



Sahuayo, Michoacán, a 26 de junio de 2017

Asunto: reporte semestral

M.C. María de Jesús Guillermina Urbano Vidales
Directora de Superación Académica
PRODEP

PRESENTE

Por medio de este conducto reciba cordiales saludos, y a la vez aprovecho para hacerle llegar el reporte semestral del proyecto del Apoyo de fomento a la generación y aplicación innovadora del conocimiento, titulado “Aislamiento y caracterización de estafilococinas con efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus aureus* asociado a mastitis bovina”. Cabe señalar que este proyecto pertenece al “Apoyo a la Incorporación de Nuevos PTC” (folio UC-PTC-022).

El objetivo general del trabajo de investigación es obtener una colección de estafilococinas con efecto inhibitorio sobre *S. aureus* relacionado con mastitis bovina. Para ello el presente estudio se divide en objetivos particulares:

1. Identificar los aislamientos productores de sustancias antimicrobianas.

En cuanto al objetivo 1, se están realizando ensayos de antagonismo con 103 aislados de *S. aureus* y *Staphylococcus* sp. asociados a mastitis bovina de distintos hatos lecheros de Marcos Castellanos, Michoacán, para identificar aislados productores de sustancias antimicrobianas. Hasta el momento, se han evaluado 68% de los aislados bacterianos (Tabla 1, Figura 1). Los resultados obtenidos muestran que el aislado AMC42 produce sustancias antimicrobianas capaces de inhibir el crecimiento de, al menos, 8 aislamientos bacterianos (AMC3, AMC11, AMC12, AMC13, AMC14, AMC15, AMC23 y AMC37); mientras que el aislado AMC8, reduce el crecimiento de 6 aislamientos (AMC8, AMC12, AMC14, AMC19, AMC42 y AMC46).

Tabla 1. Ensayos de antagonismo de aislados bacterianos asociados a mastitis bovina.

Bacteria productora de sustancias antimicrobianas	Bacteria indicadora
AMC40, AMC42	AMC3
AMC8, AMC27, AMC33, AMC40, AMC48, AMC49, AMC51, AMC53, AMC55, AMC56, AMC60, AMC62, AMC67, AMC77, AMC80, AMC88, AMC92, AMC101	AMC5

AMC42	AMC11
AMC8, AMC42, AMC54	AMC12
AMC14, AMC42	AMC13
AMC8, AMC25, AMC40, AMC42, AMC48, AMC60, AMC65, AMC80, AMC77, AMC88	AMC14
AMC14, AMC40, AMC42	AMC15
AMC8, AMC22, AMC25, AMC27, AMC45, AMC48, AMC49, AMC51, AMC53, AMC55, AMC56, AMC58, AMC59, AMC60, AMC61, AMC62, AMC65, AMC67, AMC75, AMC76, AMC77, AMC80, AMC88	AMC19
AMC42	AMC23
AMC42, AMC109	AMC37
AMC8, AMC29, AMC40, AMC48, AMC49, AMC50, AMC51, AMC56, AMC58, AMC59, AMC60, AMC62, AMC65, AMC72, AMC74, AMC75, AMC76, AMC88, AMC102, AMC114	AMC42
AMC6, AMC7, AMC8, AMC14, AMC27, AMC29, AMC72, AMC74, AMC75, AMC88	AMC46
AMC21, AMC22, AMC23, AMC24, AMC31, AMC32, AMC33	AMC52

AMC: Aislado de Marcos Castellanos.

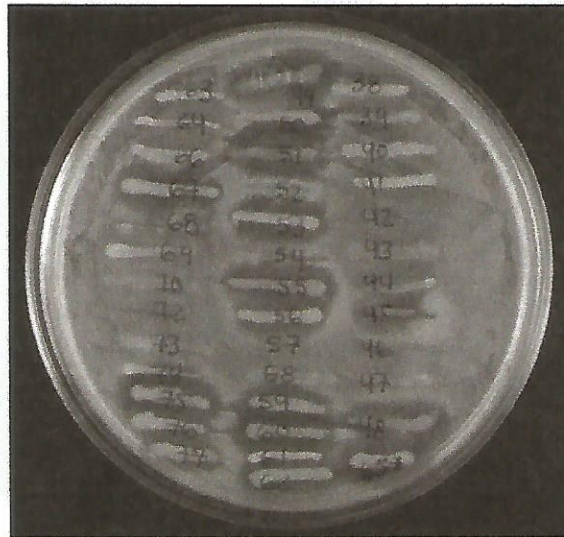


Figura 1. Ensayo de antagonismo del aislado AMC19 (bacteria indicadora) contra diferentes aislamientos bacterianos productores de sustancias antimicrobianas.

Al día de hoy, se ha cumplido con el 68% del objetivo 1.

2. Caracterizar las sustancias antimicrobianas (estafilococinas) mediante la determinación de su espectro de acción, así como el efecto del calor y de enzimas sobre su actividad.

Adicionalmente, se está evaluando la producción de sustancias antimicrobianas del aislado STA-28 (*Staphylococcus aureus* asociado a mastitis subclínica en un hato lechero de Morelia, Michoacán) (1). Se realizaron pruebas de antagonismo, de acuerdo a (2), contra un total de 54 aislados de casos de mastitis bovina de los municipios de Venustiano Carranza y Marcos Castellanos, Michoacán (Tabla 2). Los resultados mostraron que el aislado STA-28 produce sustancias antimicrobianas que inhiben el crecimiento de 5 de los 54 aislados evaluados (AMC18, AMC22, AMC35, AMC75 y AMC96). Se seleccionó a un aislamiento indicador representativo (AMC18) para los ensayos posteriores. Ulteriormente, se evaluó el efecto de enzimas proteolíticas (ej. tripsina y proteínaasa K), según lo reportado por (3), para determinar la naturaleza de las sustancias antimicrobianas producidas por STA-28. Al tratar el sobrenadante de STA-28 con las enzimas proteolíticas, se observó un halo de inhibición en la prueba de antagonismo contra AMC18, por lo que se concluye que la sustancia antimicrobiana no es de origen peptídico.

Tabla 2. Resultados de la prueba de antagonismo del aislado productor de sustancias antimicrobianas (STA-28) contra las bacterias indicadoras.

Código del aislamiento de las bacterias indicadoras	Microorganismo	Prueba de antagonismo
AVC1	<i>S. aureus</i>	-
AVC2	<i>S. aureus</i>	-
AVC3	<i>S. aureus</i>	-
AVC5	<i>S. aureus</i>	-
AVC6	<i>S. aureus</i>	-
AVC7	<i>S. aureus</i>	-
AVC9	<i>S. aureus</i>	-
AVC10	<i>S. aureus</i>	-
AVC11	<i>S. aureus</i>	-
AVC12	<i>S. aureus</i>	-
AVC13	<i>S. aureus</i>	-
AVC14	<i>S. aureus</i>	-
AVC16	<i>S. aureus</i>	-
AVC17	<i>S. aureus</i>	-
AVC18	<i>S. aureus</i>	-
AVC24	<i>S. aureus</i>	-
AMC7	<i>S. aureus</i>	-
AMC9	<i>S. aureus</i>	-



AMC10	<i>S. aureus</i>	-
AMC12	<i>S. aureus</i>	-
AMC13	<i>S. aureus</i>	-
AMC14	<i>S. aureus</i>	-
AMC15	<i>Staphylococcus</i> sp.	-
AMC18	<i>S. aureus</i>	+
AMC21	<i>S. aureus</i>	-
AMC22	<i>S. aureus</i>	+
AMC23	<i>S. aureus</i>	-
AMC25	<i>S. aureus</i>	-
AMC26	<i>S. aureus</i>	-
AMC27	<i>Staphylococcus</i> sp.	-
AMC28	<i>S. aureus</i>	-
AMC30	<i>S. aureus</i>	-
AMC31	<i>S. aureus</i>	-
AMC33	<i>Staphylococcus</i> sp.	-
AMC34	<i>S. aureus</i>	-
AMC35	<i>S. aureus</i>	+
AMC36	<i>S. aureus</i>	-
AMC37	<i>S. aureus</i>	-
AMC38	<i>S. aureus</i>	-
AMC43	<i>S. aureus</i>	-
AMC44	<i>S. aureus</i>	-
AMC48	<i>S. aureus</i>	-
AMC50	<i>S. aureus</i>	-
AMC61	<i>S. aureus</i>	-
AMC75	No identificado	+
AMC76	<i>S. aureus</i>	-
AMC84	<i>S. aureus</i>	-
AMC85	<i>S. aureus</i>	-
AMC96	<i>S. aureus</i>	+
AMC97	<i>S. aureus</i>	-
AMC101	<i>S. aureus</i>	-
AMC107	<i>S. aureus</i>	-
AMC108	<i>S. aureus</i>	-
AMC109	<i>S. aureus</i>	-
ATTC27543	Cepa certificada de <i>S. aureus</i>	-

AVC: Aislado de Venustiano Carranza. AMC: Aislado de Marcos Castellanos. (-): negativo. (+): positivo.

Hasta el momento se ha cumplido con un 60% del objetivo 2.

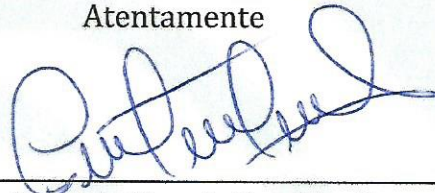
3. Determinar los genes estructurales que codifican las estafilococinas.

Debido a que la naturaleza de las sustancias antimicrobianas producidas por el aislado STA-28 no es peptídica, actualmente se está estandarizando un protocolo para determinar si son compuestos volátiles (4). Por lo anterior, este objetivo podría verse modificado.

En resumen, le informo que hasta el momento se ha cumplido con ~50% de avances en el proyecto planteado.

Sin otro en particular por el momento, me despido enviándole un cordial saludo y quedando a sus órdenes para cualquier duda o aclaración.

Atentamente



Dra. Patricia Nayeli Alva Murillo
Profesor-Investigador Titular A
Genómica Alimentaria

c.c.p. Archivo RIP-PRODEP

Referencias citadas

1. Ochoa-Zarzosa A, Loeza-Lara PD, Torres-Rodriguez F, Loeza-Angeles H, Mascot-Chiquito N, Sanchez-Baca S, et al. Antimicrobial susceptibility and invasive ability of *Staphylococcus aureus* isolates from mastitis from dairy backyard systems. *Antonie Van Leeuwenhoek* (2008) **94**(2):199-206. Epub 2008/03/06. doi: 10.1007/s10482-008-9230-6. PubMed PMID: 18320345.
2. Varella Coelho ML, Santos Nascimento JD, Fagundes PC, Madureira DJ, Oliveira SS, Vasconcelos de Paiva Brito MA, et al. Activity of staphylococcal bacteriocins against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* involved in bovine mastitis. *Res Microbiol* (2007) **158**(7):625-30. doi: 10.1016/j.resmic.2007.07.002. PubMed PMID: 17719749.
3. Ceotto H, Nascimento Jdos S, Brito MA, Bastos Mdo C. Bacteriocin production by *Staphylococcus aureus* involved in bovine mastitis in Brazil. *Res Microbiol* (2009) **160**(8):592-9. Epub 2009/07/29. doi: 10.1016/j.resmic.2009.07.007. PubMed PMID: 19635553.
4. Tyc O, Zweers H, de Boer W, Garbeva P. Volatiles in inter-specific bacterial interactions. *Frontiers in Microbiology* (2015) **6**(1412). doi: 10.3389/fmicb.2015.01412.