



ANÁLISIS DE GENÓMICA COMPARATIVA DE *ENTEROCOCCUS* SPP. AISLADOS DE UN ALIMENTO, REVELAN CARACTERÍSTICAS DE ADAPTACIÓN Y DIFERENCIACIÓN DE CEPAS NOSOCOMIALES.

Myrna E. Olvera-García¹, Alejandro Sanchez-Flores² y Maricarmen Quirasco¹. 1. Universidad Nacional Autónoma de México, Fac. Química. Depto. Alimentos y Biotecnología. Cd. Universitaria, 04510, D.F. México. quirabma@unam.mx, Tel. (55) 5622-5305. 2. Universidad Nacional Autónoma de México, IBT-Unidad de Secuenciación Masiva y Bioinformática, 62210, Cuernavaca, Morelos. alexf@ibt.unam.mx

Palabras clave: Bioinformática, inocuidad, queso Cotija

Introducción. Los enterococos son un género controversial dentro del grupo de bacterias ácido lácticas. A pesar de que se encuentran en alimentos fermentados y se usan como probióticos, también han sido asociados con infecciones nosocomiales y algunas cepas son resistentes a múltiples antibióticos. Diversos estudios han demostrado que este género presenta una gran diversidad intergenómica (1).

El propósito de este estudio fue comparar la secuencia genómica de dos cepas de enterococos aisladas de queso Cotija contra un conjunto de genomas de referencia, con el fin de identificar genes particulares asociados a la fermentación de alimentos y aquellos que los diferencian de aislados nosocomiales.

Metodología. Se llevó a cabo secuenciación masiva de extremos pareados (Illumina HiSeq 2000) para una cepa de *E. faecalis* (F) y una de *E. faecium* (D) aisladas de queso Cotija. Los genomas de llevaron a nivel scaffolding. Posteriormente se realizó la predicción de genes (GenemarkS) y anotación funcional de ambos genomas (Pfam, Uniprot, HMMer, SignalP, eggNOG, the gen ontholog). Se realizó un análisis de ortología (GET-HOMOLOGUES pipeline) comparando contra secuencias de referencia de cepas patógenas, de una probiótica y de una aislada de alimentos. Se realizó la búsqueda de genes relacionados con el proceso de fermentación y con inocuidad en alimentos (2). Además se analizó el perfil de resistencia a varios antibióticos.

Resultados. Los genomas de *E. faecalis* F y *E. faecium* D se encuentran representados en 73 (3,271 genes) y 115 contigs (2,698 genes), respectivamente. El enfoque bioinformático permitió determinar la ausencia de islas de patogenicidad y la baja frecuencia de ADN exógeno, lo que pudiera deberse a la presencia de las secuencias CRISPR-cas, también identificadas. Al mismo tiempo se predijo, para ambas cepas, la resistencia a aminoglucósidos y macrólidos, lo cual se corroboró experimentalmente. Usando el predictor BAGEL 3, se identificó un operón para la síntesis de una enterocina cíclica en *E. faecalis* F y cuatro operones que codifican para las enterocinas A, B, P y lactacina F en *E. faecium* D. A través del análisis de ortología se determinó que la cepa F comparte 195 genes con la cepa probiótica y únicamente 119 genes con la cepa patógena; por el contrario para la cepa D se determinó que ésta comparte 163 genes con la cepa patógena y sólo 108 con otra

cepa aislada de alimentos (Fig. 1A). La comparación de los genomas completos permitió agrupar a las cepas de alimentos en un clado diferente a las aislados nosocomiales (Fig. 1C). Así mismo, permitió dilucidar una mayor variabilidad intergénica en *E. faecalis* (Fig. 1B). Con la anotación funcional se logró determinar que los genes únicos de ambas cepas están relacionados con el sistema PTS, transporte de metales y transportadores ABC. Tioesterasas, carboxilesterasas (principalmente en *E. faecium*) y peptidasas pueden influenciar las propiedades sensoriales del queso Cotija.

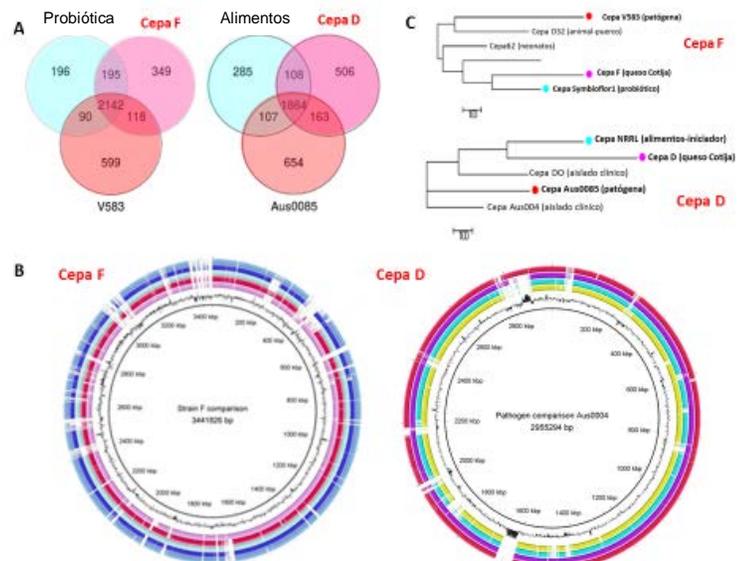


Fig. 1. A) Comparación genómica entre las cepas D y F contra una cepa patógena (naranja) y una probiótica/alimentos (azul). B) Diferencias cepas D (amarillo) y F (interno) vs. genomas de referencia. C) Árbol mid-point comparando los genomas completos.

Conclusiones. Los enterococos aislados de queso Cotija y las cepas probióticas/alimentos pertenecen a un grupo diferente al de las cepas nosocomiales. Genes relacionados al sistema PTS y transporte de metales podrían ser marcadores para diferenciarlas de las cepas patógenas. Genes codificantes para bacteriocinas estarían relacionados con la inocuidad del alimento.

Agradecimiento. PAPIIT IN222115, USMB-IBT-UNAM.

Bibliografía.

- Palmer L. K. et al. 2014. Enterococcal Genomics. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection*. Gilmore M. Eye and Ear Infirmary, Boston, USA. 1-37
- Martín-Platero A. (2009) *Int J Food Microbiol.*132:24–32