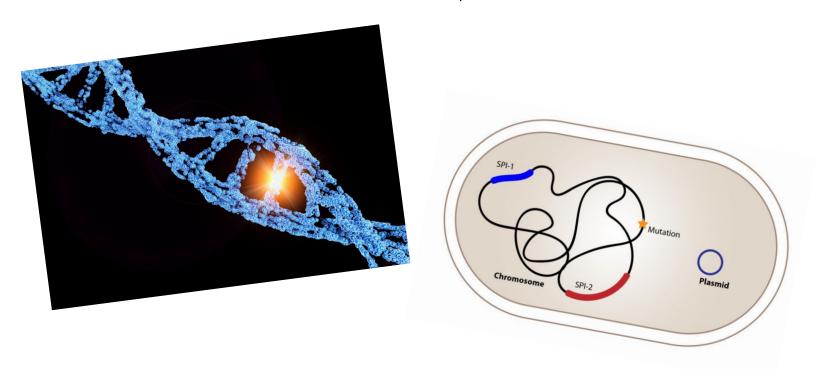
Resistencia a antibióticos en *Mycobacterium* tuberculosis

Cervantes López Ximena Alamina Ramírez Sebastián Hernandez Gasca Adriana

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

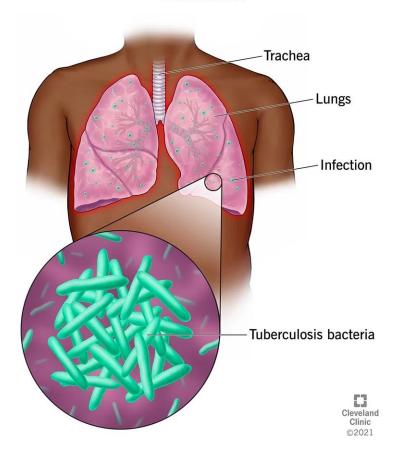
¿Existen variantes genéticas que le permita a *M. tuberculosis* el desarrollo de resistencia a fármacos durante la primera línea de tratamiento?



INTRODUCCIÓN

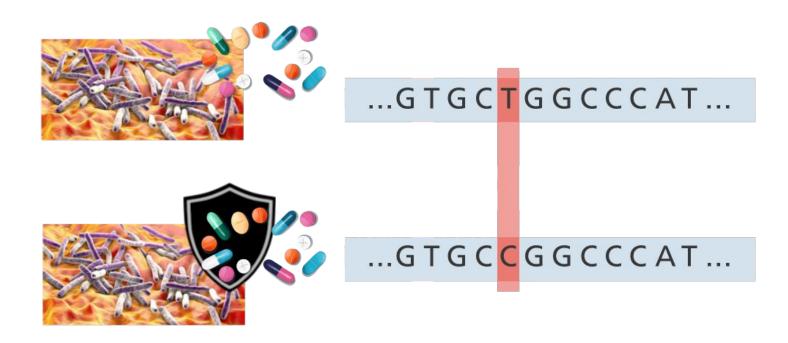
- La tuberculosis es causada por la bacteria Mycobacterium tuberculosis.
- M. tuberculosis puede generar resistencia antibiótica.
- Se buscan herramientas de detección oportuna de esta respuesta inmune.
- La secuenciación del genoma completo (WGS) y la secuenciación de nueva generación (NGS) permiten estudiar el genoma para la identificación de variantes genéticas que le proporciona a los organismos diversas aptitudes.

Tuberculosis



OBJETIVOS

 Identificar el cambio en los nucleótidos dentro del genoma de muestras de M. tuberculosis con resistencia a antibióticos.

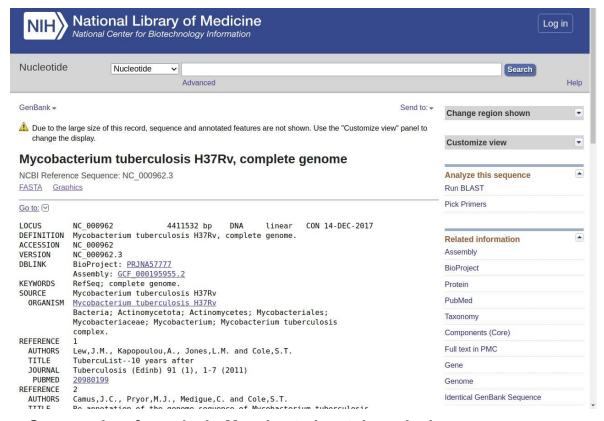


OBJETIVOS

• Corroborar con la literatura si la resistencia a antibióticos es debido al cambio de los nucleótidos dentro del genoma.

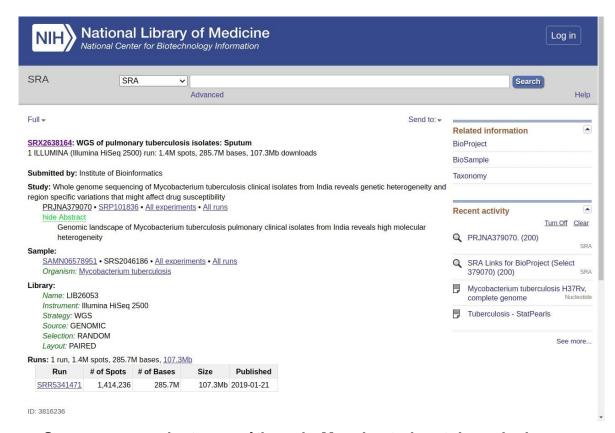


 Búsqueda del genoma de referencia a utilizar de *M. tuberculosis* sin resistencia a antibióticos.



Genoma de referencia de Mycobacterium tuberculosis.

Búsqueda del genoma de referencia a utilizar de M. tuberculosis **con** resistencia a antibióticos. (SRX26381650 a SRX26381664)



Genoma con variantes genéticas de Mycobacterium tuberculosis.

 Búsqueda de los archivos en formato FASTA (SRA).

Mycobacterium tuberculosis H37Rv, complete genome

NCBI Reference Sequence: NC 000962.3

GenBank Graphics

>NC_000962.3 Mycobacterium tuberculosis H37Rv, complete genome TTGACCGATGACCCCGGTTCAGGCTTCACCACAGTGTGGAACGCGGTCGTCTCCGAACTTAACGGCGACC CTAAGGTTGACGACCGACCAGCAGTGATGCTAATCTCAGCGCTCCGCTGACCCCTCAGCAAAGGGCTTG GCTCAATCTCGTCCAGCCATTGACCATCGTCGAGGGGTTTGCTCTGTTATCCGTGCCGAGCAGCTTTGTC CAAAACGAAATCGAGCGCCATCTGCGGGCCCCGATTACCGACGCTCTCAGCCGCCGACTCGGACATCAGA TCCAACTCGGGGTCCGCATCGCTCCGCCGGCGACCGACGACGACGACACTACCGTGCCGCCTTCCGA AAATCCTGCTACCACATCGCCAGACACCACAACCGACAACGACGAGATTGATGACAGCGCTGCGGCACGG GGCGATAACCAGCACAGTTGGCCAAGTTACTTCACCGAGCGCCCGCACAATACCGATTCCGCTACCGCTG CGCCGCCGCCTTGGCGATCGCAGAAGCACCCGCCCGCGCTTACAACCCCCTGTTCATCTGGGGCGAGTCC GGTCTCGGCAAGACACCTGCTACACGCGGCAGGCAACTATGCCCAACGGTTGTTCCCGGGAATGCGGG TCAAATATGTCTCCACCGAGGAATTCACCAACGACTTCATTAACTCGCTCCGCGATGACCGCAAGGTCGC ATTCAAACGCAGCTACCGCGACGTAGACGTGCTGTTGGTCGACGACATCCAATTCATTGAAGGCAAAGAG GGTATTCAAGAGGAGTTCTTCCACACCTTCAACACCTTGCACAATGCCAACAAGCAAATCGTCATCTCAT CTGACCGCCCACCCAAGCAGCTCGCCACCCTCGAGGACCGGCTGAGAACCCGCTTTGAGTGGGGGCTGAT CACTGACGTACAACCACCCGAGCTGGAGACCCGCATCGCCATCTTGCGCAAGAAAGCACAGATGGAACGG CTCGCGGTCCCCGACGATGTCCTCGAACTCATCGCCAGCAGTATCGAACGCAATATCCGTGAACTCGAGG GCGCGCTGATCCGGGTCACCGCGTTCGCCTCATTGAACAAAACACCAATCGACAAAGCGCTGGCCGAGAT TGTGCTTCGCGATCTGATCGCCGACGCCAACACCATGCAAATCAGCGCGGCGACGATCATGGCTGCCACC GCCGAATACTTCGACACTACCGTCGAAGAGCTTCGCGGGCCCGGCAAGACCCGAGCACTGGCCCAGTCAC GACAGATTGCGATGTACCTGTGTCGTGAGCTCACCGATCTTTCGTTGCCCAAAATCGGCCAAGCGTTCGG CCGTGATCACACACCGTCATGTACGCCCAACGCAAGATCCTGTCCGAGATGGCCGAGCGCCGTGAGGTC TTTGATCACGTCAAAGAACTCACCACTCGCATCCGTCAGCGCTCCAAGCGCTAGCACGGCGTGTTCTTCC GACAACGTTCTTAAAAAAACTTCTCTCCCAGGTCACACCAGTCACAGAGATTGGCTGTGAGTGTCGCT GTGCACAAACCGCGCACAGACTCATACAGTCCCGGCGGTTCCGTTCACAACCCACGCCTCATCCCCACCG CCAGACTGTCCCCAAACTGCACACCCTCTAATACTGTTACCGAGATTTCTTCGTCGTTTGTTCTTGGAAA GACAGCGCTGGGGATCGTTCGCTGGATACCACCCGCATAACTGGCTCGCGGTGGGTCAGAGGTCAAT GATGAACTTTCAAGTTGACGTGAGAAGCTCTACGGTTGTTGTTCGACTGCTGTTGCGGCCGTCGTGGCGG GTCACGCGTCATGGGCATTCGTCGTTGGCAGTCCCCACGCTAGCGGGGCGCTAGCCACGGGATCGAACTC ATCGTGAGGTGAAAGGGCGCAATGGACGCGGCTACGACAAGAGTTGGCCTCACCGACTTGACGTTTCGTT GGTGCTCTCCGGCGTGTTGTTGACCGGCTCGGACAACGGTCTGACGATTTCCGGATTCGACTACGAGGTT TCCGCCGAGGCCCAGGTTGGCGCTGAAATTGTTTCTCCTGGAAGCGTTTTAGTTTCTGGCCGATTGTTGT

ence: 4.16MB (COMPLETE)

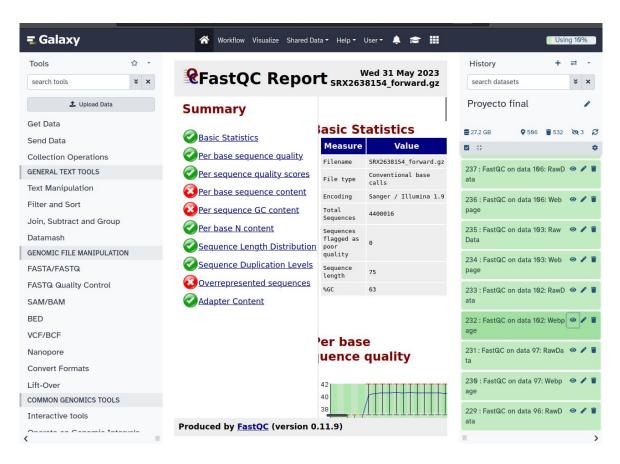
 Carga de los datos, tanto del genoma de referencia como de las muestras a comprar.



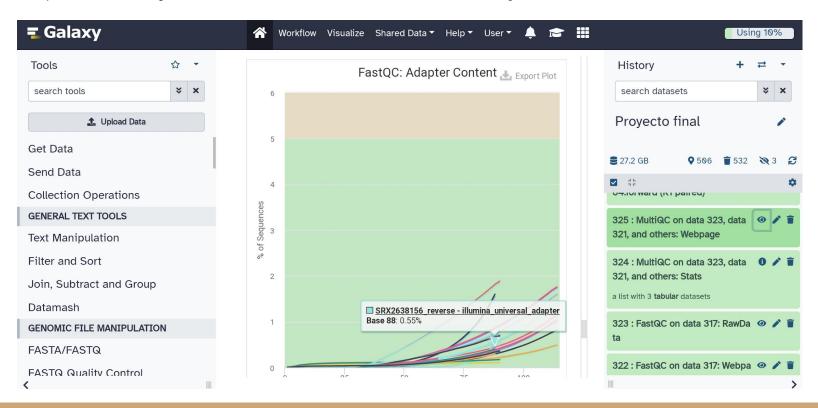




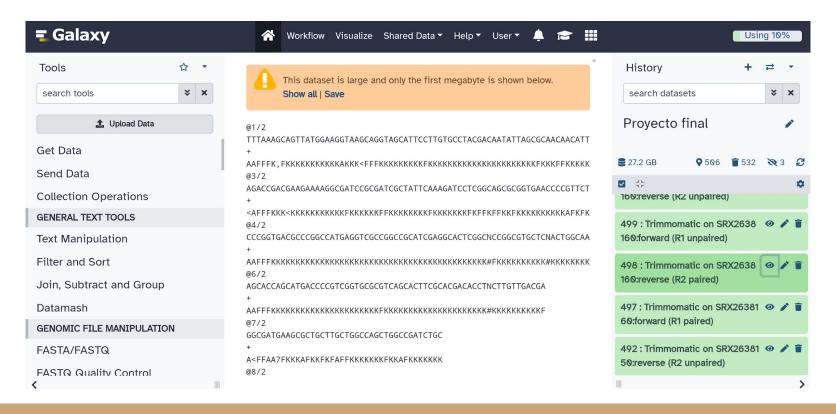
Uso de la herramienta
FastQC para el análisis
de calidad de las
muestras.



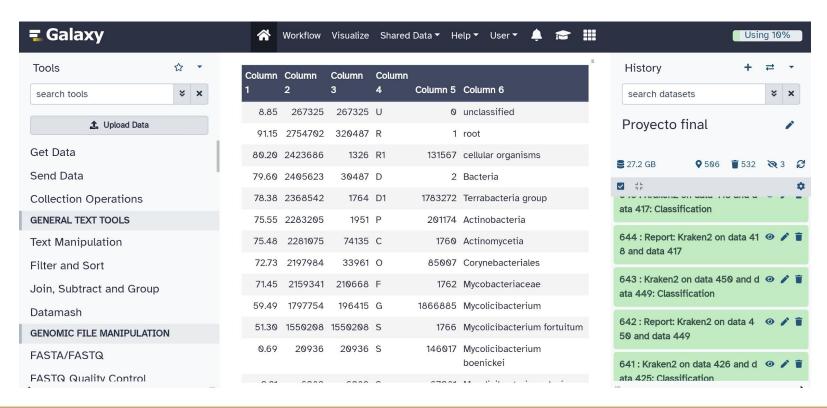
 Uso de la herramienta MultiQC para observar la presenia de adptadores y el análisis de calidad en conjunto.



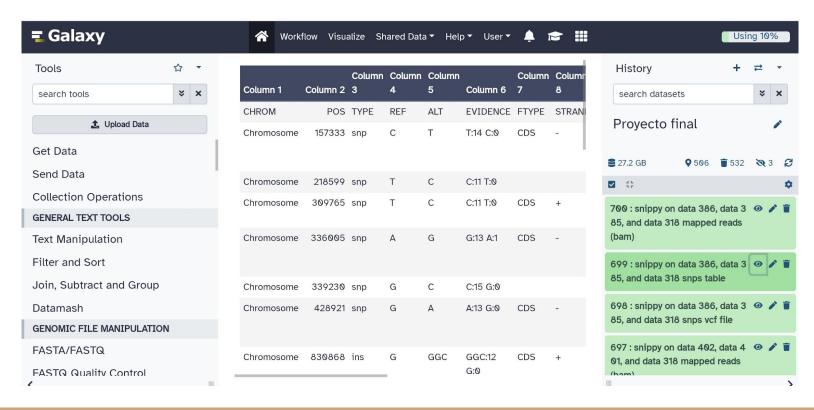
 Uso de la herramienta Trimmomatic para el corte de adaptadores en las muestras secuenciadas.



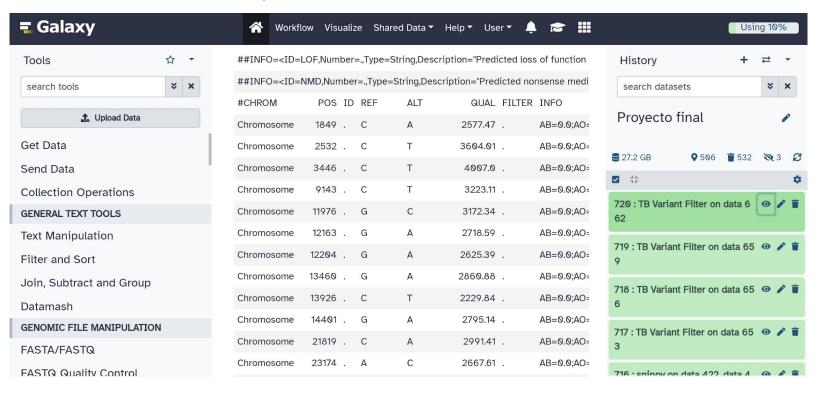
 Uso de la herramienta Kraken2 para el análisis de contaminación de las muestras.



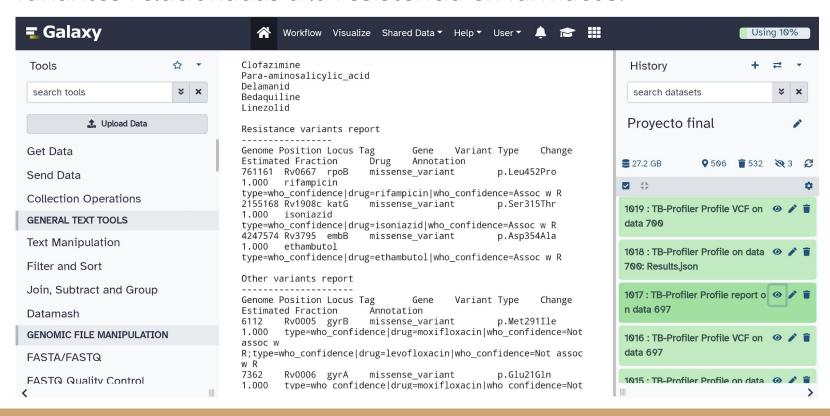
 Uso de la herramienta Snippy para el alineamiento y el llamado de variantes en las muestras.



 Uso de la herramienta TB-Variant Filter para la perfilación de las diferentes variantes que se encontraron en las muestras.



 Uso de la herramienta TB-Profile-Profile para la identificación de las variantes relacionadas a la resistencia en fármacos.



RESULTADOS

Fármacos a los que se encuentran asociadas nuestras 12 muestras de las 14 ya que 2 no mostraron variantes de resistencia.

- Estreptomicina (Str)
- · Rifampicina (Rif)
- · Ofloxacina (Ofl)
- Kanamicina (Kan)
- Moxifloxacino (Mox)

Marantana

SRX26381663

SRX26381664

Isoniazida (Iso)

- Levofloxacino (Lev)
- Bedaquilina (Bed)

Etam Oflo, Mox. Levo, Flu.

Cip, Ami, Cap, Ami

- Fluoroquinolonas (Flu)
- Clofazimina (Clo)
- Ciprofloxacina (Cip)
- Etionamida (Eti)

- Etambutor (Etam) • Capreomicina (Cap)
- Amikacina (Ami)
- Pirazinamida (Pir)
- Capreomicina (Cap) Aminoglucósidos (Ami)

Muestra	Tipo de variante	Farmacos a los que es resistente.
SRX26381650	Sensitive	Ninguno
SRX26381651	Missense	Rif, Iso, Etam
SRX26381652	Missense	Mox, Lev, Rif, Etam, Bed, Clo, Str, Eti, Kan
SRX26381653	Frameshift	Str
SRX26381655	Missense	Str, Iso
SRX26381656	Sensitive	Ninguno
SRX26381657	Non coding transcript exon	Str, Kan, Cap, Ami
SRX26381658	Missense	Ofl, Mox, Lev, Flu, Cip, Str, Rif, Iso, Eta, Pir
SRX26381659	Missense	Rif, Iso
SRX26381660	Non coding transcript exon	Str
SRX26381661	Missense	Ofl, Mox, Lev, Flu, Cip
SRX26381662	Non coding transcript exon	Str.

Missense

Missense y Frameshift

CONCLUSIONES

- 12/14 muestras presentan mutaciones significativas relacionadas con respuestas (principalmente respecto a la resistencia) ante fármacos.
- Resistencia a estreptomicina.
- Con el paso de los años, las bacterias han obtenido una resistencia cada vez más potente ante fármacos..
- Las herramientas bioinformáticas permiten el análisis exhaustivo de variantes o SNPs.

FUENTES DE INFORMACIÓN

- [Arrigoni et al., 2022] Arrigoni, R., Ballini, A., Topi, S., Bottalico, L., Jirillo, E., and Santacroce, L. (2022). Antibiotic resistance to mycobacterium tuberculosis and potential use of natural and biological products as alternative anti-mycobacterial agents. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(10), 1431. https://doi.org/10.3390/antibiotics11101431.
- [Chai et al., 2018] Chai, Q., Zhang, Y., and Liu, C. H. (2018). Mycobacterium tuberculosis: An adaptable pathogen associated with multiple human diseases. Frontiers in cellular and infection microbiology, 8, 158. https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00158.
- [Dees et al., 2017] Dees, J., Momsen, J. L., Niemi, J., and Montplaisir, L. (2017). Student interpretations of phylogenetic trees in an introductory biology course. CBE—Life Sciences Education Vol. 13, No. 4. https://doi.org/10.1187/cbe.14-01-0003.
- [Ghosh et al., 2020] Ghosh, A., N., S., and Saha, S. (2020). Survey of drug resistance associated gene mutations in mycobacterium tuberculosis, eskape and other bacterial species. *Scientific reports*, 10(1), 8957. https://doi.org/10.1038/s41598-020-65766-8.
- [Hiltemann et al., 2023] Hiltemann, S., Rasche, H., and Soranzo, N. (2023). A short introduction to galaxy. https://training.galaxyproject.org/training-material/topics/introduction/tutorials/galaxy-intro-short/slides-plain.html. Galaxy Training!

FUENTES DE INFORMACIÓN

- [Martinez and Baquero, 2000] Martinez, J. L. and Baquero, F. (2000). Mutation frequencies and antibiotic resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(7):1771–1777. DOI: 10.1128/aac.44.7.1771-1777.2000.
- [NCBI, 2017] NCBI (2017). Mycobacterium tuberculosis h37rv, complete genome. http://www.ncbi.nlm. nih.gov/nuccore/NC_000962.3. (accessed 2023-06-01).
- [NCBI, 2019] NCBI (2019). WGS of pulmonary tuberculosis isolates: Sputum sra. https://www.ncbi.nlm. nih.gov/sra/SRX2638164[accn]. (accessed 2023-06-01).
- [Qin, 2019] Qin, D. (2019). Next-generation sequencing and its clinical application. Cancer biology & medicine, 16(1), 4–10. https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2018.0055.
- [van Heusden et al., 2023] van Heusden, P., Gladman, S., and Lose, T. (2023). M. tuberculosis variant analysis. https://training.galaxyproject.org/training-material/topics/variant-analysis/tutorials/tb-variant-analysis/tutorial.html. Galaxy Training!