida**

**Trabajo de graduación previo a la obtención de título de:
Ingeniera en Alimentos**

Autora

Tatiana Gabriela Camacho Sánchez

Director

Rodrigo Sebastián Caroca Cáceres

Co-Directora

María Fernanda Rosales Medina

Cuenca – Ecuador

2018

DEDICATORIA

El presente trabajo se lo dedico a mis padres
Aydita y Pedro, quienes han sido el motor principal
y el mejor ejemplo de lucha, sabiduría
y dedicación en mi vida, para seguir adelante;

A mi hermano Pedro, por ser la persona
que me inspira a querer ser mejor todos los días
para darle un buen ejemplo;

A mis abuelitos maternos Delia y Héctor y
mis abuelitos paternos Rosa y Juan, por todo
su apoyo incondicional y sus sabios consejos
para nunca rendirme y siempre seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi más profundo agradecimiento a Dios por la fuerza y sabiduría que me ha brindado para llegar a cumplir todas y cada una de las metas que me he propuesto en la vida.

A la Ingeniera María Fernanda Rosales y al Doctor Rodrigo Caroca, por la confianza que depositaron en mi persona para realizar el presente trabajo y por haber compartido conmigo todos sus conocimientos.

Al Ingeniero Diego Montero y a la Ingeniera Johanna Tacuri por su constante apoyo y aporte de conocimientos durante la realización de esta tesis.

A la Universidad del Azuay por abrirme sus puertas y por el aporte económico invaluable en la realización del presente trabajo.

A Javier Cueva, por ser una persona maravillosa y haberme brindado un apoyo incondicional durante la realización de este trabajo, mismo que me ha permitido hoy llegar hasta aquí.

A mi familia, tíos, primos, a mis compañeros de aula, a mi compañera de proyecto, a mis amigos, gracias a todos y cada uno de ellos que de una u otra manera me brindaron su apoyo sincero para que este camino sea un poco más llevadero.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE CONTENIDOS	iv
Resumen	v
Palabras claves:	v
ABSTRACT	vi
KEYWORDS	vi
INTRODUCCIÓN	1
MATERIALES Y METODOLOGÍA	5
1.1. Activación de cepas	5
1.2. Verificación de bacterias.....	5
1.2.1. Tinción de Gram	5
1.3 Identificación molecular de las BAL mediante amplificación y secuenciación del gen 16S DNA.....	5
1.3.1 Amplificación del DNA de la región 16S de las BAL mediante PCR.....	5
1.4. Capacidad de inhibición de las BAL frente a bacterias patógenas.....	6
1.4.1 Capacidad bactericida de <i>Lactobacillus paraplantarum</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> y <i>Enterococcus faecium</i> contra cepas de <i>S. aureus</i> ATCC 12600, <i>E. coli</i> ATCC 8739, <i>Salmonella</i> ATCC 14028 y <i>B. cereus</i> ATCC 10876.	6
.....	7
1.6 Análisis estadístico	8
CAPITULO II	9
RESULTADOS	9
2.1 Verificación de las bacterias	9
2.2 Identificación molecular de las BAL mediante amplificación y secuenciación del gen DNAr 16S	9
2.3 Capacidad de inhibición de las BAL frente a bacterias patógenas <i>S. aureus</i> ATCC 12600, <i>E. coli</i> ATCC 8739, <i>Salmonella</i> ATCC 14028 y <i>B. cereus</i> ATCC 10876.....	11
CAPITULO III	15
DISCUSIONES	15
CONCLUSIONES	18
BIBLIOGRAFÍA	19
ANEXOS	24

Secuenciación de la región 16S de cepas aisladas de BAL y determinación de su capacidad bactericida

Resumen

En este trabajo se identificó, mediante secuenciación de la región 16S, a bacterias ácido lácticas (BAL) aisladas de quesos frescos provenientes de zonas rurales del Ecuador. Se identificaron cinco cepas de *Lactobacillus plantarum*, una de *Lactobacillus paraplantarum* y tres de *Enterococcus faecium*. Las BAL identificadas fueron evaluadas por su capacidad bactericida contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Bacillus cereus*. A través de pruebas de co-cultivos se determinó que dichas BAL tienen un efecto bactericida contra las cepas patógenas estudiadas. La BAL más efectiva fue *L. plantarum*, con efecto inhibitorio total contra tres de las cuatro cepas patógenas.

Palabras claves: Secuenciación, bactericida, amplificación, cultivos mixtos, BAL.



Ing. María Fernanda Rosales Medina

Coordinadora de Escuela

Ingeniería en Alimentos



Rodrigo Caroca, PhD.

Director de Tesis



Srta. Tatiana Camacho

Autora

**Sequencing of the 16S region of strains isolated from lactic acid bacteria (LAB)
and the determination of their bactericidal capacity.**

Abstract

In this work, lactic acid bacteria (LAB) isolated from fresh cheeses from rural areas of Ecuador were identified by sequencing the 16S region. Five strains of *Lactobacillus plantarum*, one of *Lactobacillus paraplantarum* and three of *Enterococcus faecium* were identified. The identified LABs were evaluated for their bactericidal capacity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Bacillus cereus*. It was determined through co-culture tests that these LABs had a bactericidal effect against the studied pathogenic strains. The most effective LAB was *L. plantarum* with total inhibitory effect against three of the four pathogenic strains.

Keywords: Sequencing, bactericide, amplification, mixed cultures, LAB.

Ing. María Fernanda Rosales Medina

Food Engineering

Faculty Coordinator



Rodrigo Caroca, PhD.

Thesis Director



Tatiana Camacho

Author