



Aislamiento y caracterización de bacteriófagos de *Staphylococcus aureus* presentes en aguas residuales

María Vélez Brochero¹, Anthony Marimon Diaz¹, Brigitte Arevalo Trejos¹, Dayan Lozano Solano^{2*}, Antonio Acosta Hoyos².

¹ Estudiantes Microbiología, Universidad Simón Bolívar, Facultad de Ciencias Básicas y Biomédicas.

² Docente investigador de Unidad de Investigación en Genética y Biología Molecular, Universidad Simón Bolívar.

*Correspondencia: dlozano6@unisimonbolivar.edu.co

Resumen.

S. aureus es uno de los principales patógenos asociados a infección tanto en humanos como en animales, y un importante causante de Enfermedades de Transmisión alimentaria (ETAs). El estudio de los fagos y sus derivados en el control de infecciones es una alternativa viable para el control del patógeno en alimentos. Este trabajo tiene como objetivo aislar y caracterizar bacteriófagos de *Staphylococcus aureus* presentes en aguas residuales. **Materiales y métodos:** Los bacteriófagos de *S. aureus* fueron aislados, purificados para extracción de DNA y posteriores pruebas moleculares. Se realizó un análisis de restricción usando el genoma referencia del bacteriófago vB_SauS_BaqSau1, aislado previamente. Se realizó PCR para la identificación del dominio catalítico CHAP de las endolisinas. **Resultados:** Con este estudio, se logró aislar dos bacteriófagos de *S. aureus* de acuerdo con sus características macroscópicas. No se determinó que los dos bacteriófagos son genéticamente distintos mediante el análisis electroforético. Además, no se pudo determinar la presencia del dominio catalítico CHAP. Por medio de los análisis realizados se pudo establecer que efectivamente los fagos aislados corresponden a nuevos fagos de *S. aureus*. Las lisinas de los bacteriófagos al igual que otro de sus derivados son objeto de estudio para el control de infecciones y su uso en la industria alimentaria hace parte de los retos biotecnológicos actuales. Debido a que los primers fueron diseñados con base a un genoma de referencia, no se logró identificar el dominio catalítico CHAP, sin embargo, este resultado no descarta la presencia del dominio catalítico CHAP, puesto que las lisinas son proteínas estructurales de los fagos lo que demuestra la alta tasa de variabilidad de estos virus.

Palabras claves: PCR, Endolisina, Bacteriófago. (Fuentes: MeSH)

Referencias Bibliográficas.

1. Whitman W. Systematic Bacteriology. 3rd ed. New York, NY: Springer-Verlag New York; 2009.



2. Rita Costa A, Batistão DWF, Ribas RM, Sousa AM, Pereira MO, Botelho CM. *Staphylococcus aureus* virulence factors and disease. MicrobPathogStrategCombatthemSciTechnolEduc [Internet]. 2013 [citado el 28 de julio de 2018];702-10. Disponible en: <http://www.formatex.info/microbiology4/vol1/702-710.pdf>
3. SIVIGILA. Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública. Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Bogotá. 2007 - 2010 MPS. Ministerio de la Protección Social de Colombia. Sistema de Inspección, Vigilancia y Control de las Direcciones Territoriales de Salud (IVC) . 2010
4. Evaluación de riesgos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en alimentos preparados no industriales en Colombia. https://www.researchgate.net/publication/305805961_evaluacion_de_riesgos_de_staphylococcus_aureus_enterotoxigenico_en_alimentos_preparados_no_industriales_en_colombia
5. SIVIGILA. Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública. Laboratorio de salud público de Boyacá, intoxicación alimentaria, 2018.
6. Soto Varela Z, Pérez Lavalle L, Estrada Alvarado D. Bacteria causing of foodbornediseases: anoverview at Colombia. Salud Uninorte [Internet]. el 15 de enero de 2016;32(1):105-22. Disponible en: <http://rcientificas.uninorte.edu.co/index.php/salud/article/view/7333/8598>
7. Mercado M, Avila J, Rey M, Montoya M, Gamboa A, Carrascal AK, et al. Brotes por Salmonella spp., *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* asociados al consumo de pollo. Revisión sistemática de la literatura. Biomédica [Internet]. el 13 de marzo de 2012;32(3):375-85. Disponible en: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/697>
8. Drulis-Kawa Z, Majkowska-Skrobek G, Maciejewska B. Bacteriophages and phage-derived proteins--application approaches. CurrMedChem [Internet]. 2015;22(14):1757-73. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25666799>
9. Nocerino N. I batteriofagi: un valido strumento per un vaccinocontrol'infezione da *Staphylococcus aureus* [Internet]. 2011. Disponible en: http://www.fedo-old.unina.it/8507/1/Nunzia_Nocerino_XXIV.pdf
10. Smith HW, Huggins MB. Effectiveness of Phages in Treating Experimental Escherichia coli Diarrhoea in Calves, Piglets and Lambs. Microbiology [Internet]. el 1 de agosto de 1983;129(8):2659-75. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6355391>
11. Smith HW, Huggins MB. Successful Treatment of Experimental *Escherichia coli* Infections in Mice Using Phage: its General Superiority over Antibiotics. Microbiology [Internet]. el 1 de febrero de 1982;128(2):307-18. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7042903>
12. Jorquera D, Galarce N, Borie C. El desafío de controlar las enfermedades transmitidas por alimentos: bacteriófagos como una nueva herramienta biotecnológica. RevChilinfectología [Internet]. diciembre de 2015;32(6):678-88. Disponible en:



http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-0182015000700010&lng=en&nrm=iso&tlng=en

13. Jorquera D, Galarce N, Borie C. El desafío de controlar las enfermedades transmitidas por alimentos: bacteriófagos como una nueva herramienta biotecnológica. *RevChilInfectología* [Internet]. diciembre de 2015;32(6):678-88. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-0182015000700010&lng=en&nrm=iso&tlng=en

14. Gill JJ, Pacan JC, Carson ME, Leslie KE, Griffiths MW, Sabour PM. Efficacy and pharmacokinetics of bacteriophage therapy in treatment of subclinical *Staphylococcus aureus* mastitis in lactating dairy cattle. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. el 1 de septiembre de 2006;50(9):2912-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16940081>

15. Watanabe R, Matsumoto T, Sano G, Ishii Y, Tateda K, Sumiyama Y, et al. Efficacy of bacteriophage therapy against gut-derived sepsis caused by *Pseudomonas aeruginosa* in mice. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. febrero de 2007;51(2):446-52. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17116686>

16. Merrill CR, Biswas B, Carlton R, Jensen NC, Creed GJ, Zullo S, et al. Long-circulating bacteriophage as antibacterial agents. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. el 16 de abril de 1996;93(8):3188-92. Disponible en: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.93.8.3188>

17. García P, Martínez B, Rodríguez L, Ana Y, Centro R, De I, et al. Endolisinas fágicas: ¿Nuevos bioconservantes para alimentos? [Internet]. Vol. 43, CTC Alimentación. 2010. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/lorena_rodriguez-rubio/publication/262897276_endolisinas_fagicas_nuevos_bioconservantes_para_alimentos/links/00b7d5391c59865b38000000/endolisinas-fagicas-nuevos-bioconservantes-para-alimentos.pdf

18. Cecilia D. Aislamiento y caracterización molecular de bacteriófagos de bacterias enteropatógenas para biocontrol de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) [Internet]. 2011. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2686/Documento_completo.pdf?sequence=116

19. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. Departamento de Hidrobiología. M, Freer Bustamante E, Guzmán JC, Vargas JC. Hidrobiológica: [revista del Departamento de Hidrobiología]. [Internet]. Vol. 18, Hidrobiológica. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa; 2008. 7-23 p. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0188-88972015000100002&script=sci_arttext

20. Raya R, Piuri M. Bacteriofagos como modelo para el análisis de datos biológicos a gran escala. Universidad de Buenos Aires, Departamento de Química Biológica. 2016.

21. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* [Internet]. julio de 2012;9(7):671-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22930834>



22. Su MT, Venkatesh T V., Bodmer R. Large- and small-scale preparation of bacteriophage lysate and DNA. *Biotechniques* [Internet]. el 15 de julio de 1998;25(1):44-6. Disponible en: <https://www.future-science.com/doi/10.2144/98251bm08>
23. Organización Panamericana de la Salud. Diagnostico e investigación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos.
24. Fischetti VA. Bacteriophage endolysins: A novel anti-infective to control Gram-positive pathogens. *Int J Med Microbiol* [Internet]. el 1 de agosto de 2010;300(6):357-62. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1438422110000275>
25. Borysowski J, Weber-Dąbrowska B, Górski A. Bacteriophage endolysins as a novel class of antibacterial agents [Internet]. Vol. 231, *Experimental Biology and Medicine*. SAGE Publications Sage UK: London, England; 2006. p. 366-77. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/153537020623100402>
26. Campos J, Nuevo mecanismo de transmisión horizontal de los genes que codifican la toxina del cólera mediado por el fago filamentoso *vgjφ* en *Vibrio cholerae*. Departamento de Genética, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Playa, Apartado Postal 6414, Ciudad de La Habana, Cuba. 2005.
27. Gaviria A G, González de S M, Castaño O J. Técnica para aislamiento de bacteriófagos específicos para E.coli DH5α a partir de aguas residuales. *Rev MVZ Córdoba* [Internet]. 4 de enero de 2012 [citado el 18 de noviembre de 2018];17(1):2852. Disponible en: <http://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/revistamvz/article/view/253>
28. Erez Z, Steinberger-Levy I, Shamir M, Doron S, Stokar-Avihail A, Peleg Y, et al. Communication between viruses guides lysis-lysogeny decisions. *Nature* [Internet]. el 18 de enero de 2017;541(7638):488-93. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nature21049>
29. Ahmed A, Takeru K, Makoto F, Takashi Yamada. Lysogenic Conversion of the Phytopathogen *Ralstonia solanacearum* by the P2virus φRSY1. *Rev Frontiers* [Internet]. 14 November 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02212>
30. Dorscht J, Klumpp J, Biemann R, Schmelcher M, Born Y, Zimmer M, et al. Comparative genome analysis of *Listeria* bacteriophages reveals extensive mosaicism, programmed translational frameshifting, and a novel prophage insertion site. *J Bacteriol* [Internet]. 1 de diciembre de 2009;191(23):7206-15. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19783628>
31. Feiner R, Argov T, Rabinovich L, Sigal N, Borovok I, Herskovits AA. A new perspective on lysogeny: prophages as active regulatory switches of bacteria. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. el 1 de octubre de 2015;13(10):641-50. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nrmicro3527>



32. Schmelcher M, Donovan DM, Loessner MJ. Bacteriophage endolysins as novel antimicrobials. *Future Microbiol* [Internet]. octubre de 2012;7(10):1147-71. Disponible en: <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fmb.12.97>
33. Hatfull GF. Bacteriophage genomics [Internet]. Vol. 11, *Current Opinion in Microbiology*. NIH Public Access; 2008. p. 447-53. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18824125>
34. Labrie SJ, Samson JE, Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms [Internet]. Vol. 8, *Nature Reviews Microbiology*. Nature Publishing Group; 2010. p. 317-Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nrmicro2315>
35. Gómez M., Vives M. Bacteriófagos, virus de bacterias que curan infecciones. *Apuntes científicos uniandes*. Vol. 10. Diciembre del 2009 (citado el 25 de noviembre del 2015). Disponible en: <http://hipotesis.uniandes.edu.co/hipotesis/images/stories/ed10pdf/Bacteriofagos.pdf>