



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

COMUNIDAD EDUCATIVA AL SERVICIO DEL PUEBLO

Desarrollo de biopreparados basados en enzimióticos procedentes de fuentes autóctonas para el tratamiento del pie diabético y control de infecciones bacterianas

CARRERA Y/O CARRERAS RESPONSABLES

Autores

- M.Sc. Luis Moncayo (Director de Proyecto)
- Mgs. Patricia Rodríguez (co-director)
- Dr. Ysaías Alvarado
- M.Sc. Lenin Gonzalez Paz
- Dr. Aleivi Pérez Briceño

Cuenca, 28 de septiembre de 2018



N° Proyecto	2
-------------	---



1 TABLA DE CONTENIDOS

1	TABLA DE CONTENIDOS.....	2
2	DATOS GENERALES DEL PROYECTO	3
3	LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DEL PROYECTO	4
4	DATOS DE LA ENTIDAD EJECUTORA	5
5	INVESTIGACIÓN COMPARTIDA	5
6	PERSONAL CIENTÍFICO-TÉCNICO DEL PROYECTO.....	7
7	MARCO TEÓRICO.....	14
7.1	RESUMEN DEL PROYECTO	14
7.2	MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.....	14
7.3	PALABRAS CLAVE.....	16
8	DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROYECTO	16
8.1	DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA.....	16
8.2	HIPÓTESIS O PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	18
8.3	OBJETIVOS.....	18
8.3.1	GENERAL	18
8.3.2	ESPECÍFICOS.....	18
8.4	JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	18
8.5	RESULTADOS ESPERADOS	19
9	PLANEACIÓN Y FINANCIAMIENTO	22
9.1	FACILIDADES DE TRABAJO.....	22
9.2	PLAN DE TRABAJO	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
9.3	CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	22
9.4	PRESUPUESTO Y PROGRAMACIÓN FINANCIERA	23
10	BENEFICIARIOS E IMPACTOS DEL PROYECTO.....	20
10.1	BENEFICIARIOS DIRECTOS.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
10.2	BENEFICIARIOS INDIRECTOS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
10.3	IMPACTO DEL PROYECTO.....	20
11	DIFUSIÓN DE RESULTADOS.....	21
11.1	EFFECTOS MULTIPLICADORES.....	21
11.2	TRANSFERENCIA DE RESULTADOS.....	21
12	IMPACTO AMBIENTAL	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
13	ASPECTOS BIOÉTICOS Y SOCIALES	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
14	BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS CIENTÍFICAS CITADAS.....	23
15	DECLARACIÓN FINAL	26



2 DATOS GENERALES DEL PROYECTO

TÍTULO			
DESARROLLO DE BIOPREPARADOS BASADOS EN ENZIBIÓTICOS PROCEDENTES DE FUENTES AUTÓCTONAS PARA EL TRATAMIENTO DEL PIE DIABÉTICO Y CONTROL DE INFECCIONES MICROBIANAS			
TIPO DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN			
Investigación Básica <input type="checkbox"/>	Investigación (I+D+I) <input checked="" type="checkbox"/>	Investigación (I+V) <input checked="" type="checkbox"/>	
DIRECTOR DEL PROYECTO			
LUIS SALVADOR MONCAYO MOLINA			
GRUPO DE INVESTIGACIÓN			
Desarrollo e Innovación Biotecnológica UCACUE-LUZ			
ÁREA TEMÁTICA DE I+D QUE TRIBUTA Y CENTRO DE INVESTIGACIÓN ADSCRITO. Para mayor información sobre las temáticas referirse al documento "Bases VI Convocatoria", sección 8.2			
Ciencias Exactas y Naturales (CEN) <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Centro de Investigación de Agricultura, Veterinaria, Silvicultura y afines	<input type="checkbox"/>
Ingeniería y Tecnología (IT) <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Centro de Investigación de Ingeniería, Industria, Construcción y TIC	<input type="checkbox"/>
Ciencias de la Salud (CS) <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Centro de Investigación de Ciencias Sociales y Administración	<input type="checkbox"/>
Ciencias Agrarias (CA) <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Centro de Investigación de Salud y Bienestar	<input type="checkbox"/>
Ciencias Sociales (CS) <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Centro de Investigación de Educación	<input type="checkbox"/>
Humanidades (H) <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Centros de Investigación de Azogues, Cañar, San Pablo de La Troncal o Macas	<input type="checkbox"/>
LÍNEA Y ÁMBITO DE INVESTIGACIÓN INSTITUCIONAL			
Para información sobre las líneas de investigación referirse al Documento Bases VI Convocatoria", sección 8.1			
Línea de Investigación: Ciencias médicas y de la salud			
Ámbito de Investigación: Enfermedades transmisibles, Servicios de salud y Contaminación ambiental y saneamientos			
TIPO DEL PROYECTO			
Disciplinario <input type="checkbox"/>	Interdisciplinario <input type="checkbox"/>	Multidisciplinario <input checked="" type="checkbox"/>	Transdisciplinario <input type="checkbox"/>



ESTADO DEL PROYECTO			
Nuevo	<input checked="" type="checkbox"/>	En ejecución	<input type="checkbox"/>
Continuación	<input type="checkbox"/>	Parte un programa	<input type="checkbox"/>
En caso de ser parte de un programa, escriba el nombre del mismo			
TIEMPO DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO			
Duración del proyecto en meses	12 MESES		
FINANCIAMIENTO DEL PROYECTO			
Monto total del financiamiento proyecto	182.448,00 \$		
Monto financiamiento UCACUE	43.208,00 \$		
Monto otras fuentes de financiamiento (Universidad del Zulia/ Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas)	139.240,00 \$		

3 LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DEL PROYECTO

COBERTURA DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO (Seleccione sólo un tipo de cobertura)		
Nacional <input type="checkbox"/>		
Zonas PNBV <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 type="checkbox"/>
	Zona 6 (Azuay, Cañar y Morona Santiago)	<input checked="" 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"/>		
Local <input checked="" type="checkbox"/> Provincias: Azuay, Cuenca – Cañar, Cañar		



4 DATOS DE LA UNIDAD ACADÉMICA EJECUTORA

DATOS DE LA UNIDAD ACADÉMICA				
Nombre:	Universidad Católica Cuenca, Unidad Académica de Cañar. Carrera de Enfermería			
Dirección:	Av. Las Américas y Humbolt – Cuenca Av. Paseo de los Cañaris – Cañar.			
Teléfonos:	07 2830-751		Correo Electrónico:	www.ucacue.edu.ec
Representante de la Unidad:	Dra. Susana Peña Cordero, Mgs. Decana de la Facultad Salud y Bienestar		Cédula de Identidad:	0102135332
Teléfonos personales:	072240285	0997203009	Correo Electrónico:	spenac@ucacue.edu.ec spenacordero@hotmail.com
Información descriptiva sobre la Unidad Académica	La Unidad Académica de Cañar se encuentra situada en la Av. Paseo de los Cañaris, Cañar. En la actualidad cuenta con cinco carreras profesionales, entre las que cuenta la Carrera de Enfermería.			



5 INVESTIGACIÓN COMPARTIDA

DATOS DE LAS INSTITUCIONES EXTERNAS PARTICIPANTES EN EL PROYECTO

Debe incluir una tabla por cada institución con las cuales se compartirá la investigación, agregue tantas instituciones como sean necesarias.

Nota: En el caso de que la investigación será colaborada o co-ejecutada con una o más instituciones, involucrando aporte monetario, personal científico e infraestructura, se deberá completar los datos de dichas instituciones en la tabla a continuación. Además deberá incluir una carta de entendimiento entre la Institución Postulante y cada institución co-ejecutora, en la cual se establezca claramente cuál será la naturaleza de la participación y el grado de responsabilidad de cada institución durante la ejecución del proyecto.

INSTITUCIÓN CO-EJECUTORA O COLABORADORA

Nombre de la Institución:	Laboratorio de Microbiología General. Departamento de Biología. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia			RUC:	
Representante Legal:	Aleivi Eliezer Pérez Briceño			Cédula de Identidad:	9.143.151
Teléfonos:	+58-414-6351445	+58-416-6611241	Correo Electrónico:	aleiviciencias@gmail.com	
Dirección:	Avenida Universidad, Facultad Experimental de Ciencias, Modulo 1, laboratorio de Microbiología General. Apartado Postal 526, Maracaibo, Venezuela.				
Página Web Institucional:	http://www.fec.luz.edu.ve/				
Nombre del Investigador principal:	Aleivi Eliezer Pérez Briceño			Cédula de Identidad:	9.143.151
Teléfonos:	58-414-6351445	+58-416-6611241	Correo Electrónico:	aleiviciencias@gmail.com	



DATOS DE LAS INSTITUCIONES EXTERNAS PARTICIPANTES EN EL PROYECTO

Debe incluir una tabla por cada institución con las cuales se compartirá la investigación, agregue tantas instituciones como sean necesarias.

Nota: En el caso de que la investigación será colaborada o co-ejecutada con una o más instituciones, involucrando aporte monetario, personal científico e infraestructura, se deberá completar los datos de dichas instituciones en la tabla a continuación. Además deberá incluir una carta de entendimiento entre la Institución Postulante y cada institución co-ejecutora, en la cual se establezca claramente cuál será la naturaleza de la participación y el grado de responsabilidad de cada institución durante la ejecución del proyecto.

INSTITUCIÓN CO-EJECUTORA O COLABORADORA

Nombre de la Institución:	Centro de investigación y tecnología de materiales (CITeMA). Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas			RUC:	
Representante Legal:	Ysaías Alvarado			Cédula de Identidad:	7.263.009
Teléfonos:	+58-426-5604328	+58-426-5604327	Correo Electrónico:	alvaradoysaias@gmail.com	
Dirección:	Avenida Universidad, Facultad Experimental de Ciencias, Modulo 2, Centro de investigación y tecnología de materiales (CITeMA). Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Apartado Postal 526, Maracaibo, Venezuela. Instituto Venezolano de investigaciones Científicas IVIC Carretera Panamericana, Km 11, Altos de Pipe, San Antonio de los Altos Miranda, 1020-A, Venezuela Teléfono: +58-212-5040000 http://www.ivic.gob.ve/				
Página Web Institucional:	http://www.ivic.gob.ve/es/investigacion-3/centros-31/investigacion-y-tecnologias-de-materiales-citema				
Nombre del Investigador principal:	Ysaías Jose Alvarado			Cédula de Identidad:	7.263.009
Teléfonos:	+58-426-5604328	+58-426-5604327	Correo Electrónico:	alvaradoysaias@gmail.com	

PERSONAL CIENTÍFICO-TÉCNICO DEL PROYECTO – PARTICIPANTES -BENEFICIARIOS



PERSONAL DEL PROYECTO

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

Función en el proyecto		Director del Proyecto	
Nombre:	LUIS SALVADOR MONCAYO MOLINA		
Entidad a la que pertenece	UCACUE. Facultad de Salud y Bienestar. Extensión Cañar. Carrera de Enfermería.	Cédula de Identidad / Pasaporte	0300885670
Grado académico y/o especialización	Bioquímico Farmaceuta, Ingeniero Químico, Diplomado Superior en Microbiología y Biología Molecular. Magister en Microbiología (egresado), Magister en Ciencias Educativas, Mención Biología. Doctorando en Química, Universidad de La Habana. Doctorando en Ciencias de la Salud.	Cargo actual	Docente
Teléfonos	072237237	0998523548	Correo Electrónico imoncayom@ucacue.edu.ec luismoncayo834@hotmail.com

Actividades de carácter científico o profesional desarrolladas en los últimos cinco años.
Dirección o participación en otros proyectos.

Frecuencia de los grupos sanguíneos de los Sistemas ABO, Rh y enfermedades recurrentes en los habitantes de cuatro comunidades de los cantones: Cañar, El Tambo y La Troncal.

Uso de macroinvertebrados bénticos como indicadores de la calidad ambiental de los ríos Pucuhuayco y Zham-zham, en la ciudad de Cañar, Ecuador. (Dirección del proyecto)

Laboratorista del Instituto Superior Calasanz – Cañar. (31 años)

Profesor de Bioquímica, Biología y Microbiología (8 años)

Relación de publicaciones, señalando datos editoriales.

Publicaciones, “Cicatrices imborrables”. La migración y la educación secundaria en el cantón cañar. Periodo 2013 – 2014. Resv. Public. Edu. Argentina. Buenos Aires. 2014.

Artículo Indexado en el área de Ciencias de la Educación. ISSN N° 0717-2141

Software libre y el dominio de las destrezas procedimentales.



Participación en congresos nacionales e internacionales.

Prácticas, Microbiología Biomédica. Universidad de Guayaquil. 2012.

Bioseguridad Industrial y el Medio Ambiente, LNMSM, Lima, 2015.

Genotipos. Biología Molecular Biomédica. Universidad Nacional de San Marcos, Lima, 2016

Libro en el área de Administración de Empresas, Gestión y Auditoría del Medio Ambiente. ISBN N° 978-9942-27-003-0

Capítulo del Libro REDIPE-UNACH. Artículo Indexado en el área de Ciencias Educativas. ISBN N° 978-1-945570-48-3

IV SIMPOSIO Internacional de Educación y Pedagogía. Apropiación, Generación y uso de conocimientos. ISBN N° 9781945570506

UNIVERSIDADES 2018. 11no Congreso Internacional de Educación Superior. ISBN N° 978-0-920233-65-8

III Congreso Internacional Educación Contemporánea, Calidad Educativa y Buen Vivir. ISBN N° 978-1-945570-48-3

V Congreso Internacional de Investigación. Corporación Universitaria Remington, Centro de Investigación y Desarrollo Ecuador, CIDE. ISBN N° 978-9942-759-61-0

III Congreso Internacional UNAE: Educación y Universidad, para la Transformación Social: Balances y Desafíos a 100 de años de la Reforma de Córdoba. ISBN N°

VI Congreso Internacional Multidisciplinario de Educación Superior. CIDE, Durán. ISBN N° 978-9942-759-71-9

33° Congreso Latinoamericano de Química, CLAQ y el X Congreso de Ciencias Químicas, Tecnología e Innovación, QUIMICUBA'2018. ISBN N°



Función en el proyecto		Codirector del Proyecto		
Nombre:	Patricia Elizabeth Rodríguez Pañora			
Entidad a la que pertenece	UCACUE. Facultad de Salud y Bienestar. Extensión Cañar. Carrera de Enfermería.		Cédula de Identidad / pasaporte	0302302583
Grado académico y especialización	LICENCIADA EN ENFERMERÍA MAGISTER EN GESTIÓN EN SALUD.		Cargo actual	DIRECTORA DE CARRERA.
Teléfonos	07223813 4	0995322988	Correo Electrónico	perodriguezp@ucacue.edu.ec
Actividades de carácter científico o profesional desarrolladas en los últimos cinco años. Dirección o participación en otros proyectos.				
Relación de publicaciones, señalando datos editoriales.				
Cumplimiento de protocolos de atención a pacientes con Dengue: Hospital Darío Machuca Palacios, Revista Killkana, Salud y Bienestar Volumen 1, Nro.1, pp 15-20 La motivación de los estudiantes de enfermería, Revista Dominio de las ciencias , Volumen 3, num 4, octubre,2017, pp 570-787,				
Participación en congresos nacionales e internacionales.				
Relación de publicaciones, señalando datos editoriales.				



Función en el proyecto		Colaborador 1. Investigador		
Nombre:	Aleivi Pérez Briceño			
Entidad a la que pertenece	Laboratorio de Microbiología General. Departamento de Biología. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia.		Cédula de Identidad / Pasaporte	9.143.151
Grado académico y especialización	Doctor en Ciencias. Magister Scientiarum en Gerencia de Proyectos de Investigación y Desarrollo DEA en Gestión Tecnológica		Cargo actual	Docente e Investigador
Teléfonos	+58-414- 6351445	+58-416- 6611241	Correo Electrónico	aleiviciencias@gmail.com
Actividades de carácter científico o profesional desarrolladas en los últimos cinco años. Dirección o participación en otros proyectos.				
Investigación en Microbiología y Gestión Tecnológica. Producción de Biosurfactantes,				
Relación de publicaciones, señalando datos editoriales.				
ÚLTIMAS PUBLICACIONES				
Colina G.; Hernández Y.; Pérez D.; Pérez A., Pineda E.; Piña J.; Rojas A. (2013). Variación en la longitud celular y patrones de swarming formados en cepa de <i>Proteus</i> spp. aislada del Lago de Maracaibo. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología; 33 (1): 117-121.				
Colina G.; Hernández Y.; Pérez A.; Pérez D.; Pineda E.; Piña J.; Rojas A. (2013). Patrones de swarming y cambios de longitud celular en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> silvestre y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología; 33 (1): 122-126.				
Perez A., Pérez D., Bracho K., Pirela H., Faneite J. (2015). Velocidad y aceleración en la motilidad de <i>Proteus</i> sp. durante las fases del swarming. Investigación Clínica, 56 (1): 1120-1124.				
Polo, J.; Pérez A. (2016). La gestión del conocimiento meta-paradigmático en organizaciones productoras y/o promotoras de conocimiento. Revista Electrónica Facultad de Ingeniería UVM, 10 (2): 1622-1642				
Polo, J.; Pérez A. (2017). Lineamientos para la gestión del conocimiento en las nuevas empresas productoras y/o promotoras de conocimiento. Revista Electrónica Facultad de Ingeniería UVM, 10 (10): 1-18.				
Participación en congresos nacionales e internacionales.				
ÚLTIMOS CONGRESOS:				
I Congreso Internacional de Investigación Universitaria – VI Congreso Venezolano y VII Jornadas Nacionales de Investigación Estudiantil “Dr. Darío Durán Cepeda”, 17 al 19 de Octubre, 2017				
VI Jornadas del Laboratorio de Investigaciones Ambientales del Núcleo LUZ COL (LIANCOL) y II Congreso de Ciencias Ambientales del Núcleo LUZ COL, Cabimas 02 y 03 Nov. 2017				



Función en el proyecto		Colaborador 2. Investigador		
Nombre:	Lenín Andrés González Paz			
Entidad a la que pertenece	Laboratorio de Genética y Biología Molecular. Laboratorio Microbiología General. FEC. LUZ	Cédula de Identidad / Pasaporte	19.016.302	
Grado académico y especialización	Magister Scientiarum en Microbiología	Cargo actual	Docente e investigador	
Teléfonos	+58-424-6891285		Correo Electrónico	lgonzalezpaz@gmail.com

Función en el proyecto		Colaborador 3. Investigador		
Nombre:	Ysaías José Alvarado			
Entidad a la que pertenece	Centro de investigación y tecnología de materiales (CITeMA). Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas	Cédula de Identidad / Pasaporte	7.263.009	
Grado académico y especialización	Ph.D (Doctor en Química)	Cargo actual	Director de CITeMA. Investigador	
Teléfonos	+58-426-5604327	+58-426-5604328	Correo Electrónico	alvaradoysaias@gmail.com

Función en el proyecto		Colaborador 4. Auxiliar de Investigación		
Nombre:	Carla Andreína Lossada González			
Entidad a la que pertenece	Laboratorio de Genética y Biología Molecular. Laboratorio Microbiología General. FEC. LUZ	Cédula de Identidad / Pasaporte	23.270.70	
Grado académico y especialización	Licenciada en Biología. Estudiante postgrado	Cargo actual	Auxiliar de investigación	
Teléfonos	+58-414-6027888		Correo Electrónico	lossadacarla@gmail.com



5.1 PARTICIPANTES DEL PROYECTO

En este proyecto participarán seis (6) personas:

- a) Director de Proyecto: M. Sc. Luis Moncayo Molina
- b) Co-director de Proyecto: Mgs. Patricia Rodríguez Pañora
- c) Investigador: Dr. Ysaías Alvarado
- d) Investigador: M.Sc. Lenín González Paz
- e) Investigador: Dr. Aleivi Pérez
- f) Auxiliar de investigación: Lic. Carla Lossada González (estudiante de postgrado)

5.2 BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

6.2.1 BENEFICIARIOS DIRECTOS

Esta tecnología beneficiaría de forma directa a una cada vez más creciente población susceptible a infecciones en el Ecuador, puesto que en la última década en el país se ha presentado un incremento considerable de casos de diabéticos y es la primera causa de muerte en el país. En concreto, en relación a la complicación por infecciones del pie diabético en el año 2010 el censo de discapacidades del MSP estimó una prevalencia de amputaciones de hasta un 27%. En el 2011 se registraron 700 casos de pacientes con úlceras en las extremidades inferiores, de los cuales la incidencia de las amputaciones de extremidades inferiores reportadas por los hospitales fue del 65%.

Después de la amputación de una extremidad inferior, la incidencia de una nueva úlcera y/o la amputación puede llegar a ser del 50% en tan solo 2 años. La supervivencia de los pacientes diabéticos amputados es significativamente peor que la del resto de la población, y aún menor si han sufrido otra amputación previa. Solo el 50 y 40% de los pacientes sobreviven a los 3 y 5 años de una amputación, respectivamente, y el pronóstico empeora conforme se eleva el nivel donde se realiza la misma.

Desafortunadamente, el manejo en estos pacientes es inadecuado en la mayoría de casos; de aquí la importancia de desarrollar nuevas e innovadoras alternativas de tratamiento a un bajo costo, incentivado además por ser una afección que atañe a pacientes adolescentes, adultos y adultos mayores.

6.2.2 BENEFICIARIOS INDIRECTOS

Por otro lado con la optimización de esta tecnología predecimos que el desarrollo de biopreparados como los aquí propuestos podría contribuir de forma indirecta con la disminución de la morbimortalidad, costos de hospitalización, amputaciones, discapacidad, ausencias laborales, afectaciones físicas y psicosocial de los pacientes. Con la prevención, el manejo oportuno, integral y multidisciplinario de esta patología y permitirá mejorar la calidad de vida a nivel de la población ecuatoriana.

Además el desarrollo de esta tecnología en el Ecuador puede asentar las bases para la transferencia e incluso exportación de soluciones para el tratamiento de pacientes con úlceras de pie diabético y para el control de cualquier infección bacteriana asociada, esto promovido debido a que si no se atiende esta gran problemática de pertinencia social mundial se predice que para el año 2035, el número de casos de diabetes reportados se elevará a 592 millones a nivel mundial.



6 MARCO TEÓRICO

6.1 RESUMEN DEL PROYECTO

Las infecciones bacterianas especialmente las multiresistentes a antibióticos así como las úlceras del pie en los pacientes con diabetes son comunes, complejas y de alto costo. De hecho, actualmente la amputación suele llegar a ser el único tratamiento. En Ecuador en la última década se han incrementado considerablemente los casos de diabéticos y es la primera causa de muerte en el país. En relación a la complicación del pie diabético en 2010 el censo estimó una prevalencia de amputaciones de hasta el 27%. En 2011 la incidencia de las amputaciones de extremidades reportadas fue del 65%. Y para el 2015 la cifra de pacientes con infecciones en úlceras de pie diabético en algunas zonas ya ascendía a más de 1200 casos. Representando un progresivo e implacable aumento que debe ser atendido. Se predice que para el año 2035, el número de casos de diabetes reportados se elevará a 592 millones a nivel mundial. Patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, representan algunos de los principales agentes bacterianos asociados a este tipo de enfermedades y pueden llegar a ser multiresistente a los antibióticos y tratamientos convencionales con apósitos. Es por ello que es necesario desarrollar nuevas e innovadoras alternativas de tratamiento como la utilización de enzibióticos, los cuales son productos biológicos basados en virus inoos para el hombre que únicamente destruyen bacterias (bacteriófagos) y que pueden ser obtenidos a un bajo costo a partir de fuentes autóctonas como el agua residual doméstica (atendiendo a su vez problemáticas como la contaminación) permitiendo el desarrollo de biopreparados para controlar las infecciones ocasionadas por este tipo de bacterias de interés clínico. Por lo que se propone desarrollar biopreparados basados en enzibióticos procedentes de fuentes autóctonas para el tratamiento del pie diabético y control de infecciones bacterianas para garantizar la salud pública nacional.

6.2 MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

Estado actual de la terapia antimicrobiana contra bacterias de interés clínico

La aparición y rápida propagación de cepas como *P. aeruginosa* productoras de carbapenemasas, han agotado las opciones de tratamiento disponibles. Esta problemática ha hecho que este y otros patógenos considerados en este proyecto hayan sido incluido entre los organismos resistentes "altamente problemáticos" *ESKAPE* (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacterias*), aludiendo a su capacidad para "escapar" de las acciones de las terapias antimicrobianas actuales, convirtiéndose en parte de los responsables de la crisis de resistencia antibiótica en diferentes partes del mundo (Morales y col., 2015). De hecho el informe *Antibacterial agents in clinical development – an analysis of the antibacterial clinical development pipeline*, publicado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) revela una grave falta de nuevos antibióticos en fase de desarrollo para combatir la creciente amenaza de la resistencia a los antimicrobianos, y señala que la resistencia a los antimicrobianos es una emergencia para la salud mundial que comprometerá gravemente el avance de la medicina moderna. Existiendo una necesidad urgente de aumentar la inversión en investigación y desarrollo para luchar con las infecciones resistentes a los antibióticos. De otro modo, contraer infecciones habituales pondrán en riesgo la vida de todos (OMS, 2017).

Los bacteriófagos

Al igual que los virus que infectan células eucariotas, los bacteriófagos están constituidos por una cubierta proteica o cápside en cuyo interior está contenido su material genético, que puede ser de 5000 a 500000 pares de bases. El tamaño de los fagos oscila entre 20 y 200 nm aproximadamente. Los bacteriófagos, también denominados fagos, son virus que infectan solamente a bacterias con una elevada especificidad de huésped. Cada partícula fágica (virión) contiene un genoma de ácido nucleico (DNA o RNA) dentro de una envoltura proteica o lipoproteica, denominada cápside. Este conjunto es conocido como nucleocápside (Guttman y col., 2005). Los fagos son la forma de vida más abundante y ubicua en la tierra, pues se calcula que debe haber cerca del orden de 10^{31} o más sólo en el agua de



mar; sin embargo, éstos han sido obtenidos tanto en aguas residuales como en muestras de suelo (Segundo y col., 2010) aislándose prácticamente de todos los ambientes explorados en el planeta (Hendrix y col., 2000) jugando un rol determinante en el balance de los ecosistemas bacterianos (Goyal, 2007). Su ubicuidad se debe a que los fagos proliferan en los ambientes que colonizan sus huéspedes bacterianos, porque necesitan de su maquinaria celular para multiplicarse (Hendrix y col., 1999). Se han identificado bacteriófagos que infectan a más de 144 géneros del dominio Bacteria y a unos 10 géneros del dominio *Archaea* (Ackermann, 2001).

Las enzimas líticas bacteriofágicas como antimicrobianos: enzibióticos

Las bacterias Gram negativas como *P. aeruginosa* resultan una de las cepas de interés clínico más relevantes, tanto para este estudio, como a nivel nosocomial, puesto que se han convertido en parte de los responsables de la crisis de resistencia antibiótica en diferentes partes del mundo. Es importante describir que el empleo tanto de bacteriófagos como de sus productos líticos ambos denominados enzibióticos, han sido utilizados para destruir la pared bacteriana desde el interior de la célula infectada y así facilitar la liberación de la descendencia fágica para infectar a un gran número de cepas bacterianas. Es decir los bacteriófagos con interés bioterapéutico o enzibiótico son usados por su actividad lítica sobre bacterias patógenas específicas (García y López, 2002; García y col., 2010).

Aplicación de los bacteriófagos en la terapia antimicrobiana (fagoterapia o enzibióticoterapia)

Se conoce como terapia de fagos o fagoterapia, a la aplicación de bacteriófagos en su totalidad o de sus productos derivados (endolisinas) como agentes antibacterianos para combatir infecciones bacterianas, dado que el problema de la creciente aparición de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos, estimuló la necesidad de encontrar alternativas al uso de antibióticos en un intento por superar esta dificultad (Proenca, 2009; Segundo y col., 2010). Se han reportado estudios sobre el uso de bacteriófagos como tratamiento clínico o para la profilaxis de enfermedades infecciosas, tanto para bacterias Gram negativas como Gram positivas y también para el control de patógenos alimentarios como se expondrá más adelante (Proenca, 2009).

En la reunión de la Sociedad Americana de Microbiología (ASM) celebrada en Boston en el año 2014, se presentó el proyecto Phagoburn: el primer ensayo clínico multicéntrico de la terapia de fagos para las infecciones humanas, financiado por la Comisión Europea, he implica a la biotecnológica francesa Pherecydes Pharma y a una decena de hospitales franceses, belgas y suizos. Una de las más importantes ventajas de la terapia de fagos es que mientras que los antibióticos funcionan de forma indiscriminada, matando tanto las bacterias sanas como las infecciosas, cada tipo de fago se dirige precisamente a un tipo muy específico de la bacteria. Sin embargo aunque EE.UU está interesada en esta tecnología, es probable que en la ley que prohíbe patentar genes de origen natural se haga extensible a los fagos. Pero aun así hay esperanza de que la terapia de fagos sea aceptada puesto que sigue siendo ampliamente utilizada en Rusia, Polonia y Georgia (Reardon, 2014).

La inclusión de la tecnología de Fagoterapia como foco para la investigación y desarrollo de estrategias para el tratamiento alternativo de bacterias resistentes a los antibióticos se vio apoyada muy recientemente en el año 2015, tras una conferencia celebrada en Washington sobre terapias antibacterianas no antibióticas, en la que se presentaron los fagos como la más prometedora tecnología antibacteriana, el encuentro fue organizado por el Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Infecciosas (NIAID por sus siglas inglesas), uno de los más poderosos Institutos Nacionales de Investigación (NIH) de Estados Unidos. Se presentaron formulaciones ya desarrolladas de estas terapias comercialmente, con unos cuantos ensayos clínicos. Siendo el mayor escenario, los datos ofrecidos contra las infecciones de las quemaduras (Young y Gill, 2015).

Desarrollo de terapias con bacteriófagos en humanos

La terapia de fagos como modelo experimental ha sido probada tanto en animales como humanos. En modelos animales hay un amplia variedad de organismos usados con este fin: ratones, pollos, ovejas, conejos, entre otros; para el tratamiento de infecciones con cepas Gram negativas como *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* y *Pseudomonas aeruginosa*. En la mayoría de los casos se reportó una reducción en los signos de las enfermedades y un aumento significativo



en la supervivencia de los organismos. Se tiene un amplio intervalo de resultados positivos en la aplicación de fagos para humanos. Se han utilizado preparaciones del fago T4 administrada oralmente en voluntarios, los cuales no manifestaron signos de enfermedad alguna (Lomeli, 2016).

En años recientes la FDA (Food and Drug Administration) aprobó el uso de productos basados en bacteriófagos para el tratamiento de alimentos, dentro de los cuales se encuentran LISTEX™ P100 por parte de la EBI Food Safety y LMP 102 de OmniLytics Inc., los cuales son preparaciones de bacteriófagos específicos contra cepas de *Listeria monocytogenes*. El uso en humanos cuenta con pocas alternativas, como PhagoBioDerm™ producto de la empresa Intralytix y el producto denominado "Staphage Lysate" de los laboratorios Delmont en E.U.A., ambos específicos contra *S. aureus* (Segundo y col., 2010; Lomeli, 2016).

Fagoterapia en América latina y en el Ecuador

En América Latina no es ajena esta tecnología, existen numerosas investigaciones a lo largo del continente que demuestran el interés por incursionar en esta área, puesto que representa una oportunidad para aportar avances científico-tecnológicos al área fagoterapéutica, encontrándose investigaciones en países como Argentina (Dini, 2011; Tomat y col., 2011), Chile (Polanco y col., 2007; Borie 2008; Borie, 2014), México (Barajas, 2011; Makarov, 2011; Lomeli, 2016), Cuba (Campos y col., 2003), Colombia (Gaviria y col., 2012; Bedoya y col., 2013; Prada y col., 2015). Sin embargo, en Ecuador son muy pocos los estudios recientes sobre fagoterapia con interés biomédico, centrándose solo en el ámbito alimenticio y acuícola (Lomeli y col., 2014; Quiroz y col., 2016) lo que representa un área de oportunidad de desarrollo para la nación.

6.3 PALABRAS CLAVE

Biopreparados, enzibióticos, fagoterapia, infecciones bacterianas, diabetes, pie diabético, antibióticos, multirresistencia, apósitos.

7 DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROYECTO

7.1 DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA

Fase 1. Aislamiento de bacteriófagos. Se procederá según la metodología propuesta por Del Castillo y col., (2003), con modificaciones de Gaviria y col., (2012) y de Bedoya y col., (2013). Para ello, se realiza un pre-enriquecimiento de 50 mL de la muestra de agua a estudiar con 50 mL de caldo Tripticasa Soya (TSB) (Merck®, Alemania), y se incuba 18-24h a 35±2° C. Posteriormente, el cultivo se filtra en papel filtro con poros de 0,45µm de diámetro y se dispensan alícuotas de 1400µL en tubos eppendorf estériles, y se le adicionan 100µL de cloroformo (Merck®, Alemania). La solución se mezcla con vortex por 3min y se centrifuga a 10.000xg por 30min. El sobrenadante se transfiere a un tubo falcon estéril y se reserva brevemente. El precipitado se resuspende con 1,5mL de extracto de carne al 3% (HIMEDIA®, India) y se mezcla con vortex por 3min. Se centrifuga a 5.000xg por 10min, y el sobrenadante se transfiere de forma aséptica al tubo falcon reservado. Se procede a almacenar a -20°C por 24h. Pasado este periodo la suspensión se pasa por filtros con poros de 0,2µm de diámetro y se almacena a 4°C para su posterior utilización. El pre-enriquecimiento, las condiciones de almacenamiento y el filtrado de las muestras se modifican según el requerimiento de cada cepa de interés. En cada sitio de muestreo se tomara 1L (litros) de muestra (por quintuplicado; es decir, en total se trabajará con 5L), y el procedimiento para el aislamiento de bacteriófagos se repite 7 veces.

Fase 2. Detección de bacteriófagos. Se realiza mediante dilución en placa, esta técnica también conocida como vaciado o vertido en placa, o técnica de doble capa de agar, consiste en inocular una monocapa de agar con bacterias para ponerlas en contacto con los aislados virales, igualmente incorporados en dicha monocapa. Este método se utiliza para todos los ensayos y análisis a realizarse, por su alta sensibilidad tanto para el aislamiento de bacteriófagos como para la detección y cuantificación de las unidades formadoras de placas (UFP). Para ello, se mezcla una alícuota de 20µL



de los filtrados con 80µL de la cepa bacteriana de interés (hospedante) en fase logarítmica ($\approx 1,5 \times 10^8$ UFC/mL) y se agrega a 4mL de agar semisólido Hershey (8g/L de caldo TSB + 1g/L de glucosa + 5g/L de peptona + 5g/L de NaCl + 8g/L de agar) + 5mM MgSO₄, luego se mezcla y coloca sobre placas de petri con 16mL de agar previamente vertido y se incuba por 18-24h a 35±2°C (Segundo y col., 2010; Tomat y col., 2011).

Fase 3. Purificación de enzibióticos. Para la preparación de stocks de bacteriófagos se utiliza la técnica de doble capa de agar con una cantidad de bacteriófagos tal que, luego de incubar las placas de lisis (calvas) se toquen unas con otras. Después de incubarse a 37°C durante 24h, la mezcla de fago-hospedante se centrifuga a 10.000xg durante 10min y se filtra a través de un filtro de membrana de 0,2µm seguido de precipitación de las partículas del fago en presencia de NaCl 0,5M y polietilenglicol al 5%. 6000. El pellet obtenido se resuspende en 1mL de tampón SM (Tris-HCl 0,05M; NaCl 0,1M; MgSO₄•7H₂O, 2%; gelatina 0,01%). Este proceso se hace por triplicado con el objetivo de asegurar que se dispone de un clon fágico único (Spricigo, 2011). Finalmente, a las calvas obtenidas en la placa de Petri del último periodo de incubación, se les agrega 5mL de medio Hershey (8g/L de caldo nutritivo + 1g/L de glucosa + 5g/L de peptona + 5g/L de NaCl) + 5mM de MgSO₄ y se incuba a temperatura ambiente por 2h en agitación constante. Se recoge el líquido, se agrega 0,1mL de cloroformo y se centrifuga a 10.000xg durante 10min. Se toma el sobrenadante y se coloca una gota de cloroformo para guardar los stocks a -20°C (Tomat y col., 2011).

Fase 4. Ensayo de esterilidad. Se emplea el test de la gota para la recuperación de células viables presentes en la suspensión viral. Para ello se depositan 10µL del filtrado fágico en la superficie de placas de agar Tripticasa Soya (TSA) (Merck®, Alemania). Se espera a que las gotas se secan y se incuba la placa a 37°C durante 18h, tiempo tras el cual se observa la aparición o ausencia de UFC (Spricigo, 2011). El método es el descrito por la United States Pharmacopea (USP, 2003).

Fase 5. Caracterización de enzibióticos. Se realizan diversos análisis que incluyen Ensayos microbiológicos tales como: Titulación (Para conocer la concentración de los fagos en suspensión), Especificidad (para determinar el rango de hospedantes frente a las cepas controles que incluirán a las Gram positivas *Staphylococcus aureus subsp. aureus* ATCC®25923, *Staphylococcus aureus* ATCC®6538P, *Staphylococcus aureus* M03A-07, *Staphylococcus epidermidis* ATCC®12228, *Enterococcus faecalis* ATCC®29212, *Enterococcus faecalis* Q65 y *Micrococcus luteus* ATCC®9341, las estirpes Gram negativas *Escherichia coli* ATCC®35218, *Escherichia coli* BLEE (*Betalactamas A de Espectro Extendido*), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®10145, *Pseudomonas aeruginosa* MβL+, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, entre otras), Morfología de las placas de lisis (para la búsqueda de enzimas inhibitorias de biofilm), Parámetros del ciclo infectivo (para establecer la cinética de los biopreparados) y microscopía, así como también Ensayos fisicoquímicos como: estabilidad a solventes, a pH, temperatura, fuerza iónica, bioadhesión, agregación/dispersión, morfometría, y Ensayos moleculares como: extracción de material genómico, digestión con enzimas, amplificación de genes de interés y marcadores biológicos, y análisis bioestadísticos y computacionales, así como análisis de estabilidad biológica y microbiología predictiva para la determinación de caducidad y vida media de biopreparados.

Fase 6. Formulación de biopreparados. En vista de que los apósitos de alginato son ampliamente utilizados para la cicatrización de las úlceras del pie diabético se emplearán estrategias basadas en la elaboración de biocatalizadores inmovilizados de tipo enzimáticos, confinados o localizados en cierta región definida del espacio, con retención de su actividad catalítica y, si es necesario, de su viabilidad. Un soporte ideal utilizado para la inmovilización de biomasa lo representan los alginatos (los cuales pueden ser obtenidos a partir de cepas como *Pseudomonas aeruginosa*). Una vez obtenidos los alginatos por biosíntesis en biorreactores (fermentadores) luego de su determinación gravimétrica y caracterización microbiológica, fisicoquímica y mecánica respectiva, la inmovilización de los enzibióticos candidatos se realizará mezclando partes iguales de los fagos concentrados con una solución de alginato de sodio al 4%p/v. El alginato es poco soluble en agua, por lo tanto debe agitarse continuamente hasta obtener una mezcla homogénea. Posteriormente se elaborarán esferas o perlas de biomasa (3-4mm) agregando con ayuda de una jeringuilla un volumen de pasta de alginato-biomasa, dejando gotear suavemente sobre una solución de CaCl₂ al 1%p/v para formar



perlas de alginato de calcio. Las mismas permanecerán en la solución de CaCl_2 por una hora para garantizar su estabilidad mecánica.

7.2 HIPÓTESIS O PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Los biopreparados basados en enzibióticos procedentes de fuentes autóctonas pueden controlar agentes infecciosos de tipo bacterianos diversos incluyendo aquellos relacionados con infecciones del pie diabético?

7.3 OBJETIVOS

7.3.1 GENERAL

Desarrollar biopreparados basados en enzibióticos procedentes de fuentes autóctonas para el tratamiento del pie diabético y control de infecciones bacterianas diversas

7.3.2 ESPECÍFICOS

- 1- Obtener moléculas enzibióticas con actividad inhibitoria frente a patógenos de interés clínico a partir de muestras diversas de agua contaminada de la región.
- 2- Purificar las moléculas enzibióticas obtenidos a partir de muestras diversas de agua contaminada de la región.
- 3- Caracterizar las moléculas enzibióticas con actividad inhibitoria frente a patógenos de interés clínico mediante análisis microbiológicos y fisicoquímicos.
- 4- Formular un biopreparado basado en una matriz para la inmovilización de las moléculas enzibióticas.
- 5- Desarrollar diversos biopreparados basados en enzibióticos procedentes de fuentes autóctonas para el tratamiento del pie diabético y control de infecciones bacterianas diversas.
- 6- Realizar ensayos en animales de experimentación y en humanos, para comprobar la efectividad y los aspectos relacionados con la toxicidad de los mismos.

7.4 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Se han propuesto diferentes medidas alternativas o complementarias al tratamiento convencional de antibióticos para el control de microorganismos zoonóticos, incluyendo patógenos de interés clínico como *P. aeruginosa*. Entre estas destacan los virus que infectan exclusivamente a las bacterias (bacteriófagos) y sus derivados enzimáticos (enzibióticos) los cuales en conjunto son agentes antagónicos de bacterias patógenas que han sido propuestos ampliamente como potenciales agentes antimicrobianos. Esta estrategia es muy prometedora dado que los enzibióticos causan la lisis (destrucción) de las células bacterianas (específicamente los fagos de ciclo lítico). Los fagos pueden ser considerados como una de las mejores opciones de medida complementaria a los métodos actuales de biocontrol de patógenos debido a que se trata de componentes biológicos, no tóxicos, específicos de huésped y de bajo costo. Adicionalmente, no causan alteraciones en el ambiente, los alimentos y la microbiota del ser humano (Sklar y Joerger, 2001; Toro y col., 2005; Atterbury y col., 2007; Filho y col., 2007; Borie y col., 2008).

Su aplicabilidad y factibilidad está dada debido a que los bacteriófagos son los sistemas biológicos más abundantes en la naturaleza, se han aislado de todos los ambientes explorados y se estima que en nuestro planeta debe haber del orden de 10^{31} fagos, por lo que resultan un recurso inagotable y muy diverso (Hendrix y col., 2000). Su ubicuidad se debe a que los fagos proliferan en los ambientes que colonizan sus huéspedes bacterianos, debido a que necesitan de su maquinaria celular para multiplicarse lo que los hace específicos y de allí radica su interés y aplicabilidad (Hendrix y col., 1999).



La tecnología denominada fagoterapia (uso de fagos líticos o enzibióticos para el tratamiento de infecciones bacterianas) ha sido empleada exitosamente desde 1917, y la comercialización exitosa de fagos terapéuticos para tratar infecciones bacterianas en humanos comenzó en la década del 40 del siglo pasado en Francia y en los Estados Unidos. En la actualidad varias compañías en Alemania, producen grandes cantidades de preparaciones a base de fagos. La terapia con fagos floreció en la antigua Unión Soviética, donde estos permanecieron como una terapia estándar del sistema de salud; aun cuando el uso de los antibióticos estaba en su esplendor en el oeste. De hecho las preparaciones de fagos se usaron en la terapia, profilaxis o el diagnóstico de infecciones bacterianas como disentería, diarreas, fiebre tifoidea, infecciones sépticas-purulentas relacionadas con quemaduras, inflamación de órganos y heridas (Pimienta, 2013).

7.5 RESULTADOS ESPERADOS

Al finalizar el proyecto en cuestión se espera poder disponer de todos los elementos necesarios para formular suspensiones asépticas de tipo enzibióticas que permitan a partir de ellas desarrollar biopreparados diversos tanto líquidos como basados en apósitos impregnados con enzibióticos obtenidos de fuentes nacionales y poder así evaluar su actividad antimicrobiana sobre bacterias de elevado interés clínico para el Ecuador. Se espera también asentar las bases de una tecnología y de los procesos de investigación y desarrollo de esta alternativa para responder a problemáticas de salud pública nacional, permitiendo instaurar una nueva línea de investigación y desarrollo de biopreparados de tipo enzibióticos, la cual con una visión responsable, innovadora, ética-reflexiva y con sentido de pertenencia, podría generar bienes y servicios tangibles para la sociedad Ecuatoriana promoviendo la producción nacional y la generación de políticas públicas para el sector salud que incluirían la formación de talento para la continuidad del desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas derivadas. Dejando entre dicho, que se dispondría de prototipos de alta calidad y especificidad, inocuos y listos para atender la necesidad del creciente número de pacientes que son afectados por un cada vez más creciente número de infecciones multiresistentes a los antibióticos, especialmente en pacientes con sistemas inmunológicos afectados y con enfermedades de base como diabetes.

7.6 ASPECTOS BIOÉTICOS Y SOCIALES

Aún se necesitan muchos datos farmacológicos rigurosos con respecto al empleo terapéutico de los fagos, así como controles toxicológicos, para que se pueda proponer su uso más generalizado en los países occidentales, sin embargo, los fagos han sido administrados por varias vías por ejemplo oral, tópica, intravenosa, intrapleurales, utilizando títulos desde 10^5 hasta 10^{11} , sin reportes de complicaciones serias asociadas con su uso. En Georgia, el centro Tbilisi, fundado por d'Herelle y Eliava ha sido el productor de fagos, en Polonia el Instituto Hirzfeld es el que ha proporcionado datos importantes sobre el tratamiento de más de 5500 casos de infecciones bacterianas supurativas (enfisemas, peritonitis, osteomielitis, y otras) en humanos. La mayor parte de las cuales fueron casos crónicos. Los fagos utilizados para el tratamiento de estas infecciones, se administraron por vía oral, previo tratamiento de los pacientes con antiácidos y gelatina, para proteger a los fagos de la acidez gástrica y posteriormente se comprobaba que los fagos llegaban a torrente sanguíneo, en este trabajo los investigadores Polacos reportaron que el 90% de los pacientes tratados, se recuperó satisfactoriamente cesando la supuración y cerrándose las heridas y las fístulas. En Polonia, un estudio aportó nuevos datos que demostraban la efectividad de la fagoterapia, en su estudio, 372 personas con infecciones causadas por *Staphylococcus*, de los que 151, además tenían alguna otra infección, tras la administración de fagos se encontró que: se obtuvo un 100% de efectividad en el tratamiento de infecciones gastrointestinales, sin embargo, en el caso de úlceras varicosas se logró eliminar la infección en el 75% de los pacientes; se determinó además, que en personas mayores de 60 años la respuesta al tratamiento era menor que en gente más joven, sin embargo al combinar la fagoterapia con los antibióticos, la respuesta en estas personas se incrementó considerablemente (García y López, 2002; Segundo y col., 2010).

Este proyecto no contempla realizar análisis en seres humanos y tampoco su implementación directa en el transcurso del mismo. Sin embargo, finalizada todas las fases de experimentación



requeridas para su culminación el proyecto permitiría al estado tener elementos y herramientas alternativas para abordar de ser necesario aquellas infecciones multiresistentes o que generen complicaciones en pacientes con sistemas inmunológicos afectados y con enfermedades de base como diabetes de la sociedad Ecuatoriana que no respondan a los tratamientos convencionales, por lo que esta investigación atiende al panorama crítico ya visible en el Ecuador y pronosticado por la OMS, fomentando el desarrollo de innovadores, eficaces y autóctonos tratamientos para enfermedades de interés nacional, contribuyendo también con la concientización y sociabilización del conocimiento para vincular a la ciudadanía con la importancia y correcto uso de la tecnología desarrollada.

8 IMPACTO DEL PROYECTO

8.1 IMPACTO LEGAL, SOCIAL, TÉCNICO Y/O ECONÓMICO

El proyecto plantea una estrategia prometedora hacia el objetivo de la búsqueda de tratamientos más efectivos y específicos para controlar microorganismos causantes de infecciones, con un bajo costo, una menor toxicidad y frente a los cuales no se hayan desarrollado aun mecanismos de resistencia, para ello se plantea emplear compuestos basados en virus que infectan y destruyen exclusivamente a las bacterias, denominados enzibióticos. Estos son agentes inhibitorios que han sido ampliamente descritos como potenciales nuevos agentes antimicrobianos. La aplicabilidad de esta tecnología está dada debido a que los enzibióticos son abundantes en la naturaleza por lo que resultan un recurso inagotable. Su ubicuidad se debe a que estos virus solo destruyen a bacterias, lo que las hace específicas y de allí radica su interés y aplicabilidad.

Desde el ámbito Socio-político. El proyecto permitiría abordar aquellas infecciones padecidas por sectores de la sociedad Ecuatoriana que se ven afectados por esta problemática cada vez más creciente y que no se proyecta a disminuir, compitiendo y contrarrestando el monopolio de las industrias farmacéuticas internacionales, por lo que esta investigación atiende al panorama mencionado, fomentando en el estado una política de desarrollo de innovadores, eficaces y autóctonos tratamientos para enfermedades de interés nacional, contribuyendo también con la concientización y sociabilización del conocimiento para vincular a la ciudadanía con la importancia y correcto uso de la tecnología desarrollada.

Desde el ámbito Socio-productivo. Finalizada la fase experimental de investigación y desarrollo de los biopreparados enzibióticos autóctonos se espera desarrollar un prototipo basado en una matriz o apósito experimental impregnado con la solución a base de enzibióticos obtenidos de fuentes nacionales y poder así mediante análisis microbiológicos y fisicoquímicos, evaluar su actividad antibiótica sobre bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, y poder proponer una alternativa para el tratamiento de enfermedades causadas por este tipo de patógenos en pacientes con sistemas inmunológicos afectados y con enfermedades de base como diabetes. Promoviendo de esta manera el desarrollo productivo en la nación.

Desde el punto de vista Técnico. Culminado los ensayos se espera formular soluciones asépticas que permitan a partir de ellas desarrollar prototipos basados en matrices o apósitos impregnados con la solución a base de enzibióticos obtenidos de fuentes nacionales y poder así evaluar su actividad antibiótica sobre bacterias diversas. De esta forma no solo se garantizaría la investigación y desarrollo de alternativas que respondan a problemáticas de salud pública nacional, sino que el estado permitiría instaurar una nueva línea de investigación y desarrollo de biofármacos a base de enzibióticos en la universidad, la cual con una visión responsable, innovadora, ética-reflexiva y con sentido de pertenencia, coordinaría para generar bienes y servicios tangibles para la sociedad promoviendo la producción nacional y la generación de políticas públicas para el sector salud que incluirían la formación de talento para la continuidad del desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas.



8.2 IMPACTO AMBIENTAL

Una de las grandes ventajas que tiene esta tecnología es que puede ser elaborada a partir de fuentes autóctonas que representan de hecho fuentes de contaminación y funcionan incluso de reservorios de agentes infecciosos, como lo son los cuerpos de agua contaminados o las aguas residuales domésticas, debido a que es a partir de estas fuentes que pueden incluso ser obtenidos los precursores para la obtención de los biopreparados basados en enzibióticos. Tras diversos protocolos de purificación esta tecnología obtiene moléculas de alto interés biotecnológico convirtiendo un problema ambiental muy común incluso a nivel mundial, en una fuente inagotable de recursos. En este sentido, más que ser una tecnología o un proyecto que repercuta negativamente o que tenga algún impacto ambiental por el contrario, atiende una problemática ambiental. Incluso resulta una tecnología tan inocua para el ser humano y amigable con el ambiente, que ha sido empleada en Europa para el saneamiento de cuerpos de agua.

9 DIFUSIÓN DE RESULTADOS

9.1 EFECTOS MULTIPLICADORES

Al finalizar el proyecto los ensayos se garantizaría la puesta a punto de los procesos destinados a la investigación y desarrollo de alternativas que respondan a problemáticas de salud pública de pertinencia social, además se asentarían las bases para la creación de una nueva línea de investigación y desarrollo de biofármacos a base de enzibióticos en el Ecuador, pudiendo de esta forma poder competir con las investigaciones que van en marcha en el continente y el mundo. Desarrollando de esta forma nuevas metodologías, procesos o técnicas aplicables a un problema cada vez más creciente a nivel mundial, del cual el Ecuador no está exento, que son las infecciones multirresistencia a los antibióticos, que afectan poblaciones muy susceptibles como los inmunocomprometidos y diabéticos, este proyecto con una visión responsable, innovadora, ética-reflexiva y con sentido de pertenencia, permitirá no solo generar bienes y servicios tangibles para la sociedad promoviendo la producción nacional y la generación de políticas públicas para el sector salud y universitario, que incluirían la formación de talento para la continuidad del desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas basadas en enzibióticos. Evitando quedarse rezagados no solo en avances tecnológicos sino en estrategias de atención primaria en salud pública. De hecho, es importante destacar que se insertaría en los países que en Occidente han incrementado considerablemente las investigaciones en fagos, previendo un futuro inmediato incierto en el tratamiento de infecciones, incluso han surgido industrias dedicadas a investigar a cerca del uso terapéutico de los bacteriófagos aprobadas por la FDA (Food and Drug Administration) (García y López, 2002; Segundo y col., 2010).

9.2 TRANSFERENCIA DE RESULTADOS

Los productos basados en enzibióticos, al ser de origen biológicos, tienden a no ser patentables, de hecho ni la USP (United States Pharmacopeia), ni la FDA (Food and Drug Administration) tiene un apartado exclusivo para especificar los requerimientos que debe cumplir un producto farmacéutico a base de bacteriófagos. Sin embargo, las normas para el control de calidad que las compañías internacionales siguen para el desarrollo de este tipo de productos biológicos son las mismas a nivel mundial (USP, 2003; USP, 2007; FDA, 2009; Prada y col., 2015).

Esto es importante aclararlo, puesto que al ser cada formulación única y específica, cada empresa puede siempre realizar su propia y única preparación, por lo que no se corren riesgos de plagio, en gran parte porque cualquier variación en alguna de las etapas del proceso o incluso la obtención de una cepa comercial no tratada bajo las mismas condiciones de propagación pueden comprometer la conservación de clones fágicos únicos lo que desencadenaría en una formulación nuevamente distinta. En lo que respecta a salvaguardar los derechos de propiedad intelectual, nos centraríamos



esencialmente en los protocolos y métodos optimizados para la obtención rápida y purificación de los biopreparados.

Los resultados de las investigaciones derivadas de cada fase de los ensayos sería publicados en revista científicas arbitradas internacionales, además de la participación en congresos nacionales e internacionales y la organización de conferencias y talleres para la sociabilización y difusión de los resultados, con la intención de sensibilizar y educar a especialistas en centros asistenciales y a la sociedad sobre esta alternativa.

10 PLANIFICACIÓN Y FINANCIAMIENTO

10.1 FACILIDADES DE TRABAJO

Los compuestos innovadores llamados enzibióticos con aplicación terapéutica pueden ser obtenidos de forma ilimitada del ambiente a partir de muestras de agua residual o suelo. Para ello se colectaran y trasladaran al Laboratorio las muestras para ser pre-tratadas, procesadas, purificadas y almacenadas para elaborar los compuestos autóctonos con un interés biomédico.

Culminados los ensayos se espera formular soluciones asépticas que permitan a partir de ellas desarrollar un prototipo experimental impregnado con la solución a base de enzibióticos obtenidos de fuentes nacionales y poder así evaluar su actividad antibiótica sobre bacterias. De esta forma no solo se garantizaría la investigación y desarrollo de alternativas que respondan a problemáticas de salud pública nacional, sino que el estado permitiría instaurar una nueva línea de investigación y desarrollo de biofármacos en la ciudad universitaria, la cual con una visión responsable, innovadora, ética-reflexiva y con sentido de pertenencia, coordinaría para generar bienes y servicios tangibles para la sociedad promoviendo la producción nacional y la generación de políticas públicas para el sector salud que incluirían la formación de talento para la continuidad del desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas.

El desarrollo de este proyecto será posible gracias a que la Universidad Católica de Cuenca tiene a disposición el laboratorio de Bioquímica y Microbiología, el cual cuenta con la infraestructura y equipos necesarios para abordar este proyecto. Los insumos (algunos equipos, reactivos y materiales) a adquirir con este proyecto completarían los requerimientos para la ejecución de esta primera fase.

Adicionalmente se cuenta con la colaboración de varios laboratorios de la Universidad del Zulia en Venezuela: Laboratorio de Genética y Biología Molecular, Laboratorio de Microbiología General, Laboratorio de Microbiología Industrial y del Petróleo, y Laboratorio de Citogenética, los cuales cuentan con la infraestructura adecuada y poseen los materiales, instrumentos y equipos necesarios para el desarrollo de dicho trabajo. Se cuenta con la participación de investigadores de esta universidad, en específico, se cuenta con la asesoría del Dr. Aleivi Pérez, y del M.Sc. Lenín González quienes forman parte del personal docente y de investigación del Departamento de Biología de la Facultad Experimental de Ciencias, y presentan vasta experiencia en el área de Microbiología, Genética y Biología molecular bacteriana.

Por otro lado, se cuenta con la participación del centro de investigación y tecnología de materiales (CITeMA), perteneciente al IVIC (Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas), y con la asesoría del Dr. Ysafas Alvarado, y jefe y fundador del CITeMA, quien posee experiencia en el área química. Y finalmente, se dispone de material bibliográfico actualizado sobre el tema de estudio actualizado.

10.2 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Anexo I: CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES Y RESPONSABILIDADES.



10.3 PRESUPUESTO Y PROGRAMACIÓN FINANCIERA

Anexo II 1: DETALLE DE PRESUPUESTO.

Anexo II 2: PRESUPUESTO CONDENSADO.

Anexo II 3: PRESUPUESTO POR FUENTE DE FINANCIAMIENTO.

11 BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS CIENTÍFICAS CITADAS

- Ackermann, H. 2001. Frequency of morphological phage descriptions in the year 2000. Archives of virology, 146(5), 843-857.
- Ackermann, H. 2011. Bacteriophage taxonomy. Microbiology Australia, 32(2), 90-94.
- Alemayehu, D., Casey, P., McAuliffe, O., Guinane, C., Martin, J., Shanahan, F., Coffey, A., Ross, P., Hill, C. 2012. Bacteriophages MR299-2 and NH-4 Can Eliminate *Pseudomonas aeruginosa* in the Murine Lung and on Cystic Fibrosis Lung Airway Cells. MBio, 3(2), e00029-12.
- Barajas, D. 2011. Efectos de la conversión lisogénica sobre la fisiología y virulencia de *Vibrio parahaemolyticus*. Doctoral dissertation, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. 81pp.
- Bedoya, L., Bustamante, A., Jurado, A., Niño, C., Zambrano, C., Vergel, Z. A., Portilla, L., Navia, D., Gaviria, A., Albornoz, G. 2013. Aislamiento y detección de bacteriófagos específicos para *Pseudomonas sp*; obtenidos a partir de muestras de tierra. GYMOL. Universidad Del Quindío. 29p.
- Borie, C., Albala, I., Sanchez, L. Sanchez, S. Ramirez, C. Navarro, A. Morales, J. Retmales, J., Roberson, J. 2008. Bacteriophage treatment reduces *Salmonella* colonization of infected chickens. Avian diseases, 52(1), 64-67.
- Borie, C., Robeson, J., Galarce, N. 2014. Lytic bacteriophages in Veterinary Medicine: a therapeutic option against bacterial pathogens?. Archivos de medicina veterinaria, 46(2), 167-179.
- Campos, J., Martínez, E., Suzarte, E., Marrero, K., Rodríguez, B., Silva, Y., Ledón, T., Fando, R. 2003. Aislamiento y caracterización de vcp1, un nuevo fago filamentoso de *Vibrio cholerae* O139. Revista CENIC Ciencias Biológicas, 34(2), 1-7.
- Del Castillo, C., Gómez, A., Noé, M. 2003. Manual de laboratorio. Prácticas de virología. FMVZ-UNAM, México DF.
- Dini, C. 2011. Aislamiento y caracterización molecular de bacteriófagos de bacterias enteropatógenas para biocontrol de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Exactas. 142pp.
- Filho, F., Higgins, P., Higgins, E., Gaona, G., Wolfenden, D., Tellez, G., Hargis, M. 2007. Ability of bacteriophages isolated from different sources to reduce *Salmonella enterica* serovar Enteritidis *in vitro* and *in vivo*. Poultry science, 86(9), 1904-1909.
- Food and Drug Administration (FDA, Food and Drug Administration). 2009. HHS. Code of Federal Regulations Title 21, 172.785.
- García, E., López, R. 2002. Los bacteriófagos y sus productos génicos como agentes antimicrobianos. Revista Española de Quimioterapia, 15(4), 306-312.
- García, P., Martínez, B., Rodríguez, A., Rodríguez, A. 2010. Endolisinas Fágicas: Nuevos bioconservantes para alimentos. CTC Alimentación, (43), 9-14.
- Gaviria, A., González, M., Castaño, O. 2012. Técnica para aislamiento de bacteriófagos específicos para *E. coli* DH5α a partir de aguas residuales. Revista MVZ Córdoba, 17(1), 2852-2860.



- Goyal, S. 2007. Viruses in foods. Springer Science & Business Media. p. xvii, New York. 101-119 pp.
- Guttman, B., Raya, R., Kutter, E. 2005. Chapter 3: Basic phage biology. En: Kutter, E. y A. Sulakvelidze (eds). CRC Press. New York. Bacteriophages: Biology and Applications, 4.
- Hendrix, W., Smith, C., Burns, N., Ford, E., Hatfull, F. 1999. Evolutionary relationships among diverse bacteriophages and prophages: all the world's a phage. Proceedings of the National Academy of Sciences, 96(5), 2192-2197.
- Hendrix, W., Lawrence, G., Hatfull, F., Casjens, S. 2000. The origins and ongoing evolution of viruses. Trends in microbiology, 8(11), 504-508.
- Lomelí O., S. Martínez. 2014. Phage therapy against *Vibrio parahaemolyticus* infection in the whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae. Aquaculture, 434, 208-211.
- Lomelí, O. 2016. La fagoterapia como estrategia para reducir la mortalidad por vibriosis en larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Doctoral dissertation, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. 116pp.
- Makarov, R. 2011. Vibriofagos en el cultivo larvario del camarón y su relación con la incidencia y virulencia de *Vibrio*. Doctoral dissertation, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. 159pp.
- Pimienta, E. 2013. Tratamiento con bacteriófagos como una alternativa antimicrobiana potencial. Revista CENIC Ciencias Biológicas, 44(2), 1-7.
- Polanco, B., Venegas, N., Camus, R., Chong, S., Moreno, A., González, C., Pereira, S. 2007. Biocontrol de *Salmonella* en medicina veterinaria mediante el uso de bacteriófagos. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Chile, Proyecto FONDECYT. 21pp.
- Prada, C., Holguin, A., González, A., Vives, M. 2015. Fagoterapia, alternativa para el control de las infecciones bacterianas. Perspectivas en Colombia. Universitas Scientiarum, 20(1), 43-59.
- Proenca, D. 2009. Estudo da actividade de lisinas codificadas por bacteriófagos que infectan *Enterococcus* sp (Doctoral dissertation, FCT-UNL). 79p.
- Quiroz, E., Recalde, J., Arias, M., Seqqat, R., Vinueza, C., Ayala, L. 2016. Isolation of Lytic Bacteriophages for Nanobiocontrol of Pathogenic and Antibiotic Resistant *Salmonella* Present in Poultry in Ecuador. Biology and Medicine, 8(3), 1.
- Reardon, S. 2014. Microbiology Phage therapy gets revitalized. Nature, 510(7503), 15-16.
- Segundo, A., Hernández, E., López, O., Torres, O. 2010. Los bacteriófagos como una alternativa en el tratamiento de enfermedades infecciosas Bacterianas (Fagoterapia). Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 41(3), 17-26.
- Sklar, B., Joerger, R. 2001. Attempts to utilize bacteriophage to combat *Salmonella enterica* serovar Enteritidis infection in chickens. Journal of Food Safety, 21(1), 15-29.
- Spricigo, D. 2011. La desinfección basada en bacteriófagos como herramienta de biocontrol de *Salmonella* en alimentos. PhD thesis. Universitat Autònoma de Barcelona, España. 181pp. Disponible en: <https://www.educacion.gob.es/teseo/mostrarRef.do?ref=947598>
- Tomat, D., Aquili, V., Quiberoni, A., Balagué, C. 2011. Efecto del biocontrol fágico sobre cepas de *Escherichia coli* productoras de toxina shiga en productos cárnicos. Revista médica de rosario, 77(2), 16-23.
- Toro, H., Price, B., McKee, S., Hoerr, J., Krehling, J., Perdue, M., Bauermeister, L. 2005. Use of bacteriophages in combination with competitive exclusion to reduce *Salmonella* from infected chickens. Avian diseases, 49(1), 118-124.
- United States Pharmacopeia (USP). 2003. 26 NF-21 (Suplemento 2), Sterility Test, 71:1686-1690. Disponible en: <http://www.usp.org/usp-nf>



UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE CUENCA
COMUNIDAD EDUCATIVA AL SERVICIO DEL PUEBLO

United States Pharmacopeia (USP). 2007. 30th Edition. Monograph 1041. Disponible en:
<http://www.usp.org/usp-nf>

Young, R., Gill, J. 2015. Phage therapy redux -What is to be done?. Science, 350(6265), 1163-1164.



12 DECLARACIÓN FINAL

El equipo de investigadores, representado por el Director del Proyecto, y la Entidad Postulante Principal, a través de su Representante, 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 UCACUE de cualquier acción legal que se derive por este 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 las autoridades competentes en la UCACUE.

- Que este proyecto no se ha presentado en ninguna otra institución pública o privada, para el financiamiento del presupuesto solicitado a la UCACUE. El incumplimiento de este acuerdo será causal para que el proyecto no sea financiado o para la terminación anticipada unilateral del convenio a firmar con la UCACUE.

- De otorgarse financiamiento por la UCACUE para la ejecución del proyecto, aceptamos que los bienes adquiridos con estos fondos permanecerán bajo la responsabilidad de la entidad postulante durante la ejecución del proyecto, pero la UCACUE 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 UCACUE 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 de la UCACUE o compartidos con la entidad postulante, la(s) instituciones que compartieron la investigación y el equipo de investigadores, según los términos definidos en el respectivo convenio específico.

Fecha: Cuenca, 17 de septiembre de 2018

Nombre: LUIS MONCAYO MOLINA

CI: 0300885670

DIRECTOR DEL PROYECTO

Nombre: ALEIVI E. PEREZ BRICEÑO

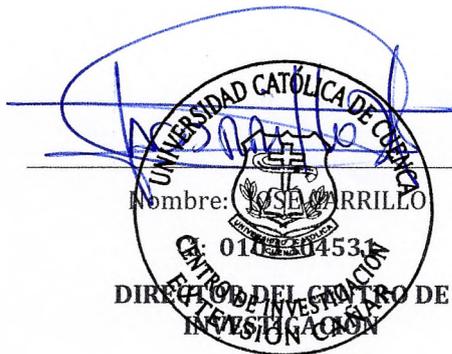
CI: 9.143.151

INSTITUCIÓN CO-EJECUTORA

Nombre: PATRICIA RODRÍGUEZ PAÑORA

CI: 0302302583

CODIRECTOR DEL PROYECTO



Nombre: JOSE CARRILLO

CI: 0102504531

DIRECTOR DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN



ANEXOS

NOTA: Los tres Anexos al MODELO PARA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DE LA UCACUE constan en un archivo de formato MS-Excel con el título "ANEXOS PRESENTACION DE PROYECTOS". Una vez que los Anexos hayan sido completados en el archivo Excel, debe imprimirlos y adjuntarlos al FORMATO DE PRESENTACION DE PROYECTOS.

ANEXO I: CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES Y RESPPONSABILIDADES

ANEXO II-1: DETALLE DEL PRESUPUESTO

ANEXO II-2: PRESUPUESTO CONDENSADO

ANEXO II-3: PRESUPUESTO POR FUENTE DE FINANCIAMIENTO



ANEXO I		CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES Y RESPONSABILIDADES												INVESTIGADOR / EQUIPO DE INVESTIGACIÓN	DESCRIPCIÓN PRECISA DEL APOORTE
No.	ACTIVIDADES	MESES													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
	Objetivo Específico 1														
1	Actividad 1.1. Revisión bibliográfica	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Aislamiento de bacteriófagos
2	Actividad 1.2. Aislamiento de bacteriófagos	■	■	■										Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Aislamiento de bacteriófagos
	Objetivo Específico 2														
3	Actividad 2.1. Detección de bacteriófagos	■	■	■										Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Detección de bacteriófagos
	Objetivo Específico 3														
4	Actividad 3.1. Técnica doble capa agar			■	■									Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Purificación de enzibióticos
5	Actividad 3.2. Mezcla con cepas de interés			■	■									Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Purificación de enzibióticos
6	Actividad 3.3 Filtración - resuspensión			■	■									Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Purificación de enzibióticos
7	Actividad 3.4. Stocks			■	■									Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Purificación de enzibióticos
	Objetivo Específico 4														
8	Actividad 4.1. Ensayo de esterilidad			■	■									Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Comprobación esterilidad
	Objetivo Específico 5														
9	Actividad 5.1. Ensayos microbiológicos					■	■							Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Caracterización de enzibióticos
10	Actividad 5.2. Ensayos fisicoquímicos					■	■							Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Caracterización de enzibióticos
11	Actividad 5.3. Ensayos moleculares							■	■					Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Caracterización de enzibióticos
12	Actividad 5.4. Estabilidad biológica y microbiología predictiva							■	■					Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Caracterización de enzibióticos
13	Actividad 5.5. Análisis bioestadísticos y computacionales									■	■			Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Caracterización de enzibióticos
	Objetivo Específico 6														
14	Actividad 6.1. Biosíntesis de alginato								■	■	■			Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Formulación de biopreparados
15	Actividad 6.2. Inmovilización de enzibióticos								■	■	■			Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Formulación de biopreparados
16	Actividad 6.3. Pruebas de calidad									■	■	■		Luis M, Lenin G, Carla L, Ysaías A; Aleivi P	Formulación de biopreparados



ANEXO II **1. DETALLE DE PRESUPUESTO**

1. RECURSOS HUMANOS

Gastos en personal Técnico propuesto, los cuales prestarán sus servicios profesionales para el cumplimiento de actividades específicas en el Proyecto (Director del Proyecto, Investigadores Principales, Investigadores de Apoyo, Tesistas etc...). Incluir los propios de la institución y otros si fuese necesario.

No.	NOMBRE	FUNCIÓN	HORAS / SEMANA	COSTO MENSUAL	COSTO ANUAL
1	Grado académico: **Magister Nombre: **LUIS SALVADOR MONCAYO MOLINA Especialización: ** Bioquímica y Microbiología Cargo en el proyecto: DIRECTOR DE PROYECTO (Director del proyecto / Director Subrogante) Institución a la que pertenece: **UCACUE	Investigador en Microbiología y director del proyecto.	4	\$ 218.00	\$ 2,616.00
2	Grado académico: ** Magister Nombre: ** PATRICIA RODRIGUEZ PAÑORA Especialización: ** Enfermería, Cargo en el proyecto: CO-DIRECTOR (Investigador / Técnico) Modo de Contratación: Honorarios Profesionales	Investigador y co-director del proyecto	4	\$ 436.00	\$ 5,232.00
3	Grado académico: **Doctor (Ph.D) Nombre: **YSAIAS JOSE ALVARADO Especialización: **Química Cargo en el proyecto: INVESTIGADOR (Investigador / Técnico)	Investigador en química	15	\$ 200.00	\$ 2,400.00
4	Grado académico: **Magister Scientiarum Nombre: **LENIN ANDRÉS GONZÁLEZ PAZ Especialización: **Microbiología Cargo en el proyecto: INVESTIGADOR Modo de Contratación: Honorarios Profesionales	Investigador en Genética, Biología Molecular y Microbiología	15	\$ 200.00	\$ 2,400.00
5	Grado académico: **Doctor en Ciencias Nombre: **ALEIVI ELIEZER PEREZ BRICEÑO Especialización: **Gestión Tecnológica, Microbiología Cargo en el proyecto: INVESTIGADOR Modo de Contratación: Honorarios Profesionales	Investigador en Microbiología y Biología Molecular	15	\$ 200.00	\$ 2,400.00
6	Grado académico: **Licenciada en Biología Nombre: **CARLA ANDREINA LOSSADA GONZALEZ Especialización: **Estudiante de post-grado en Microbiología. Cargo en el proyecto: AUXILIAR DE INVESTIGACIÓN Modo de Contratación: Honorarios Profesionales	Auxiliar de investigación en Genética, Biología Molecular y Microbiología	15	\$ 170.00	\$ 2,040.00
SUBTOTAL			53	\$ 1,424.00	\$ 17,088.00

2. VIAJES TÉCNICOS.

Gastos para cubrir la movilización y traslado (Viáticos, Subsistencias, pasajes al interior del País) del personal técnico asignado y determinado para el proyecto, de conformidad con las disposiciones legales vigentes.

ANEXO II		1. DETALLE DE PRESUPUESTO			
No.	ACTIVIDAD	LUGAR	DURACIÓN	NO. PERSONAS	COSTO (USD)
1	Cuenca, entrenamiento personal (2), 4 días	Cuenca, Cañar, Ecuador	4 días	2	\$ 3,000.00
2	Cuenca, entrenamiento personal (2), 4 días	Cuenca, Cañar, Ecuador	4 días	2	\$ 3,000.00
3					
4					
5					
SUBTOTAL			0	4	\$ 6,000.00

3. CAPACITACIÓN

Gastos necesarios para la capacitación en el campo de la investigación vinculada al proyecto. En esta parte debe indicarse la clase de capacitación como los cursos, seminarios, talleres, pasantías que son parte del proyecto.

No.	CLASE DE CAPACITACIÓN	LUGAR	DURACIÓN	No. PERSONAS	COSTO (USD)
3	CURSOS, SEMINARIOS				
4	Taller de Capacitación en Fagoterapia	Cuenca, Cañar, Ecuador	2 días	6 personas	\$ 1,200.00
5	OTROS				
SUBTOTAL			0	0	\$ 1,200.00

4. EQUIPOS

Gastos necesarios en la adquisición de Equipos (Equipos: de Laboratorio; para construcción de prototipos de equipos y maquinarias; componentes para construcción de planta piloto; de desarrollo experimental; Maquinaria o componentes para mejoras en tecnología de procesos) indispensables y esenciales para el desarrollo y consecución de los objetivos del proyecto. Describir las características técnicas fundamentales de los equipos estrictamente necesarios para ejecutar las actividades del proyecto y su precio. No debe existir duplicación de equipos existentes.

No.	EQUIPOS	PRECIO (USD)
1	Nombre: Micropipeta 0.5 - 10µL Descripción Corta: Empleada para succionar y transferir pequeños volúmenes de líquidos y permitir su manejo en las distintas técnicas analíticas. Cantidad: 2	\$ 150.00

ANEXO II		1. DETALLE DE PRESUPUESTO	
2	Nombre: Micropipeta 10 - 100µL Descripción Corta: Empleada para succionar y transferir pequeños volúmenes de líquidos y permitir su manejo en las distintas técnicas analíticas. Cantidad: 2	\$	150.00
3	Nombre: Micropipeta 100 - 1000µL Descripción Corta: Empleada para succionar y transferir pequeños volúmenes de líquidos y permitir su manejo en las distintas técnicas analíticas. Cantidad: 2	\$	150.00
4	Nombre: Nevera Descripción Corta: Consiste en un armario aislado térmicamente, con un compartimento principal en el que se mantiene una temperatura de entre 2 y 6 °C y también, frecuentemente, un compartimento extra utilizado para congelación (a -18 °C). Cantidad: 3	\$	1,500.00
5	Nombre: Refrigerador de -20°C Descripción Corta: Equipo empleado para el mantenimiento de las muestras y reactivos que así lo requieran. Cantidad: 1	\$	1,500.00
7	Nombre: Incubadora. Descripción Corta: Crea un ambiente con la humedad y temperatura adecuados para el crecimiento o reproducción de seres vivos. Cantidad: 1	\$	5,000.00
8	Nombre: Autoclave Descripción Corta: Permite trabajar a alta presión para realizar una reacción industrial, una cocción o una esterilización con vapor de agua. Cantidad: 2	\$	4,000.00
9	Nombre: Microcentrífuga Descripción Corta: Máquina que pone en rotación una muestra para acelerar la decantación o la sedimentación de sus componentes o fases, según su densidad. Cantidad: 1	\$	500.00
10	Nombre: Centrifuga Descripción Corta: Máquina que pone en rotación una muestra para acelerar la decantación o la sedimentación de sus componentes o fases, según su densidad. Cantidad: 1	\$	500.00

ANEXO II		1. DETALLE DE PRESUPUESTO	
11	Nombre: Balanza analítica Descripción Corta: Balanza de laboratorio diseñada para medir pequeñas masas, en un principio de un rango menor del miligramo. Cantidad: 1	\$	500.00
12	Nombre: Plancha de calentamiento con agitación. Descripción Corta: Equipo que consiste en una barra magnética y una superficie de teflón para calentar medios de cultivo. Cantidad: 2	\$	200.00
13	Nombre: Horno estufa Descripción Corta: Equipo que alcanza altas temperaturas para la esterilización de material de vidrio. Cantidad: 1	\$	1,000.00
15	Nombre: Destilador de agua. Descripción Corta: Es un instrumento de laboratorio que se usa para purificar el agua corriente, mediante procesos controlados de vaporización y enfriamiento. Cantidad: 1	\$	600.00
16	Nombre: Mechero. Descripción Corta: Instrumento utilizado en los laboratorios científicos para calentar, esterilizar o proceder a la combustión de muestras o reactivos químicos. Cantidad: 8	\$	40.00
SUBTOTAL		\$	15,790.00

11790

5. RECURSOS BIBLIOGRÁFICOS Y SOFTWARE		
<p><i>Gastos necesarios en la adquisición de Bibliografía especializada, software y licencias de uso considerados como indispensables y esencial para el desarrollo y consecución de los objetivos del proyecto. Señalar los Libros especializados, Publicaciones periódicas y software necesarios para la ejecución del proyecto, indique sus respectivos precios.</i></p>		
No.	LIBROS / REVISTAS / BASES DE DATOS	PRECIO (USD)

ANEXO II		1. DETALLE DE PRESUPUESTO	
1	Nombre: ** Descripción Corta: ** Cantidad: **		
2	Nombre: ** Descripción Corta: ** Cantidad: **		
3	Nombre: ** Descripción Corta: ** Cantidad: **		
4	Nombre: ** Descripción Corta: ** Cantidad: **		
5	Nombre: ** Descripción Corta: ** Cantidad: **		
SUBTOTAL		\$	-

6. MATERIALES Y SUMINISTROS		
<p><i>Gastos necesarios en la adquisición de Bienes de Uso y Consumo (Materiales de vidrio para laboratorio, Reactivos Químicos e insumos, Suministros para actividades acordes al objeto del proyecto) considerados como indispensables para el desarrollo y consecución de los objetivos del proyecto.</i></p>		
No.	MATERIAL / SUMINISTRO	PRECIO (USD)
1	Nombre: Puntas amarillas x1000pcs Cantidad: 5	\$ 50.00
2	Nombre: Puntas azules x1000pcs Cantidad: 5	\$ 50.00

ANEXO II		1. DETALLE DE PRESUPUESTO	
3	Nombre: Puntas blancas x1000pcs Cantidad: 5	\$	50.00
4	Nombre: Eppendorf 1.5mL pack x 500 Cantidad: 5	\$	62.00
5	Nombre: Eppendorf 0.5mL Pack x 100 Cantidad: 5	\$	100.00
8	Nombre: Erlenmeyers 250mL Cantidad: 5	\$	50.00
9	Nombre: Erlenmeyers 500mL Cantidad: 5	\$	50.00
10	Nombre: Erlenmeyers 1L Cantidad: 5	\$	50.00
11	Nombre: Cilindro graduado 10 mL Cantidad: 3	\$	30.00
12	Nombre: Cilindro graduado 100mL Cantidad: 3	\$	30.00
13	Nombre: Cilindro graduado 1L Cantidad: 3	\$	30.00
14	Nombre: Placas de Petri Pack x5 Cantidad: 100	\$	2,000.00
15	Nombre: Asas de platino Cantidad: 3	\$	90.00
16	Nombre: Vaso precipitado 200mL Cantidad: 3	\$	30.00
17	Nombre: Vaso precipitado 500 mL Cantidad: 3	\$	30.00
18	Nombre: Vaso precipitado 1L Cantidad: 3	\$	90.00
19	Nombre: Tubos de ensayo Pack x 10 Cantidad: 100	\$	1,000.00
20	Nombre: Cestas para autoclave Cantidad: 5	\$	150.00
21	Nombre: Pinzas Cantidad: 3	\$	30.00
22	Nombre: Espátula de Drigalsky Cantidad: 3	\$	30.00
23	Nombre: Microespátulas Cantidad: 2	\$	40.00
26	Nombre: Cloroformo Cantidad: 10L	\$	400.00
27	Nombre: Etanol Cantidad: 10L	\$	200.00
28	Nombre: Metanol Cantidad: 5 galones	\$	100.00
29	Nombre: Fenol Cantidad: 5L	\$	450.00

ANEXO II		1. DETALLE DE PRESUPUESTO	
30	Nombre: Alcohol isoamílico Cantidad: 5L	\$	450.00
31	Nombre: Caldo TSB Cantidad: 10Kg	\$	1,000.00
32	Nombre: Agar-Agar Cantidad: 5Kg	\$	1,150.00
33	Nombre: Cloruro de sodio Cantidad: 5Kg	\$	150.00
34	Nombre: Agar nutriente Cantidad: 5Kg	\$	1,300.00
35	Nombre: Medios selectivos y diferenciales Cantidad: 5 envases	\$	1,000.00
36	Nombre: Sulfato de magnesio Cantidad: 2Kg	\$	400.00
37	Nombre: Caldo Nutriente Cantidad: 2Kg	\$	440.00
SUBTOTAL		\$	11,082.00

7. COMUNICACIÓN Y DIFUSIÓN DE RESULTADOS		
<p><i>Gastos necesarios para la adquisición de Bienes de Uso y Servicios (por Eventos relacionados a la exposición y difusión de resultados, publicaciones y divulgación de Temas y Resultados alcanzado en el proyecto), considerados como indispensables para la puesta en conocimiento de los resultados y avances del proyecto.</i></p>		
No.	ACTIVIDAD	PRECIO (USD)
1	Nombre del evento: **Simposio sobre Diseño de sgARNs en patologías infecciosas Número de asistentes: **2 Lugar: **Cuenca, Cañar	\$ 1,800.00
2	Nombre de la Publicación: ** Tipo: ** Tiraje: **	
3	Nombre de la Publicación: ** Tipo: ** Tiraje: **	
4	Nombre de la Publicación: ** Tipo: ** Tiraje: **	
5	Nombre de la Publicación: ** Tipo: ** Tiraje: **	
SUBTOTAL		\$ 1,800.00

8. SUBCONTRATOS Y SERVICIOS

Gastos necesarios para cubrir servicios de Investigación y Exámenes Profesionales (Análisis clínicos, químicos, físicos, biológicos), Pruebas Especializadas, Asesoría Especializada (Consultorías), estudio y diseño especializado, Servicios especializados para la capacitación y adiestramiento al personal participante en el proyecto, servicios de Apoyo no especializado Temporal (Jornaleros), considerados como indispensables y esencial para el desarrollo y consecución de los objetivos del proyecto.

No.	ACTIVIDAD	PRECIO (USD)
1	Nombre: Descripción Corta del Servicio: Tipo:	
2	Nombre: ** Descripción Corta del Servicio: ** Tipo: **	
3	Nombre: ** Descripción Corta del Servicio: ** Tipo: **	
4	Nombre: ** Descripción Corta del Servicio: ** Tipo: **	
5	Nombre: ** Descripción Corta del Servicio: ** Tipo: **	
SUBTOTAL		\$ -

9. OTRO TIPO DE GASTOS

No.	ACTIVIDAD	PRECIO (USD)
1	Papelería e impresiones	\$ 150.00
2	Productos de limpieza	\$ 38.00
3		
4		
5		

ANEXO II	1. DETALLE DE PRESUPUESTO	
SUBTOTAL	\$	188.00



ANEXO II 2. PRESUPUESTO CONDENSADO

No	ACTIVIDADES	PROGRAMACION DE INVERSIÓN PRESUPUESTARIA																TOTAL CALCULADO	TOTAL DETALLE
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
1	Remuneración recursos humanos	\$ 1,424.00	\$ 1,424.00	\$ 1,424.00	\$ 1,424.00	\$ 1,424.00	\$ 1,424.00	\$ 1,424.00	\$ 1,424.00	\$ 1,424.00	\$ 1,424.00	\$ 1,424.00	\$ 1,424.00					\$ 17,088.00	\$ 17,088.00
2	Viajes Técnicos					\$ 3,000.00			\$ 3,000.00									\$ 6,000.00	\$ 6,000.00
3	Capacitación				\$ 1,200.00													\$ 1,200.00	\$ 1,200.00
4	Equipos		\$ 450.00	\$ 3,000.00	\$ 9,000.00	\$ 1,000.00	\$ 1,700.00	\$ 640.00										\$ 15,790.00	\$ 15,790.00
5	Recursos Bibliográficos y Software																	\$ -	\$ -
6	Materiales y Suministros				\$ 4,042.00		\$ 7,040.00											\$ 11,082.00	\$ 11,082.00
7	Transferencia de resultados								\$ 1,800.00									\$ 1,800.00	\$ 1,800.00
8	Subcontratos y servicios																	\$ -	\$ -
9	Otro tipo de gastos		\$ 38.00			\$ 150.00												\$ 188.00	\$ 188.00
TOTALES		\$ 1,424.00	\$ 1,912.00	\$ 4,424.00	\$ 15,666.00	\$ 5,574.00	\$ 10,164.00	\$ 2,064.00	\$ 6,224.00	\$ 1,424.00	\$ 1,424.00	\$ 1,424.00	\$ 1,424.00	\$ -	\$ -	\$ -	\$ -	\$ 53,148.00	\$ 53,148.00



ANEXO II **3. PRESUPUESTO POR FUENTE DE FINANCIAMIENTO**

No.	RUBROS	APORTE UCACUE	APORTE EXTERNO	TOTAL
		PRESUPUESTO (\$)	PRESUPUESTO (\$)	PRESUPUESTO
1	Remuneración recursos humanos	\$ 7,848.00	\$ 9,240.00	\$ 17,088.00
2	Viajes Técnicos	\$ 6,000.00		\$ 6,000.00
3	Capacitación	\$ 1,200.00		\$ 1,200.00
4	Equipos	\$ 15,790.00	\$ 111,950.00	\$ 127,740.00
5	Recursos Bibliográficos y Software.			\$ -
6	Materiales y Suministros	\$ 11,082.00	\$ 17,900.00	\$ 28,982.00
7	Transferencia de resultados	\$ 1,800.00		\$ 1,800.00
8	Subcontratos y servicios			\$ -
9	Otro tipo de gastos	\$ 188.00	\$ 150.00	\$ 338.00
Total		\$ 43,908.00	\$ 139,240.00	\$ 183,148.00
Porcentajes		12%	88%	