

# Transferencia genética horizontal en *Escherichia coli* patógenas

## Grupo MARS (Microbiología de aguas relacionada con la salud)

**Maite Muniesa.** Departamento de Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona  
Diagonal 6453 Anexo, planta o. 08028 Barcelona • Tel: 934039386; Fax: 934039047  
(mmuniesa@ub.edu). <http://www.ub.edu/mars/>

El grupo que estudia la transferencia genética horizontal en *Escherichia coli* patógenas forma parte de un Grupo Consolidado de la Generalitat de Cataluña (MARS: Microbiología de aguas relacionada con la salud), que en los últimos años ha extendido el campo de su investigación a la Microbiología de los alimentos. En este grupo se iniciaron los estudios en transferencia horizontal mediada por bacteriófagos del gen de la toxina Shiga en *E. coli* con la tesis doctoral de Maite Muniesa (1998), y continúan en la actualidad.

*E. coli* productoras de toxina Shiga (STEC) son patógenos alimentarios emergentes que se transmiten principalmente por consumo de alimentos y agua contaminados, siendo el ganado bovino uno de los mayores reservorios de STEC. El serotipo de *E. coli* O157:H7 es el principal causante de infecciones en humanos, aunque otros serotipos, el O26, O103, O111, o más recientemente el O104:H4, también han demostrado ser altamente virulentos. La toxina Shiga (Stx) es uno de los principales factores de patogenicidad de STEC, aunque no el único, ya que las cepas patógenas de *E. coli* presentan una amplia batería de factores de virulencia con los que causan diversas patologías, desde diarreas acuosas, colitis hemorrágicas o complicaciones severas, como el síndrome urémico hemolítico (HUS).

Recientes secuenciaciones de genomas de diversas cepas de *E. coli* indican que una parte importante de su cromosoma son bacteriófagos. Los bacteriófagos aparecen como un importante mecanismo en la evolución de *E. coli* mediante transferencia horizontal de genes, incluidos genes relacionados con virulencia. El ejemplo más conocido es el de los genes de la Stx, insertos en el genoma de bacteriófagos atemperados del tipo lambda (fagos Stx) que lisogenizan las cepas de STEC.

Nuestro grupo de investigación ha enfocado sus estudios en el aislamiento de cepas STEC (Muniesa et al., 2011) y en el estudio de fagos Stx, sobre todo del medio ambiente (Imamovic et al. 2010a, 2010b, Imamovic and Muniesa, 2011; Muniesa et al., 2006a, 2011). Estos estudios han demostrado que los fagos Stx se encuentran presentes en el medio extraintestinal, tanto en forma de partículas víricas libres como dentro de un grupo de cepas productoras de Stx y que, bajo las condiciones adecuadas, pueden infectar e integrarse en cepas no productoras de Stx y convertirlas en productoras de toxina. Confirma esta afirmación la detección de fagos Stx infecciosos en alimentos aptos para el consumo (Imamovic and Muniesa, 2011) y la demostración de que la transducción del gen *stx* a cepas no patógenas puede suceder bajo ciertas condiciones dentro de matrices alimentarias (Imamovic et al. 2009). El trabajo del grupo en los últimos años incluye también la caracterización de diversos fagos *stx*, algunos de nueva descripción (García-Aljaro et al., 2006; 2009) y fagos-Stx de cepas causantes de brotes alimentarios en otros países (Sekse et al., 2008). Otros estudios del grupo con fagos Stx han evaluado los mecanismos de

inserción del genoma del fago en la bacteria receptora mediante la selección de loci preferentes (Serra-Moreno et al., 2006; 2007). Se ha observado además que puede existir más de un fago Stx idéntico coexistiendo en el cromosoma de la misma bacteria, contrariamente a lo que indica la teoría de inmunidad fágica descrita para el fago  $\lambda$  (Serra-Moreno et al. 2008). Cuando dos fagos Stx se encuentran una bacteria, se genera una interferencia, disminuye la inducción de ambos fagos, disminuye por tanto la producción de Stx y como consecuencia la cepa resulta menos virulenta. Nuestros estudios indican que los fagos intervienen en la producción de Stx, que sirven como reservorio del gen *stx* y que la movilidad de genes mediada por fagos puede ser un mecanismo de evolución bacteriana altamente complejo.

Recientemente, la investigación del grupo se ha extendido a fagos portadores de otros genes relacionados con la virulencia de *E. coli*. El genoma de *E. coli* presenta otros loci intercambiables a lo largo de todo el cromosoma y situados mayoritariamente dentro del genoma de profagos lambdaoides. Este es el caso de ciertas proteínas efectoras de tipo III, el factor de inhibición del ciclo celular (Cif) o la toxina *cytolethal distending* (Cdt). Así, más allá de los estudios sobre fagos Stx, la transferencia de factores de virulencia en *E. coli* ha sido un tema de interés en el grupo. Se ha trabajado en la posible movilidad de la isla de patogenicidad LEE en *E. coli* O26 (Muniesa et al., 2006b). Más recientemente, hemos descrito y caracterizado un nuevo fago, portador de una variante de la *cytolethal distending toxin* (Cdt-V). Este estudio describe además la transferencia simultánea del gen *stx* y del gen *cdt* por dos fagos diferentes, generando una bacteria portadora de las dos toxinas (Allué-Guardia et al. 2011). En otra línea de investigación, se han detectado grandes cantidades de fagos portadores de genes de resistencia a antibióticos en muestras con contaminación fecal humana y animal (Colomer-Lluch 2011a, 2011b). Hemos detectado fagos que transportan genes de  $\beta$ -lactamasas (CTX-M y TEM) y fagos con el gen *mecA*, responsable de la resistencia a metacilina en *Staphylococcus aureus*. Los genes de  $\beta$ -lactamasas detectados en fagos son activos, y su transferencia genera resistencia a antibióticos  $\beta$ -lactámicos en *E. coli*.

La diversidad de formación y la experiencia de los componentes del grupo dentro de los diferentes ámbitos de la Microbiología, le confieren al equipo de investigación un carácter interdisciplinar, abarcando desde estudios de campo, métodos tradicionales, cultivo celular hasta técnicas moleculares, incluyendo estudios en Virología y Bacteriología. El grupo lo componen la Dra. Maite Muniesa, Lejla Imamovic, Anna Allué, Marta Colomer, Marta Gómez, Alexandre Martínez y Andreu García (Figura). Otros miembros del grupo MARS con aportaciones en este área son el Dr. Francisco Lucena (coordinador de MARS), el Dr. Joan Jofre, el Dr. Anicet Blanch y la Dra. Cristina García-Aljaro, así como sus respectivos colaboradores.

Miembros del grupo transferencia genética horizontal en *Escherichia coli* patógenas. De arriba abajo y de izquierda a derecha: Andreu García, Marta Colomer, Lejla Imamovic, Anna Allué, Maitte Muniesa, Alexandre Martínez y Marta Gómez.



## REFERENCIAS DE LOS ÚLTIMOS CINCO AÑOS

- Allué-Guardia A, García-Aljaro C, Muniesa M (2011). Bacteriophage-encoding cytolethal distending toxin type-V gene induced from non-clinical *E. coli* isolates. *Infect Immun*. 79:3262-3272.
- Colomer-Lluch M, Jofre J, Muniesa M (2011a). Bacteriophages carrying antibiotic resistance genes in fecal wastes from cattle, pigs and poultry. *Antimicrob Agents Chemother*. 55:4908-4911.
- Colomer-Lluch M, Jofre J, Muniesa M (2011b). Antibiotic resistance genes in the bacteriophage DNA fraction of environmental samples. *PLoS One*. 6(3):e17549.
- Imamovic L, Muniesa M (2011). Quantification and evaluation of infectivity of shiga toxin-encoding bacteriophages in beef and salad. *Appl Environ Microbiol*. 77:3536-3540.
- Muniesa M, Imamovic L, Jofre J (2011). Bacteriophages and genetic mobilization in sewage and faecally polluted environments. *Microb Biotechnol*. In press.
- Imamovic L, Ballesté E, Jofre J, Muniesa M (2010a). Quantification of Shiga toxin-converting bacteriophages in wastewater and in fecal samples by real-time quantitative PCR. *Appl Environ Microbiol*. 76:5693-5701.
- Imamovic L, Serra-Moreno R, Jofre J, Muniesa M (2010b). Quantification of Shiga toxin 2-encoding bacteriophages, by real-time PCR and correlation with phage infectivity. *J Appl Microbiol*. 108:1105-1114.
- Imamovic L, Jofre J, Schmidt H, Serra-Moreno R, Muniesa M (2009). Phage-mediated Shiga toxin 2 gene transfer in food and water. *Appl Environ Microbiol*. 75:1764-1768.
- García-Aljaro C, Muniesa M, Jofre J, Blanch AR (2009). Genotypic and phenotypic diversity among induced, stx2-carrying bacteriophages from environmental *E. coli* strains. *Appl Environ Microbiol*. 75:329-336.
- Sekse C, Muniesa M, Wasteson Y. (2008). Conserved Stx2 phages from *E. coli* O103:H25 isolated from patients suffering from hemolytic uremic syndrome. *Foodborne Pathog Dis*. 5:801-810.
- Serra-Moreno R, Jofre J, Muniesa M. (2008). The CI repressors of Shiga toxin-converting prophages are involved in coinfection of *E. coli* strains, which causes a down regulation in the production of Shiga toxin 2. *J Bacteriol*. 190:4722-4735.
- Serra-Moreno R, Jofre J, Muniesa M (2007). Insertion site occupancy by stx2 bacteriophages depends on the locus availability of the host strain chromosome. *J Bacteriol*. 189:6645-6654.
- Muniesa M, Jofre J, García-Aljaro C, Blanch AR (2006a). Occurrence of *E. coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli* in the environment. *Environ Sci Technol*. 40:7141-7149.
- Serra-Moreno R, Acosta S, Hernalsteens JP, Jofre J, Muniesa M (2006). Use of the lambda Red recombinase system to produce recombinant prophages carrying antibiotic resistance genes. *BMC Mol Biol*. 7:31.
- Muniesa M, Schembri MA, Hauf N, Chakraborty T (2006b). Active genetic elements present in the locus of enterocyte effacement in *E. coli* O26 and their role in mobility. *Infect Immun*. 74:4190-4199.
- García-Aljaro C, Muniesa M, Jofre J, Blanch AR. (2006). Newly identified bacteriophages carrying the stx2g Shiga toxin gene isolated from *E. coli* strains in polluted waters. *FEMS Microbiol Lett*. 258:127-135.

# D+D



SEM

Madrid

12-13 de julio de 2012

## I Reunión de Docencia y Difusión de la Microbiología

El Grupo Especializado en Difusión y Docencia de la Microbiología (**D+D SEM**) anuncia su primera reunión a nivel nacional. Si eres un profesional de la enseñanza o un amante de la divulgación de nuestra ciencia, esta es tu cita.

Más información en [www.ucm.es/info/mfar/ddm](http://www.ucm.es/info/mfar/ddm)