

DETECCIÓN DE GENES DE LAS ENTERO-TOXINAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN QUESOS TIPO CHIHUAHUA POR PCR

Terrazas, L.P., Solano, Y., Siqueiros, T., Infante, R., Erosa G.E.
Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, División de Estudios de Posgrado.
Universidad Autónoma de Chihuahua, Ciudad Universitaria s/n. A.P. 1542-C. Fax: (614) 414-44-92.
gerosa@uach.mx

Palabras Clave: PCR, Staphylococcus aureus, Quesos

Introducción. Entre los microorganismos patógenos que se presentan con mayor frecuencia contaminando los quesos se encuentra el *Staphylococcus aureus*. Algunas cepas de este microorganismo tienen la capacidad de producir enterotoxinas que causan enfermedad al ser consumidas en los alimentos. Los métodos tradicionales para la identificación de las toxinas son tardados, laboriosos y algunas veces dan resultados erróneos, ya que dependen directamente de la cantidad de toxina presente. Se han reportado nuevos métodos de detección basados en la identificación de los genes que codifican para las toxinas con uso de la reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) mostrando resultados altamente específicos en tiempos cortos, pero la mayoría de estos estudios utiliza cepas aisladas para su análisis.

El objetivo de este trabajo es la utilización de PCR para la detección del gen del 16s ribosomal del *S. aureus* y los genes que codifican para las toxinas (A y C) en muestras de quesos regionales.

Metodología. Se tomaron muestras de quesos de distintas procedencias y se llevó a cabo el aislamiento de presuntas cepas de *Staphylococcus aureus*, de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-115-SSA1-1994) (1). Se escogieron algunas colonias características y se realizó un enriquecimiento en caldo de soya tripticaseína con extracto de levadura al 0.6% durante 24 horas a 37°C con agitación a 130 rpm.

Se procedió a la extracción de ADN (2) de las cepas aisladas, y en forma paralela se extrajo ADN directamente de las muestras. Se realizó PCR para la identificación de los genes que codifican para el 16s rRNA y las toxinas SEA y SEC (3,4,5). Se analizaron los productos amplificados por electroforesis en un gel de agarosa, se observaron las secuencias amplificadas bajo luz ultravioleta y finalmente se fotografiaron.

Resultados y discusión. Se logró detectar tanto el gen del 16s de *S. aureus*, como el gen de la toxina A, en todos los quesos analizados y en algunas de las cepas aisladas. Se secuenció el producto obtenido de la amplificación del gen del 16s de las cepas aisladas y se comparó con la secuencia publicada para la cepa control ATCC 25923, corroborando nuestros resultados.

Conclusión. Los quesos regionales analizados se encuentran contaminados con *S. aureus* y presentan el riesgo potencial de desarrollar toxinas en condiciones inadecuadas de manejo y almacenamiento. Estamos ofreciendo a los productores regionales, la ventaja de aplicar la tecnología molecular para mejorar la calidad microbiológica de los productos alimenticios, aumentando su competitividad.

Agradecimiento: Al laboratorio de investigación John Dalton. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Chihuahua.

Bibliografía.

1. Norma Oficial Mexicana, NOM-115-SSA-1994, Bienes y Servicios. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos. <http://www.ssa.gob.mx/nom/>
2. Acosta, C.H., Solís, L.Y., Siqueiros, T.S., Gastelum, M.G., Nevárez, G.V., Erosa, G. (2001). Detección de bacterias patógenas en productos lácteos por medio de reacción en cadena de la polimerasa. *Rev. Lat. de Microb.* 44. (1): 451.
3. Sharma, N. K., Rees, C. E., and Dodd, C. E. R. (2000). Development of a single-reaction multiplex PCR toxin-typing assay for *Staphylococcus aureus* strains. *Appl. Microbiol.* 66: 1347-1353.
4. Monday, S. R., and Bohach G. A. (1999). Use of Multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in *Staphylococcal* isolates. *J. Clin. Microbiol.* 37: 3411- 3414.
5. Wang, Sh, Chow, L-W. and Wu, M-J. (2002). Multiplex PCR for the Simultaneous Detection of the SEA, SEB, SEC, SED and SEE Genes of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus*. *J. Food and Drug Analysis.* 10 (3): 164-169 .