

EVALUACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS PARA LA DIFERENCIACIÓN DE CEPAS DE *ENTEROCOCCUS* DE ORIGEN ALIMENTARIO

Carlos Mendoza, Cindy Adriana Estrada y Maricarmen Quirasco, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. Depto. de Alimentos y Biotecnología, Ciudad de México, 04510, quirabma@unam.mx

Palabras clave: *Enterococcus*, citolisina, enterocina A.

Introducción. La diferenciación de cepas de *Enterococcus* de origen alimentario con respecto a las patógenas oportunistas es de suma importancia para la industria alimentaria. En el presente trabajo se planteó la búsqueda de diversos marcadores genéticos que permitieran distinguir entre las cepas de *Enterococcus* de origen alimentario de las de origen nosocomial. Los marcadores propuestos están relacionados con la producción de la enterocina A, bacteriocina que contribuye en la bioconservación de los alimentos (1), así como con la producción de citolisina, que provoca hemólisis en células eucariontes al ser infectadas y es el principal factor de virulencia de las cepas nosocomiales (2).

El objetivo de este trabajo fue establecer marcadores genéticos para diferenciar entre cepas aisladas de un queso artesanal mexicano, con cepas de aislados clínicos de las especies *E. faecium* y *E. faecalis*.

Metodología. Se analizaron 14 cepas de *E. faecium* y 11 de *E. faecalis*, todas aisladas de un queso artesanal, madurado, mexicano. En ellas, se evaluaron cuatro marcadores genéticos mediante PCR punto final: *entA*, *cylA*, *cylL_L* y *cylL_S*, así como la expresión de dichos genes por evaluación fenotípica: para el caso del marcador *entA* se concentró el sobrenadante de la fermentación en medio MRS por el método de adsorción-desorción, específico para bacteriocinas (3). Además, se analizó la capacidad de lisis en contra de *L. monocytogenes*, característica de la enterocina A (4), por medio de difusión en agar y se determinó el perfil proteínico por medio de un gel SDS-PAGE. La expresión de los marcadores *cylA*, *cylL_L* y *cylL_S*, se evaluó por cultivo de las cepas en agar sangre, para determinar el tipo de hemólisis que presentaban.

Resultados. La presencia de amplicones a partir de los genes marcadores se observó por electroforesis en geles de agarosa (**Fig. 1**). Para el caso de *cylA* y *cylL_L* se observó que ninguna de las cepas de alimentos presentó amplificación, sólo las cepas de aislados clínicos presentaron las bandas correspondientes. El 32% de las cepas evaluadas dieron positivo para *cylL_S* y 76 % para *entA*. La expresión de los genes *cylA*, *cylL_L* y *cylL_S*, que conduce a la producción de citolisina, se observó fenotípicamente a través de β hemólisis, sólo en las cepas de aislados clínicos. Las cepas de alimentos que tuvieron el gen *cylL_S* resultaron no-hemolíticas debido a que no

poseen la maquinaria completa para la producción de la citolisina.

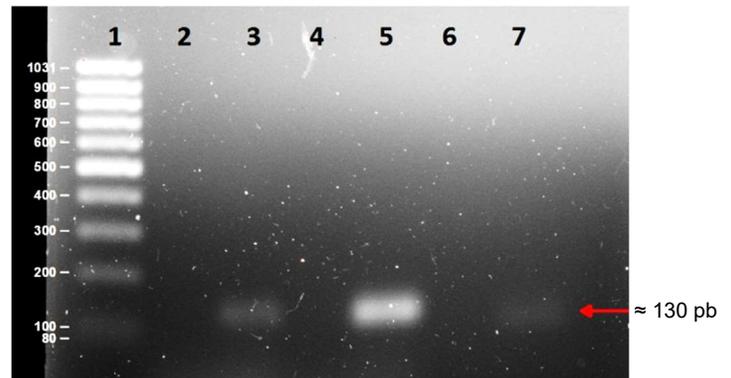


Figura 1. Evaluación de la presencia del gen *entA*. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, teñido con bromuro de etidio al 0.01%. Carril 1, marcador de peso GeneRuler Low Range (ThermoScientific); carriles 2-5, cepas de *E. faecium* A4-1, A4-2, A4-3, QD-2, respectivamente; carril 6, NTC; carril 7, *E. faecium* MXVK29 (control +).

En el análisis fenotípico de la enterocina A, además de la cepa *E. faecium* MXVK29, sólo la cepa *E. faecium* QD-2 presentó halo de inhibición, a pesar de que todas las cepas analizadas por difusión en agar habían presentado el gen. Habría que evaluar si éstas poseen la proteína correspondiente para su transporte hacia el exterior de la célula. La ausencia de transportador explicaría el fenotipo observado.

Conclusiones. Los genes correspondientes a la producción de citolisina, *cylA*, *cylL_L* y *cylL_S*, pueden ser utilizados como un marcador de diferenciación entre cepas de *E. faecalis* patógenas y de alimentos. Mientras que el gen para la producción de la bacteriocina, *entA*, no arrojó resultados concluyentes.

Agradecimientos. Al proyecto DGAPA PAPIIT IN222717 por el financiamiento y la beca otorgada y al PAIP-FQ, con clave 5000-9102.

Bibliografía.

- 1.-Rehaïem A., et al., (2010). *J Appl Environ Microbiol*, 108: 1685–1693.
- 2.- Tyme D., Martin J., Gilmore S., (2013). *Toxins*. 5: 895-911.
- 3.- Yang R., Johnson M., Ray B., (1992). *J Appl Environ Microbiol*. 58: 3355-3359.
- 4.- Álvarez-Cisneros Y., et al., (2016). *Lett Appl Microbiol*. 64: 171-176.

