

## Determinación molecular de resistencia a meticilina en aislados de *Staphylococcus aureus*

Fernando David Montalvo-Sandoval<sup>a\*</sup>, Rosa María Martínez-Medina<sup>a</sup>, Yolanda Terán-Figueroa<sup>b</sup> y José Trinidad Pérez-Urizar<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Manuel Nava No.6 Zona Universitaria 78210, San Luis Potosí, México.

<sup>b</sup>Facultad de Enfermería y Nutrición, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Niño Artillero No.130 Zona Universitaria 78210, San Luis Potosí, México.

\*E-mail: fer.dam@outlook.com

**Palabras clave:** *S. aureus*, *mecA*, SARM

### Introducción

*Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram-positiva que constituye la causa principal de infecciones nosocomiales a nivel mundial y se encuentra asociado a una alta tasa de mortalidad y un rápido desarrollo de resistencia<sup>1</sup>.

El tratamiento que inicialmente se usó contra las infecciones por *S. aureus* fue la penicilina hasta que se detectó la aparición de cepas resistentes a los  $\beta$ -lactámicos. En 1960 fue introducida la meticilina, antibiótico resistente a la hidrólisis de las  $\beta$ -lactamasas, sin embargo, apenas un año después fue identificado por primera vez *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM). Dicha resistencia es conferida por el gen *mecA*, localizado en la isla genómica llamada casete cromosómico *mec* (SSCmec), que codifica la síntesis de una proteína de unión a penicilina (PBP2a) de baja afinidad por los betalactámicos.

Este proyecto identifica genotípicamente las cepas de *Staphylococcus aureus* y determina la prevalencia meticilino resistente mediante la amplificación del gen *mecA*.

### Parte experimental

Se realizó un estudio de tipo transversal de junio a diciembre de 2016. Se recibieron 87 aislados de los cuales 68 correspondieron a *S. aureus* derivados de secreciones (60.29%), aspirados traqueales (19.12%), biopsia (11.76%), infecciones por inserción de catéter (5.88%) y exudados nasales (2.94%) provenientes del Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto".

Cada cultivo se sembró en agar Vogel-Johnson como prueba confirmatoria de la presencia de cepas de *S. aureus*, observándose colonias negras con halo amarillento.

La extracción de DNA se llevó a cabo por el método de ebullición o "boiling". Se tomaron 5 asadas del cultivo puro las cuales se transfirieron a un tubo Eppendorf con 500  $\mu$ L de agua estéril libre de nucleasas. Posteriormente se llevó a ebullición en baño María durante 15 min y después centrifugó a 14 000 rpm por 5 min a 4°C. Se recuperó el sobrenadante en un tubo Eppendorf estéril.

Las condiciones de amplificación para el gen *mecA*, así como las secuencias de oligos se estandarizaron para el presente estudio a partir de las publicadas por Paniagua Contreras, et al.<sup>2</sup> La amplificación del gen codificante para el 23S rRNA así como de los genes *clfA* y *spa* se utilizaron para la identificación de *S. aureus*. Adicional a lo anterior el gen *spa* (región X) se secuenció para tipificar las cepas con base en sus variaciones polimórficas.

Para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó una mezcla de 5  $\mu$ L de Red Load Taq Master Mix, 1  $\mu$ L de cada uno de los oligonucleótidos (forward y reverse), 2  $\mu$ L de muestra de DNA y se ajustó el volumen a 25  $\mu$ L con agua ultrapura

estéril (16  $\mu$ L). Como control positivo se utilizó la cepa ATCC 43300.

### Resultados y discusión

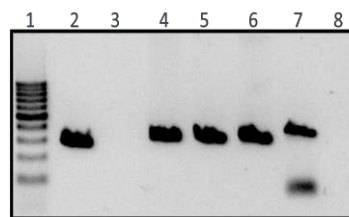


Figura 1. Productos de amplificación para gen *mecA* (~310 pb). (1) Marcador de peso molecular, (2) control positivo, (3) control negativo, (4-7) SARM, (8) SASM

Se identificó un total de 68 aislados como *S. aureus* mediante la amplificación de los genes constitutivos 23S rRNA, *clfA* y *spa* y el cultivo en el medio selectivo Vogel-Johnson. Del total, 19 dieron positivo para la amplificación del gen *mecA*, correspondientes a SARM.

La prevalencia de SARM fue de 27.94%, similar a la reportada con anterioridad en el mismo hospital (28.75%)<sup>3</sup> sin encontrarse un aumento en la misma.

### Conclusiones

El presente estudio determinó la resistencia a meticilina mediante PCR, encontrando una prevalencia sin resultados alarmantes. A pesar de lo anterior, la detección de SARM por métodos moleculares, adicional a las técnicas microbiológicas tradicionales, es altamente recomendable por su capacidad de detectar efectivamente aquellas cepas portadoras del gen.

### Agradecimientos

Al Fondo Mixto (FOMIX) CONACyT-SLP, por los recursos aportados para la realización de este trabajo bajo el proyecto número FMSLP-2014-02-250277.

### Referencias

1. Salem-Bekhit M. Phenotypic and genotypic characterization of nosocomial isolates of *Staphylococcus aureus* with reference to methicillin Resistance. Trop J Pharm Res. 2014;13(8):1239-1246.
2. Paniagua-Contreras G.; Sáinz-Espuñes T.; Monroy-Pérez E.; Rodríguez-Moctezuma JR.; Arenas-Aranda D.; Negrete-Abascal E.; et al. Virulence markers in *Staphylococcus aureus* strains isolated from hemodialysis catheters of mexican patients. Advances in Microbiology. 2012;(2):476-487.
3. Rivas-Rangel A.; González CE.; De Lira TM.; Flores SA.; Fragoso MLE. Pacientes de sexo masculino ¿Mayor susceptibilidad a infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina? Enf Inf Microbiol. 2013;34(2):50-53