



Universidad Autónoma de Coahuila
Facultad de Ciencias Biológicas
Maestría en Ingeniería Bioquímica

Actividad de beta-lactamasa extraída de *Pseudomonas aeruginosa* para su uso en biosensores

Presenta:

Dalia Patricia González Guerrero

Tesis presentada como requisito para obtener el título de
MAESTRO EN INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Torreón, Coahuila

Junio de 2019



Universidad Autónoma de Coahuila
Facultad de Ciencias Biológicas
Maestría en Ingeniería Bioquímica

Actividad beta-lactamasa extraída de *Pseudomonas aeruginosa* para su uso en biosensores

Dirección de Tesis

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Erika Flores Loyola', written over a horizontal line.

Dra. Erika Flores Loyola

DIRECTOR

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'María Guadalupe Pineda Escareño', written over a horizontal line.

Dra. María Guadalupe Pineda Escareño

CO-DIRECTOR



Universidad Autónoma de Coahuila
Facultad de Ciencias Biológicas
Maestría en Ingeniería Bioquímica

Actividad beta-lactamasa extraída de *Pseudomonas aeruginosa* para su uso en biosensores

Comité de Sinodales

Una firma manuscrita en tinta negra sobre una línea horizontal.

Dr. Lucio Rodríguez Sifuentes

Presidente

Una firma manuscrita en tinta negra sobre una línea horizontal.

Dra. Miriam Paulina Luévanos Escareño

Secretario

Una firma manuscrita en tinta negra sobre una línea horizontal.

Dr. Ayerim Yedid Hernández Almanza

Vocal

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

1.1 Resumen

La presencia de antibióticos en la industria ganadera se ha convertido en un problema de salud mundial debido al uso indiscriminado de ellos. A pesar de que las regularizaciones de las concentraciones mínimas de antibióticos se han normado, la industria busca métodos de cuantificación de dichos fármacos de bajo costo y tiempo de respuesta corto, lo cual puede ser satisfecho a través del uso de biosensores enzimáticos. En el presente trabajo se indujo la expresión de enzimas β -lactamasas, como mecanismo de resistencia a antibióticos, en una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* cultivada en presencia de ceftriaxona. Los resultados mostraron que este microorganismo sintetiza esta enzima intracelular y extracelularmente, por lo que se utilizó el método de ultrasonido para la disrupción celular, el cual se optimizó mediante la metodología de superficie de respuesta (RSM). Se determinaron las condiciones de reacción de la enzima como pH, cofactores, concentración de biomasa y concentración de sustrato utilizando ceftriaxona. El extracto enzimático liofilizado fue soportado en un electrodo de grafito para realizar el sensado de antibióticos por voltametría cíclica demostrando que el extracto crudo de beta-lactamasas obtenidas de *Pseudomonas aeruginosa* genera respuesta voltamétrica en presencia de diferentes concentraciones de ceftriaxona por lo que puede ser utilizada en la preparación de biosensores de este antibiótico.

Palabras claves: ultrasonido, RSM, biosensores electroquímicos, beta-lactamasas, antibióticos beta-lactámicos

1.2 Abstract

The presence of antibiotics in the livestock industry has become a global health problem due to the indiscriminate use of them. Although regularizations of minimum concentrations of antibiotics have been regulated, the industry is looking for quantifying methods of low cost and quick response, which can be satisfied through the use of enzymatic biosensors. In this work, beta-lactamases expression as a mechanism of antibiotics resistance was induced in a strain of *Pseudomonas aeruginosa* grown in the presence of ceftriaxone. The results showed that this microorganism synthesizes this enzyme intracellular and extracellularly, so the optimization of the ultrasound method for cell disruption was carried out by Response Surface Methodology (RSM). Also the reaction conditions of the enzyme such as pH, cofactors, biomass concentration and substrate concentration using ceftriaxone were determined. The freeze-dried enzyme extract was supported in a graphite electrode to perform the sensing of antibiotics by cyclic voltammetry demonstrating that the crude extract obtained from *Pseudomonas aeruginosa*, generates a voltammetric response in presence of different concentrations of ceftriaxone, so it can be used in the preparation of biosensors for beta lactam antibiotics.

Keywords: Ultrasound, RSM, electrochemical biosensors, beta-lactamases, beta-lactam antibiotics.