UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

El ensamblaje de un genoma completo nos cuenta la historia evolutiva de una superbacteria

En la UCR se realizó el ensamblaje del genoma completo de una cepa de *Pseudomona aeruginosa*, una bacteria resistente a la mayoría de los antibióticos. Foto tomada de www.publicdomainfiles.com.

Una innovadora metodología de ensamblaje del genoma completo de una peligrosa bacteria, resistente a los antibióticos, permite conocer cómo esta llegó a convertirse en una superbacteria.

23 MAR 2020 Ciencia y Tecnología

La **resistencia de las bacterias a los antibióticos** es un problema de salud cada vez más común, el cual pone en riesgo la vida de muchas personas.

En Costa Rica, las bacterias resistentes a estos medicamentos han puesto a correr a las autoridades en más de una oportunidad ante situaciones críticas en los **hospitales**, donde existen condiciones propicias para la **rápida diseminación de esos microorganismos** causantes de infecciones en pacientes.

Entender por qué y cómo las bacterias desarrollan mecanismos para evadir las sustancias que las pueden matar podría aportar nuevos elementos para su combate y **encontrar estrategias para el tratamiento** de dichos padecimientos.

Con ese objetivo, en la Universidad de Costa Rica (UCR) se efectuó el **análisis del genoma completo** de una cepa de ***Pseudomona aeruginosa***, una especie de bacterias de alto riesgo, resistente a la mayoría de los antibióticos. Este es, en el mundo, el **primer ensamblaje híbrido** del genoma de esta bacteria, mediante el uso de **tecnologías bioinformáticas.**

El trabajo fue desarrollado en el Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales (CIET), de la Facultad de Microbiología, por José Arturo Molina Mora, estudiante del Doctorado en Ciencias, quien contó con la tutoría del especialista en bacterias e investigador de esa Facultad, el Dr. Fernando García Santamaría.

El ensamblaje de las piezas de ADN no es tan sencillo, explicó Molina; por eso, es necesario crear protocolos bioinformáticos que facilitan el trabajo de reconstrucción del genoma. Este material hereditario está compuesto por millones de pares de letras, muy bien ordenadas, que especifican las instrucciones para el desarrollo y funcionamiento del organismo bacteriano.

En su investigación, Molina utilizó **fragmentos cortos y largos de ADN** en la reconstrucción del genoma completo mediante dos técnicas, con el fin de obtener mayor exactitud en los resultados. A este tipo de ensamblaje se le denomina híbrido.

> "Ahora conocemos los genes de resistencia a los antibióticos de esta bacteria y de todos los que codifican para factores de patogenicidad que causan daño", Dr. Fernando García, investigador de la Facultad de Microbiología.

"Hay muchos aspectos que ya estaban reportados en la literatura científica. Nosotros los reunimos en un solo criterio y los sometimos a prueba", comentó el investigador.

Molina evaluó y **comparó varios métodos** para llevar a cabo el ensamblaje híbrido ante la ausencia de una metodología única que resuelva el ensamblaje del genoma de todas las bacterias.

"La técnica de lecturas cortas de alta fidelidad (*Illumina*) lo que hace es generar piezas de la secuencia de todo el genoma en fragmentos de 101 bases (letras o caracteres). Después, uno tiene que juntar esos fragmentos. Eso es lo que se llama ensamblar un genoma", aseguró. El problema de estos pequeños tamaños radica en que existen zonas genómicas complejas que los datos de secuenciación no logran resolver.

En el 2019, en el marco de su tesis doctoral, el investigador hizo una pasantía en China y logró la colaboración de la Universidad de Fudán, en Shanghai, para realizar la secuenciación y análisis con un método diferente: una tecnología de lecturas largas (*Nanopore*). Este permite secuenciar el ADN en fragmentos de menor fidelidad, pero de mayor tamaño que los de Illumina (que oscilan entre miles a cientos de miles de bases) y que logran resolver las zonas genómicas de alta complejidad.

"Tratamos de sacar lo mejor de ambas metodologías para hacer el ensamblaje. Este se hace con las piezas de ambos tamaños para **lograr mayor fidelidad** aun en las zonas

complejas del genoma", añadió.

Para el Dr. García, este es un **trabajo novedoso** dado que se usaron distintas técnicas para ensamblar una molécula muy compleja, a partir de fragmentos (*reads* o lecturas) cortos y largos, y obtener información sobre todo el genoma.

Entre los hallazgos más relevantes, determinaron que la **cepa analizada es de alto riesgo**, porque "causa muchas infecciones, se transmite fácilmente entre pacientes y es muy resistente a todos los antibióticos".

El estudio sobre el ensamblaje del genoma de la bacteria fue publicado en enero pasado por la revista científica *Scientific Reports* (*Nature*).

Resistencia a los antibióticos

En diversas investigaciones efectuadas desde el 2008 en la UCR, se ha identificado en algunas cepas de *Pseudomona aeruginosa* un **mecanismo especial de resistenci**a a un tipo de antibióticos de amplio espectro, los **carbapenemas.**

Se trata de una proteína producida por el mismo microorganismo, la metalo-β-lactamasa (MBL), la cual desactiva el efecto de esos antibióticos utilizados como el **último recurso para combatir las infecciones**. Este proceso genera una ruptura química de la molécula y, de esta forma, el antimicrobiano pierde sus propiedades y deja de funcionar.

> "Pudimos confirmar los dos genes de resistencia a los antibióticos con la secuenciación completa y además descubrir su ubicación y cuáles son esos genes entre más de 6 600", M. Sc. José Arturo Molina, investigador del Centro de Investigación en Estudios Tropicales (CIET).

"Cuando ya no se puede contar con los carbapenemas, porque las bacterias se volvieron resistentes, prácticamente no hay más antibióticos a los que se pueda recurrir para tratar las infecciones", dijo García.

Después de aislar más de **600 bacterias en hospitales del país**, los investigadores determinaron que la mayoría (80 %) contenía el mecanismo de resistencia a los carbapenemas.

La resistencia a este grupo de antibióticos es muy importante, según explicó García, ya que usualmente estos se utilizan para las **infecciones más severas**, como las invasivas, en pulmón, en sangre y en tejidos blandos (piel, mucosas y tejido muscular).

Precisamente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificó en el 2017 a la *P. aeruginosa* con resistencia a carbapenemas entre los **tres grupos principales de bacterias más complicados para combatir**, por su resistencia a estos medicamentos.

Para el experto, una de las razones de la resistencia de las bacterias a los antimicrobianos es el abuso de estas sustancias. Por lo tanto, reducir su prescripción contribuiría a resolver el problema, como lo han hecho en Europa algunos países nórdicos.

“Entre más antibióticos uno utilice, más resistentes van a ser nuestras bacterias”, advirtió el microbiólogo.

Sin embargo, **en Latinoamérica, incluida Costa Rica**, es difícil controlar el uso de los antibióticos debido a la forma en que nosotros utilizamos los medicamentos, en particular las prácticas de prescripción médica, la medicina veterinaria y la producción pecuaria.

La superbacteria

La reconstrucción de la arquitectura del material genético de la *P. aeruginosa* representó para los científicos una serie de retos y de preguntas. Uno de los aspectos que más llamó su atención es que la bacteria estudiada tiene 7.1 millones de pares de letras, un millón más que la mayoría de las *Pseudomonas.*

Los investigadores seleccionaron una **cepa proveniente del Hospital San Juan de Dios**, a la que llamaron AG1, y le aplicaron pruebas para estudiar su ADN. La sorpresa para ellos fue encontrar dos genes de resistencia a las MBL, en vez de uno, como es lo usual.

“En ese momento, ese resultado era un poco raro, porque usualmente las bacterias tienen solo un gen de resistencia a este tipo de antibióticos”, recordó García. Ante la duda, repitieron el estudio y se volvió a obtener la misma conclusión.

Dentro de los hallazgos más interesantes está que el ensamblaje del genoma completo de esa cepa de *P. aeruginosa* revela que esa bacteria ha sufrido al menos **57 eventos genéticos a lo largo de su historia**. **Esto permitirá comprender cómo llegó a convertirse en una superbacteria**, es decir, u**n microorganismo que evade todos los antibióticos.**

Esto significa que ha acumulado genes de resistencia a esas sustancias, posiblemente porque ha tenido una evolución intrahospitalaria de mucho tiempo y ha estado expuesta a gran cantidad de medicamentos.

Los investigadores identificaron, además, una inversión de los genes en comparación con otras bacterias. En otras palabras, el microorganismo analizado tiene un orden de genes diferente al de otras *Pseudomonas*. “Esto nos da mucha información para entender más en detalle el funcionamiento genético y bioquímico de esta superbacteria”, concluyó García.

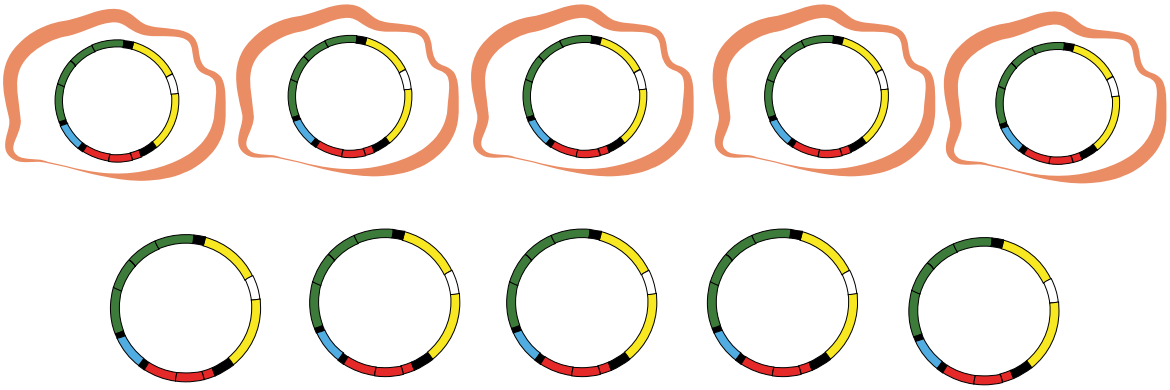
¿Cómo se ensambla el genoma de una bacteria?

Ejemplo de un genoma de la especie Pseudomona aeruginosa , que se

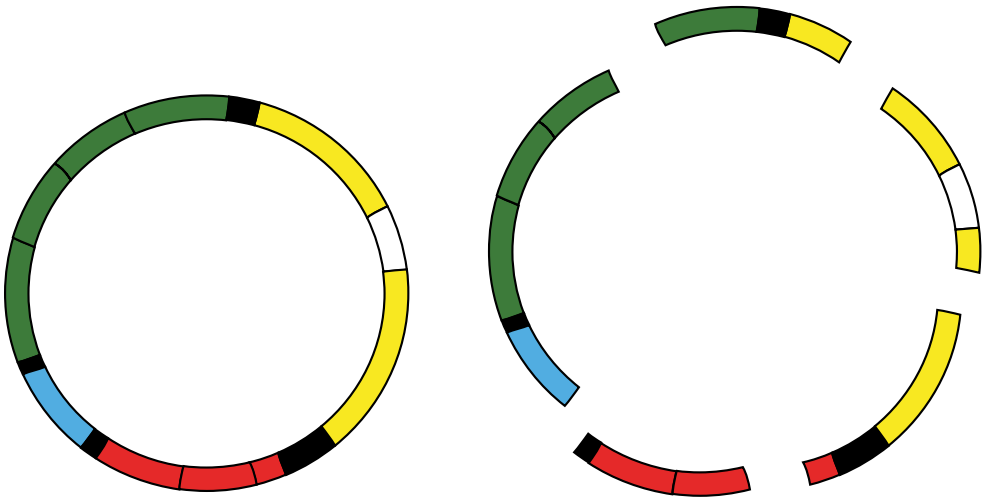
constituye a partir de un cromosoma.

Etapas:

1. Extracción del ADN: se extraen múltiples copias provenientes de varias células de la misma cepa bacteriana.

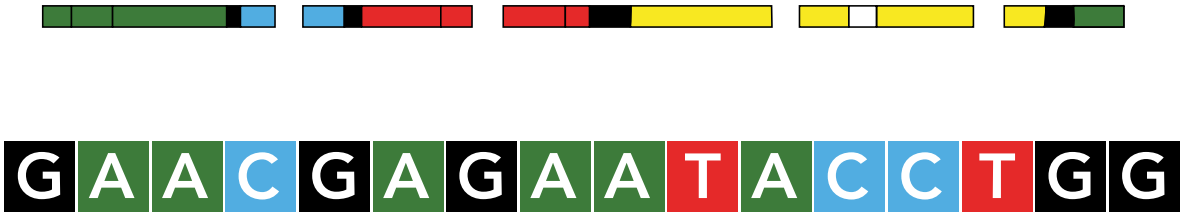


2. Fragmentación: esta se hace al azar en millones de segmentos.



3. Secuenciación de cada fragmento:

se secuenciaron cerca de 50 millones de fragmentos de solo un cromosoma. Este paso se efectúa con tecnología de alto rendimiento.



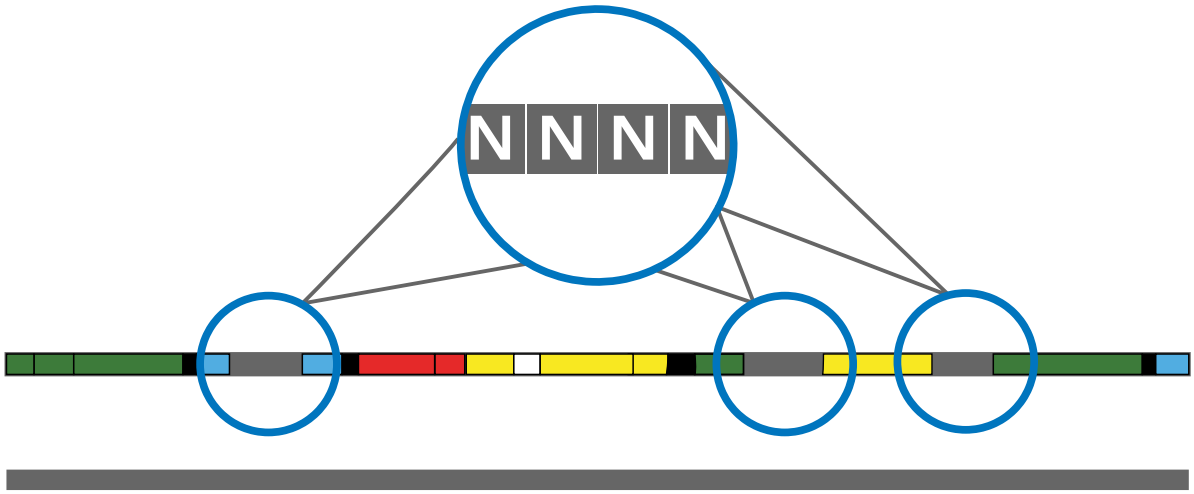
4. Ensamblaje de contiguos (contigs):

son fragmentos que se empalman, como cuando se arma un rompecabezas, para obtener la secuencia del cromosoma. Idealmente, se obtiene una sola secuen - cia circular (un solo contiguo).

5. Andamiaje (scaffolding):

si no se logra

5. Andamiaje (scaffolding): si no se logra una secuencia circular y se obtienen grandes fragmentos, se puede usar un genoma de referencia (genoma similar y ensamblado) para ordenar dichos fragmentos y crear un borrador de genoma. En este caso no fue necesario, ya que se utilizó un ensamblaje hídrido .



Genoma de referencia

Fuente: José Arturo Molina, CIET, UCR.

Patricia Blanco Picado
Periodista, Oficina de Divulgación e Información
Área de cobertura: ciencias básicas
patricia.blancopicado@ucr.ac.cr

Etiquetas: bacterias, resistencia, antibioticos, genoma, ensamblaje, bioinformatica, #c+t.