

Genes relacionados a la resistencia a las fluoroquinolonas en el genoma de *Gardnerella vaginalis* UMB0386

Artículo de
Investigación

Fluoroquinolone resistance-related genes in the genome of *Gardnerella vaginalis* UMB0386

Fayma Odalys Ibarra-Luna¹, Adrián González-Castillo^{1*}

¹Unidad Académica de Ingeniería en Biotecnología. Universidad Politécnica de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa, México

Resumen: En la actualidad, las bacterias cada vez aumentan más su resistencia a los antibióticos, en el caso de las fluoroquinolonas estas inhiben la síntesis de ADN, esta inhibición se da por la interacción del antibiótico con el complejo formado por la unión del ADN a las dianas de las quinolonas, la ADN-girasa y la topoisomerasa IV. Este estudio reporta la presencia de los genes *gyrA* y *gyrB* en el genoma de la cepa tipo *Gardnerella vaginalis* UMB0386, estos genes proporcionan resistencia a las fluoroquinolonas, además, se analizó la relación evolutiva entre especies que presentan estos genes.

Palabras clave: *Gardnerella vaginalis*, Filogenia, Fluoroquinolonas.

Abstract: Currently, bacteria are becoming increasingly resistant to antibiotics, in the case of fluoroquinolones these inhibit DNA synthesis, this inhibition occurs by the interaction of the antibiotic with the complex formed by the binding of DNA to the targets of quinolones, DNA gyrase and topoisomerase IV. This study reports the presence of the *gyrA* and *gyrB* genes in the genome of the *Gardnerella vaginalis* type strain UMB0386, these genes provide resistance to fluoroquinolones, in addition, the evolutionary relationship between species that present these genes was analyzed.

Keywords: *Gardnerella vaginalis*, Phylogeny, Fluoroquinolones.

Recibido: 22/06/2023 **Aceptado:** 27/06/2023 **Publicado:** 29/07/2023

Introducción

Gardnerella vaginalis es un bacilo inmóvil, no encapsulado, puede presentar fimbrias, con una longitud de 0,5 a 1,5 μm , Gram negativo, anaerobio facultativo, catalasa y oxidasa negativo [1].

La vaginosis bacteriana suele ser causada por esta bacteria, esto ocurre cuando se pierde el equilibrio entre la microbiota de la vagina, provocando que *G. vaginalis* crezca de manera exponencial. Gardner y Dukes reportaron esta bacteria aislada de mujeres con vaginitis inespecífica y fue identificada como *Haemophilus sp.* debido a su tinción Gram negativa y su nulo crecimiento en agar sin sangre [1].

Por otro lado, las fluoroquinolonas son agentes antimicrobianos relativamente recientes, inicialmente utilizadas contra bacterias Gram negativas, que posteriormente fueron modificadas químicamente para incrementar su espectro de acción sobre bacterias Gram positivas. La resistencia a las fluoroquinolonas es preocupante, debido a que las fluoroquinolonas son altamente eficaces para el tratamiento de algunas enfermedades graves producidas por bacterias multirresistentes en humanos [2].

En los últimos años aparecieron cepas resistentes a las fluoroquinolonas de tercera y cuarta generación, pero éstas siguen siendo eficaces para tratar esta infección. La aparición de resistencia a antimicrobianos es consecuencia natural del proceso evolutivo ante la mayor presión de selección por parte de la quimioterapia. La resistencia de los patógenos responsables de las ITS (infecciones de transmisión sexual) no se limita a los betalactámicos naturales, sino que incluye fármacos sintéticos como las fluoroquinolonas [3].

En el presente estudio se reportan genes relacionados a la resistencia a las fluoroquinolonas en el genoma de la cepa *Gardnerella vaginalis* UMB0386 asociada a la vaginosis bacteriana (VB).

Materiales y Métodos

Se descargó el genoma de la bacteria *G. vaginalis* UMB0386 de National Center for Biotechnology Information (NCBI). Posteriormente, se anotó en la plataforma de RAST (Rapid Annotations using Subsystems Technology) [4], para detectar los subsistemas y localizar los genes relacionados con resistencia a los antibióticos de *G. vaginalis*. Se descargaron y alinearon las secuencias de estos genes y se construyeron los árboles filogenéticos con MEGA [5], utilizando los métodos Neighbor-Joining y Maximum likelihood.

Resultados y Discusión

Anotación del genoma

El tamaño del genoma *G. vaginalis* UMB0386 fue 1.67 Mb (1,675,681 pb) con una cobertura genómica de 144x.

Tabla 1. Conteo genómico de la cepa *G. vaginalis* UMB0386.

Característica	Valor
Tamaño	1.67 Mb
Contenido de GC	41.20%
Número de fragmentos	3
Número de subsistemas	152
Número de secuencias codificantes	1336
Número de RNAs	49

El genoma anotado presentó 355 (27%) secuencias asociadas a un subsistema y 981 (73%) secuencias no asociadas a un subsistema, por tal motivo las secuencias no lograron ser asignadas a un gen (figura 1). Se obtuvo de RAST la gráfica circular donde se observa la proporción que ocupa cada uno de los subsistemas del genoma de la cepa *G. vaginalis* UMB0386, el subsistema en el cual se pudo observar un mayor número de secuencias codificantes fue el de Carbohidratos (95), además, los subsistemas de latencia y esporulación, fagos, profagos, elementos transponibles y plásmidos presentaron solamente una secuencia codificante. En particular, el subsistema de virulencia, enfermedad y defensa contiene 14 secuencias codificantes, de las cuales 5 corresponden a resistencia a antibióticos y compuestos tóxicos.

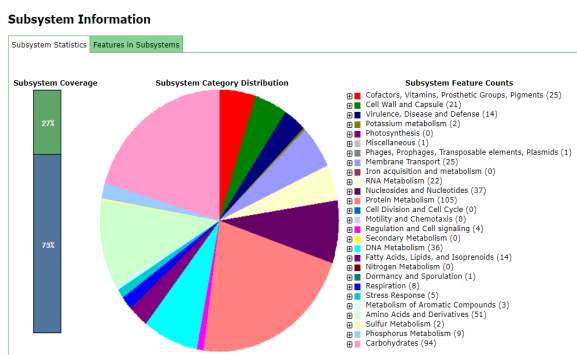


Figura 1. Genes relacionados a subsistemas y su distribución en diferentes categorías en el genoma de la cepa *G. vaginalis* UMB0386

Obtención de los genes

Se identificaron dos genes de resistencia a antibióticos, en particular con resistencia a fluoroquinolonas (*gyrA* y *gyrB*).

En la base de datos de RAST se comparó el genoma de la cepa de *G. vaginalis* UMB0386 y reveló el conjunto de genes con secuencias similares de los genes *gyrA* y *gyrB* en cinco especies distintas las cuales son *Mycobacterium tuberculosis* F11, *Cellvibrio japonicus* Ueda107, *Campylobacter coli* RM2228, *Spiroplasma kunkelii* CR2-3x y *Ehrlichia chaffeensis* str. Arkansas.

En 2005, se analizaron 17 aislamientos clínicos de *Corynebacterium striatum* y cepas de *Corynebacterium amycolatum* por el método E-test en placas de agar Mueller-Hinton. La cepa *C. striatum* ATCC 6940 se utilizó como cepa de control. Se caracterizaron las regiones determinantes de resistencia a quinolonas amplificadas de los genes *gyrA* de *C. amycolatum* y *C. striatum*. Se seleccionaron y analizaron cuatro mutantes de *C. amycolatum* resistentes a quinolonas in vitro [6].

En 2008, se evaluaron 348 aislamientos invasivos de *S. aureus*, 208 eran resistentes a metilina y 140 sensibles a metilina. Además, 155 aislamientos de *S. aureus* presentaron resistencia a la metilina y todos los *S. aureus* sensibles a la metilina. La confirmación de especie de estos aislamientos y la detección del gen de resistencia a metilina (*mecA*) se realizó por ensayos de PCR múltiple. Las tasas de resistencia para ciprofloxacino, gatifloxacino y moxifloxacino en los 348 aislamientos de *S. aureus* fueron 55,4%, 54,9% y 52,6%, respectivamente. La alta resistencia a las fluoroquinolonas fue evidente en los aislamientos de *S. aureus* resistente a la metilina, en los que las tasas de resistencia fueron del 92,3%, 91,8%, 91,3% y 87,5% para ciprofloxacino, levofloxacina, gatifloxacino y moxifloxacino, respectivamente [7].

Análisis filogenético

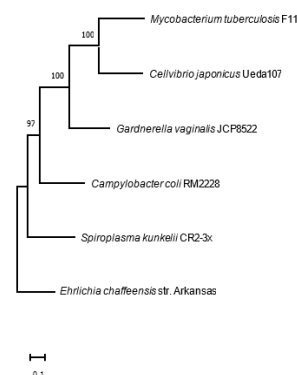


Figura 2. Árbol filogenético del gen *gyrA* con seis especies distintas, todas cuentan con resistencia a las fluoroquinolonas.

Se descargaron los genes *gyrA* y *gyrB* de cinco especies, los genes se alinearon con los genes de *G. vaginalis* UMB0386, posteriormente, se construyeron dos árboles filogenéticos con MEGA para comparar la distancia evolutiva entre las especies, en el árbol filogenético del gen *gyrA* se observa que su grupo

externo es *E. chaffeensis* str. Arkansas y un clúster que presentó un 100% de Bootstrap, el árbol filogenético está compuesto por el clúster de *G. vaginalis* UMB0386, *M. tuberculosis* F11 y *C. japonicus* Ueda107, además de dos ramas independientes *C. coli* RM2228, *S. kunkelii* CR2-3x y el grupo externo *E. chaffeensis* str. Arkansas.

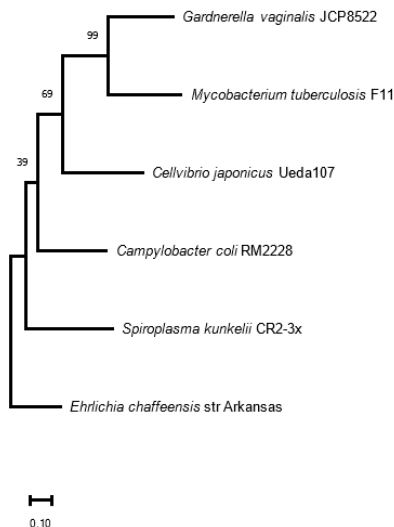


Figura 3. Árbol filogenético con genes *gyrB*, las 6 especies con resistencia a la fluoroquinolona.

En el segundo árbol filogenético (figura 3) se compararon genes de *gyrB*, se observó que su grupo externo es *E. chaffeensis* str. Arkansas y de nuevo se observó un clúster y presentó coincidencia de los genes, en el primer clúster se obtuvo un 99% de coincidencia entre *G. vaginalis* UMB0386 y *M. tuberculosis* F11, se debe resaltar que la topología de los árboles es similar debido a que estos genes forman parte de un mismo operón.

En 2005, se seleccionaron y analizaron cuatro mutantes de *C. amycolatium* resistentes a quinolonas in vitro, cepas resistentes a quinolonas tanto in vivo como in vitro, las cuales mostraron altos niveles de resistencia a la fluoroquinolona en cepas con una doble mutación que conducía a un cambio de aminoácidos en las posiciones 87 y 91 o en las posiciones 87 y 88 de *gyrA*, mientras que las mismas mutaciones concomitantes en las posiciones de aminoácidos 87 y 91 en *gyrA* de *C. striatum* produjo altos niveles de resistencia a ciprofloxacino y levofloxacino, pero solo mostró un aumento moderado en la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) de moxifloxacino, lo que sugiere que otros mecanismos de resistencia a quinolonas podrían estar involucrados en la resistencia a moxifloxacino [6].

Conclusión

Se detectaron los genes *gyrA* y *gyrB* en el genoma de *G. vaginalis* UMB0386, los cuales les proporcionan resistencia a

antibióticos, especialmente a las fluoroquinolonas. Este grupo de antibióticos formado por ciprofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino, norfloxacino y ofloxacino, tienen efecto bactericida, mediante la inhibición de síntesis de ADN bacteriano. Se encontró que no solo *G. vaginalis* UMB0386 tiene este efecto de resistencia si no también se puede encontrar en cepas de *C. japonicus* Ueda107, *C. coli* RM2228, *S. kunkelii* CR2-3x, *E. chaffeensis* str. Arkansas y *M. tuberculosis* F11, esta última presentó una estrecha relación filogenética con *G. vaginalis* en los árboles filogenéticos que presentaron una topología similar. Finalmente, la detección de genes de resistencia a las fluoroquinolonas en el genoma de *G. vaginalis* UMB0386 es fundamental para comprender y abordar el problema creciente de la resistencia antimicrobiana. La capacidad de detectar y monitorear estos genes es crucial para la implementación de estrategias de control y prevención eficaces.

Referencias

- [1] Hernández, F. (1998). *Gardnerella vaginalis* Mobiluncus en la etiología de la vaginosis bacteriana. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 19(1-2), 107-116. Retrieved June 13, 2022, from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-29481998000100010&lng=en&tln=es.
- [2] Briseño-Torres, L, Narváez-Bravo, C, Rodas-González, A, Wittum, T, & Hoet, A. (2007). Resistencia a las Fluoroquinolonas y Otros Antimicrobianos en Cepas de Salmonella spp. Aisladas en el Procesamiento de Pollo Entero. *Revista Científica*, 17(5), 521-528. Recuperado en 15 de agosto de 2022, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592007000500013&lng=es&tln=es
- [3] Shaskolskiy, B, Dementieva, E, & Gryadunov, D. (2016). Resistencia farmacológica en bacterias asociadas con infecciones de transmisión sexual y vaginosis. Laboratorios Bagó. Recuperado 16 de julio de 2022, de <https://www.bago.com.ar/vademecum/bibliografia/resistencia-farmacologica-en-bacterias-asociadas-con-infeccion-s-de-transmision-sexual-y-vaginosis/>
- [4] Aziz, RK, Bartels, D, Best, AA, Matthew, D, Disz, T, Edwards, RA, Formsma, K, Gerdes, S, Glass, E, Kubal, M, Meyer, F, Olsen, GJ, Olson, R, Osterman, AL, Overbeek, RA, McNeil, LK, Paarmann, D, Paczian, T, Parrello, B, Pusch, GD, Reich, C, Stevens, R, Vassieva, O, Vonstein, V, Wilke, A, Zagnitko, O. (2008). The RAST Server: Rapid Annotations using Subsystems Technology. 26/6/2022, de BMC Genomics Sitio web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2265698>

- [5] Tamura, K, Stecher, G, Kumur, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. 27/6/2022, de Molecular Biology and Evolution Sitio web:
<https://academic.oup.com/mbe/article/38/7/3022/6248099?login=false>
- [6] Sierra, M, Martínez, L, Vázquez, F, Giralt, E & Vila, J. (2005). *Just a moment*. . . ASM Journals. Recuperado 15 de julio de 2022, de <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.49.5.1714-1719.2005>
- [7] Hidalgo, M, Reyes, J, Cárdenas, A, Díaz, L, Rincón, S, Vanegas, N, Díaz, P, Castañeda, E, & Arias, C. (2008). Perfiles de resistencia a fluoroquinolonas en aislamientos clínicos de cocos Gram positivos provenientes de hospitales colombianos, 1994-2004. *Biomédica*, 28(2), 245-251. Retrieved July 15, 2022, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572008000200013&lng=en&tlng=es