



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Ciencia de los Alimentos

**Genoma completo de un patógeno del género
Clostridium aislado de conservas y análisis
bioinformático comparativo con secuencias de
importancia en inocuidad alimentaria**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Ciencia y
Tecnología de los Alimentos

AUTOR

Daisy María OBISPO ACHALLMA

Lima, Perú

2018



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Obispo D. Genoma completo de un patógeno del género *Clostridium* aislado de conservas y análisis bioinformático comparativo con secuencias de importancia en inocuidad alimentaria. [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Ciencia de los Alimentos; 2018.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

133

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

"Genoma completo de un patógeno del género *Clostridium* aislado de conservas y análisis bioinformático comparativo con secuencias de importancia en inocuidad alimentaria"

Que presenta la Bachiller en Ciencia y Tecnología de los Alimentos:

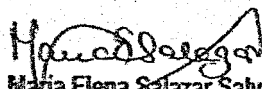
DAISY MARÍA OBISPO ACHALLMA

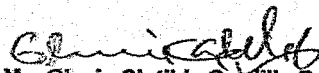
Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la SUSTENTACIÓN de la TESIS, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

Dieciocho (18) SOBRESALIENTE

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Título Profesional de Licenciado (a) en Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 16 de marzo de 2018.


Dra. María Elena Salazar Salvatierra
Presidente

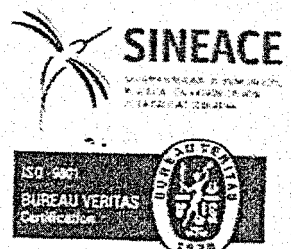

Mg. Gloria Clotilde Gordillo Rocha
Miembro


Q.F. Benedicta Carmen López Flores
Miembro


Mg. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
Miembro

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico - Lima 1 - Perú
Teléfonos: (511) 328-4737 / (511) 679-7000 anexo 4826 Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>



RESUMEN

La secuenciación del genoma completo (WGS) y las tecnologías de secuenciamiento de próxima generación (NGS), viene mostrando grandes avances en el abordaje de detección de patógenos alimentarios, proporcionando una resolución mejorada para caracterizar los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) y fortalecer el campo de la inocuidad alimentaria a nivel mundial. Por tal motivo, el objetivo de la investigación fue evaluar el genoma completo de un patógeno alimentario nativo del género *Clostridium* y el análisis bioinformático comparativo con secuencias de importancia en inocuidad alimentaria. Inicialmente, se aisló el ADN genómico a partir de conservas alimenticias y de una cepa nativa (cultivo positivo para *Clostridium sp*). En esta investigación, se aplicó la técnica PCR para la identificación molecular de las muestras, luego se secuenció el genoma de la cepa nativa de *Clostridium sp* con MiSeq Illumina, con una cobertura de 90X. Los *reads* fueron ensamblados con SPAdes y los *contigs* fueron filtrados con las herramientas MegaBLAST, MaxBin y AmphoraNet. La verificación de calidad final se realizó con Quast, la anotación del genoma con Prokka y PGAAP-NCBI y la construcción del mapa genómico circular con CGView. El tamaño del genoma fue de 3.966.781pb y 28,06% de contenido GC. La anotación del genoma con Prokka evidenció 3522 genes que codifican proteínas, 54 de ARNt y 8 ARNr, y con PGAAP-NCBI evidenció 3734 genes que codifican proteínas, 54 de ARNt y 8 ARNr. El genoma anotado posee un 99% de identidad para la especie de *Clostridium Botulinum*, con las secuencias nucleotídicas de las cepas de referencia CDC_67071 (GCA_001886775.1) y CDC_1632 (GCA_001889325.1). Además, se identificó al gen *bontB* (productor de neurotoxina tipo B y causante del botulismo alimentario), con un porcentaje de identidad de secuencias nucleotídicas en 68,73% con las cepas CDC_67071 y CDC_1632 de *C. botulinum*. En general, el genoma evaluado se identificó como *C. botulinum* y se determinó el gen *bontB* productor de toxina tipo B, lo que indica la gran utilidad de las tecnologías NGS y la bioinformática en el campo de la inocuidad alimentaria del país.

Palabras clave: *Clostridium*, WGS, NGS, bioinformática, inocuidad alimentaria.

ABSTRACT

Whole genome sequencing (WGS) and next generation sequencing (NGS) technologies have shown great advances in the approach of detection of food pathogens, providing an improved resolution to characterize the outbreaks of foodborne diseases (ETA) and strengthen the field of food safety worldwide. *For this reason*, the objective of the research was to evaluate the complete genome of a native food pathogen of the *Clostridium* genus and perform comparative bioinformatics analysis with sequences of importance in food safety. Initially, genomic DNA was isolated from canned food and of a native strain (positive culture for *Clostridium* sp.). In this investigation, the PCR technique was applied for the molecular identification of the samples, then the genome of the native *Clostridium* sp strain was sequenced using MiSeq Illumina, with a genomic coverage of 90X. The reads were assembled with SPAdes and the *contigs* were filtered with MegaBLAST, MaxBin and AmphoraNet tools. The final quality verification was performed with Quast, the annotation of the genome with Prokka and PGAAP-NCBI and the construction of the circular genomic map with CGView. The genome size is 3.966.781bp and 28,06% of GC contents. The annotation of the genome with Prokka showed 3522 genes encoding proteins, 54 of tRNA and 8 rRNA, and with PGAAP-NCBI evidenced 3734 genes that encode proteins, 54 of tRNA and 8 rRNA. The annotated genome has 99% identity for the *Clostridium Botulinum* species, with the nucleotide sequences of the reference strains CDC_67071 (GCA_001886775.1) and CDC_1632 (GCA_001889325.1). In addition, the gene *bontB* (producer of type B neurotoxin and cause of food botulism) was identified, with a percent identity of nucleotide sequences in 68.73% with strains CDC_67071 and CDC_1632 of *C. botulinum*. In general, the genome evaluated was identified as *C. botulinum* and the gene *bontB* that codes for the type B toxin was determined, which indicates the great utility of NGS technologies and bioinformatics in the field of food safety in the country.

Key words: *Clostridium*, WGS, NGS, bioinformatics, food safety.