

## Grupo de Biología Molecular de la Patogenicidad de *Brucella*

Felix J. Sangari García y Juan M. García Lobo



Instituto de Biomedicina y Biotecnología. Universidad de Cantabria-CSIC



De izquierda a derecha:  
Félix J Sangari, Juan M García, Asunción Seoane,  
Yelina Ortiz, Candela González Riancho

El grupo de Biología Molecular de la Patogenicidad de *Brucella* de la Universidad de Cantabria continúa su actividad en las instalaciones del nuevo Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (IBBTEC) (<http://web.unican.es/ibbttec/>), al que nos trasladamos en Agosto de 2013, tras una larga andadura en los laboratorios del Departamento de Biología Molecular, en la Facultad de Medicina en Santander.

Nuestra línea principal de trabajo es la investigación de los mecanismos de patogenicidad, o lo que viene siendo lo mismo, de

la capacidad de crecimiento intracelular del importante agente zoonótico *Brucella*.

Las bacterias del género *Brucella* son causantes de la brucelosis, una zoonosis de importante repercusión en la salud animal humana y que causa importantes pérdidas económicas con especial repercusión países en desarrollo. En los animales, que constituyen su hospedador natural, como vacas, cabras u ovejas, dan lugar a abortos e infertilidad principalmente, mientras que en los humanos la enfermedad se manifiesta como un síndrome febril que puede progresar a una

fase crónica caracterizada por la aparición de severas complicaciones como endocarditis, artralgia, epididimitis o neurobrucelosis. La brucelosis es endémica en áreas como América Central y Sudamérica, Oriente Próximo, los países mediterráneos, el norte de África y los países del Cáucaso y Asia Central. En Cantabria, área con importante ganadería vacuna en manejo extensivo, todavía se producen de tanto en tanto brotes puntuales que obligan al saneamiento de las cabañas afectadas, aunque el número de casos humanos es muy reducido. Sin embargo, a nivel mundial se maneja la cifra de unos 500.000

casos humanos nuevos cada año, un cifra probablemente infravalorada 4 ó 5 veces.

Nuestro trabajo sobre *Brucella* se inició con el desarrollo de métodos para la manipulación genética de la bacteria y fue descrito en detalle en la anterior aparición del grupo en esta revista (Sangari y García Lobo, 2014).

En estos cinco últimos años, nuestro trabajo ha continuado en la misma línea. Hemos analizado el papel de dos proteínas de notable interés. Por una parte, una anhidrasa carbónica que interviene en la adaptación de *Brucella* entre el estado intracelular, es decir infectando a un huésped con una tensión elevada de CO<sub>2</sub>, y el estado de vida libre en el que la tensión de CO<sub>2</sub> es la atmosférica (García Lobo, JM *et al.*, 2019). Por otra parte, hemos estudiado el papel de una proteína con actividad inhibidora de la lisozima, pero que parece jugar un papel relevante en la supervivencia de *Brucella* en células del sistema inmune.

Otra de nuestras líneas de investigación en este patógeno es el estudio del papel del sistema de secreción tipo IV de *Brucella* en la virulencia. Hemos estudiado la regulación de la expresión del sistema *virB* por dos RNAs pequeños que se localizan en el entorno del operón *virB*, y hemos puesto a punto un novedoso sistema para identificar nuevos efectores secretados por este sistema en *Brucella*. Para ello hemos utilizado métodos de predicción bioinformática junto a diferentes estrategias con metodología de microbiología celular usando efectores subrogados fluorescentes o por métodos de interferencia viral.

Además de nuestro trabajo sobre *Brucella*, la otra línea del grupo pivota sobre el estudio de microbiomas ambientales. Por una parte estamos implicados en el Plan de Conser-

vación Preventiva de la Cueva de Altamira, en cuya redacción ya participamos en el año 2014 (VVAA, 2014), y donde contribuimos en el control del biodeterioro de las pinturas de la cueva. Y por otra parte estamos colaborando con la Universidad Central de Ecuador en el estudio de las comunidades microbianas presentes en diversos volcanes andinos.

Respecto a los estudios en la cueva de Altamira, de los diferentes riesgos biológicos detectados la proliferación de “colonias visibles” es el que se considera de mayor relevancia y al que estamos dedicando nuestro esfuerzo investigador.

Las llamadas entre comillas colonias visibles son biofilms o consorcios de microorganismos, generalmente de unos pocos milímetros, visibles y con diferentes colores (gris, blanco, amarillo) que crecen en las paredes y el techo, sobre todo de las zonas más externas de Altamira. Desde su primera descripción alrededor del año 2000 han sido objeto de numerosos estudios. Tras nuestra incorporación a este trabajo, estamos contribuyendo a una mejor descripción de los componentes de los consorcios a través de estudios de secuenciación masiva. Tras una caracterización por secuenciación de amplicones de 16S RNA hemos progresado a una etapa de análisis metagenómico que está empezando a dar resultados interesantes. Tenemos datos sobre las bacterias que componen los consorcios de forma mayoritaria y sus proporciones en los diferentes tipos de “colonia” y hemos obtenido borradores de buena calidad de los genomas de los componentes mayoritarios derivados de los datos metagenómicos.

Con esta información, que queremos completar con datos de expresión (metatranscriptomas), esperamos ser capaces de

identificar los aspectos más relevantes de la ecología de los consorcios, identificar las fuentes de energía y las rutas metabólicas implicadas.

El fin último de este trabajo es el diseño de medidas de control seguras, que sirvan para atajar un eventual problema de biodeterioro por sobre proliferación de las “colonias” pero que no causen problemas colaterales de proliferación alternativa, como ha ocurrido anteriormente en circunstancias similares. Este objetivo, que es bastante complicado, solo será posible cuando conozcamos en todo detalle los aspectos eco-fisiológicos de estos consorcios, a lo que estamos dedicando nuestro esfuerzo.

**Agradecimientos:** El trabajo de nuestro grupo se ha financiado entre otros con proyectos de la Universidad de Cantabria-SO-DERCAN que se nutren de fondos FEDER.

## REFERENCIAS

- Félix J Sangari y Juan M García Lobo.** (2014). Biología Molecular de la Patogenicidad de *Brucella*. SEMaforo. 58, 76-77.
- García-Lobo JM, Ortiz Y, González-Riancho C, Seoane A, Arellano-Reynoso B, and Sangari FJ.** (2019) Polymorphisms in *Brucella* Carbonic anhydrase II mediate CO<sub>2</sub> dependence and fitness *in vivo*. *Frontiers in Microbiology* (BioRxiv doi: 10.1101/804740).
- VVAA.** (2014) PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN PARA LA CONSERVACIÓN PREVENTIVA Y RÉGIMEN DE ACCESO DE LA CUEVA DE ALTAMIRA(2012-2014). Informe final <http://www.culturaydeporte.gob.es/mnaltamira/dam/jcr:23aff8fe-2c0c-474a-8db4-c34b644bcde9/conservacionpreventivaaltamira-informefinal-doc-investigacion.pdf>.
- Cuezva S, Fernandez-Cortes A, Porca E, Pašić L, Jurado V, Hernandez-Marine M, Serrano-Ortiz P, Hermosin B, Cañaveras JC, Sanchez-Moral S, Saiz-Jimenez C.** (2009) The biogeochemical role of Actinobacteria in Altamira Cave, Spain. *FEMS Microbiol Ecol.* 2012. 87:281-90. doi: 10.1111/j.1574-6941.2012.01391.x.