

APLICACIONES DE LAS CIENCIAS ÓMICAS EN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y LA METAGENÓMICA

Ruth Mélida
Sánchez Mora



UNIVERSIDAD COLEGIO
MAYOR DE CUNDINAMARCA
SELLO EDITORIAL

APLICACIONES DE LAS CIENCIAS ÓMICAS
EN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO
Y LA METAGENÓMICA

RUTH MÉLIDA SÁNCHEZ MORA. MSc. Ph. D.

Grupo Biotecnología y Genética UCMC

Bacterióloga y Laboratorista Clínico

Maestría en Genética Humana

Doctora en Biotecnología

Correo: mnsanchezm@universidadmayor.edu.co

APLICACIONES DE LAS CIENCIAS ÓMICAS EN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y LA METAGENÓMICA



**UNIVERSIDAD COLEGIO
MAYOR DE CUNDINAMARCA**

SELLO EDITORIAL

Catalogación en la publicación – Biblioteca Nacional de Colombia

Sánchez Mora, Ruth Mélida, autora

Aplicaciones de las ciencias ómicas en el diagnóstico clínico y la metagenómica / Ruth Mélida Sánchez Mora. -- Bogotá: Sello Editorial Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, 2025.

264 páginas.

Incluye datos curriculares de la autora -- Incluye glosario -- Incluye referencias bibliográficas.

ISBN 978-958-5198-51-7 -- 978-958-5198-50-0 (e-book)

1. Bioinformática - Investigaciones - Estudio de casos 2. Biología computacional - Investigaciones - Estudio de casos 3. Metagenómica - Investigaciones 4. Enfermedades genéticas - Diagnóstico 5. Epidemiología clínica - Estudio de casos

CDD: 570.285 ed. 23

CO-BoBN- a1157111

© RUTH MÉLIDA SÁNCHEZ MORA

© UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

Sello Editorial Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Carrera 13 No. 38- 29, Edificio San Juan, noveno piso

selloeditorial@unicolmayor.edu.co

www.unicolmayor.edu.co

ISBN: ISBN: 978-958-5198-51-7

ISBN e-book: 978-958-5198-50-0

Queda prohibida la reproducción parcial o total de este libro por cualquier proceso reprográfico o fónico, especialmente por fotocopia, microfilme, offset o mimeógrafo.

Ley 23 de 1982

Corrección de estilo: Delio David Arango Navarro

Diagramación electrónica: Yaneth Guarín A.

Diseño de portada: Vanessa Peña A.

Impresión: GRUPO EDITORIAL IBÁÑEZ

PREFACIO

En el campo de la medicina actual, el diagnóstico ha experimentado una revolución sin precedentes gracias al avance de las ciencias ómicas y de la metagenómica. En este contexto, el presente libro titulado *Aplicaciones de las ciencias ómicas en el diagnóstico clínico y la metagenómica*, emerge como una guía imprescindible para comprender y aplicar estas innovadoras herramientas en el campo del diagnóstico clínico y microbiológico.

Dividido en dos partes fundamentales, este libro aborda, en primer lugar, las aplicaciones de las ciencias ómicas en el diagnóstico, explorando detalladamente la genómica, la transcriptómica, la proteómica y la metabolómica. A través de un análisis exhaustivo, se desglosan las aplicaciones en diagnóstico de enfermedades genéticas, infecciosas y crónicas.

En la segunda parte, el enfoque se dirige hacia la metagenómica, una disciplina que ha transformado radicalmente el entendimiento de los microbiomas y su impacto en la salud humana y ambiental. Desde sus fundamentos hasta sus aplicaciones más avanzadas, este libro ofrece una panorámica completa de la metagenómica y su papel en el diagnóstico clínico microbiológico, destacando su relevancia en la identificación de microorganismos, la resistencia antimicrobiana y el análisis de microbiomas.

Esta obra constituye una herramienta para estudiantes, investigadores y profesionales de la salud interesados en profundizar sus conocimientos sobre las ciencias ómicas y la metagenómica aplicada al diagnóstico clínico. Con una sólida base y ejemplos teóricos, este libro proporciona las herramientas necesarias para abordar los desafíos diagnósticos más complejos de este siglo.

El libro aborda temas de interés y está actualizado con literatura científica de vanguardia. Por ello, se espera que sea recibido con entusiasmo por la comunidad académica y profesional y que contribuya significativamente al avance de la medicina diagnóstica en beneficio de la salud y el bienestar de la humanidad.

CONTENIDO

PREFACIO	7
-----------------------	----------

CAPÍTULO 1. APLICACIONES DE LAS CIENCIAS ÓMICAS EN EL DIAGNÓSTICO

1.	INTRODUCCIÓN	21
2.	DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y ÓMICAS	22
2.1.	DEL DOGMA CENTRAL A LAS ÓMICAS.....	25
3.	LA GENÓMICA EN DIAGNÓSTICO CLÍNICO	26
3.1.	SECUENCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO (WGS).....	29
3.2.	ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO (GWAS).....	29
3.3.	SECUENCIACIÓN DEL EXOMA (WES).....	30
3.4.	SECUENCIACIÓN DIRIGIDA	31
3.5.	GENÓMICA EN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES GENÉTICAS	32
3.5.1.	<i>ENFERMEDADES HEREDITARIAS</i>	32
3.5.2.	<i>ENFERMEDADES RARAS</i>	34
3.5.3.	<i>ENFERMEDADES GENÉTICAS ADQUIRIDAS</i>	35
3.6.	GENÓMICA Y ENFERMEDADES INFECCIOSAS	37
3.7.	RESISTENCIA BACTERIANA	38
4.	TRANSCRIPTÓMICA EN DIAGNÓSTICO CLÍNICO.....	39
4.1.	EXPRESIÓN GÉNICA.....	42
4.2.	EXPRESIÓN GÉNICA DIFERENCIAL.....	42
4.3.	REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA	43
4.4.	BIOMARCADORES TRANSCRIPTÓMICOS	43
4.5.	TRANSCRIPTÓMICA EN ENFERMEDADES GENÉTICAS.....	44

4.5.1.	<i>ENFERMEDADES HEREDITARIAS</i>	45
4.5.2.	<i>ENFERMEDADES RARAS.....</i>	47
4.5.3.	<i>ENFERMEDADES GENÉTICAS ADQUIRIDAS</i>	48
4.6.	TRANSCRIPTÓMICA EN ENFERMEDADES INFECCIOSAS.....	50
4.6.1.	<i>RESISTENCIA BACTERIANA.....</i>	50
5.	APLICACIONES DE LA PROTEÓMICA EN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO ..	51
5.1.	ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO	52
5.2.	EL DESCUBRIMIENTO DE BIOMARCADORES Y SU IMPORTANCIA EN EL DIAGNÓSTICO	53
5.3.	BIOMARCADORES Y PROTEÓMICA	55
5.4.	PROTEÓMICA EN DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES GENÉTICAS.....	57
5.4.1.	<i>ENFERMEDADES HEREDITARIAS</i>	58
5.4.2.	<i>ENFERMEDADES RARAS.....</i>	59
5.4.3.	<i>ENFERMEDADES ADQUIRIDAS</i>	60
5.5.	PROTEÓMICA EN EL DIAGNÓSTICO EN ENFERMEDADES INFECCIOSAS...	61
5.5.1.	<i>RESISTENCIA MICROBIANA</i>	63
6.	APLICACIONES DE LA METABOLÓMICA EN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO	64
6.1.	REPROGRAMACIÓN METABÓLICA	65
6.1.1.	<i>METABOLÓMICA EN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO</i>	66
6.1.2.	<i>METABOLÓMICA DIRIGIDA Y NO DIRIGIDA</i>	67
6.1.3.	<i>FLUJO DE TRABAJO EN METABOLÓMICA.....</i>	68
6.2.	METABOLÓMICA EN ENFERMEDADES GENÉTICAS	71
6.2.1.	<i>METABOLÓMICA EN ENFERMEDADES GENÉTICAS ADQUIRIDAS Y ENFERMEDADES RARAS</i>	72
6.2.2.	<i>METABOLÓMICA Y ENFERMEDADES CRÓNICAS</i>	74
6.2.3.	<i>METABOLÓMICA Y BIOMARCADORES EN CÁNCER</i>	75
6.2.4.	<i>BIOMARCADORES METABOLÓMICOS EN DIABETES 2</i>	79
6.2.5.	<i>METABOLÓMICA EN DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES</i>	82
6.3.	METABOLÓMICA EN DIAGNÓSTICO EN ENFERMEDADES INFECCIOSAS ..	83

6.3.1.	<i>METABOLÓMICA EN RESISTENCIA ANTIMICROBIANA.....</i>	84
7.	OTRAS APLICACIONES DE LAS PRINCIPALES ÓMICAS	85
7.1.	ÓMICAS EN LA INDUSTRIA.....	85
7.2.	CIENCIAS ÓMICAS EN LA PRODUCCIÓN DE BIOFARMACÉUTICA	88
7.2.1.	<i>OPTIMIZACIÓN DE CEPAS CELULARES</i>	88
7.2.2.	<i>CARACTERIZACIÓN PROTEÓMICA EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA</i>	89
7.2.3.	<i>DESARROLLO DE BIOPROCESOS EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA</i>	91
7.3.	CIENCIAS ÓMICAS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA	92
7.3.1.	<i>AUTENTICIDAD Y PROCEDENCIA DE ALIMENTOS</i>	92
7.3.2.	<i>DESARROLLO DE ALIMENTOS FUNCIONALES</i>	94
7.4.	APLICACIONES DE LAS ÓMICAS EN ÁREAS DE BIOTECNOLOGÍA.....	96
7.5.	CIENCIAS ÓMICAS EN LA BIOTECNOLOGÍA VEGETAL	99
7.6.	ÓMICAS EN VETERINARIA.....	100
7.7.	ÓMICAS Y COMUNIDADES MICROBIANAS EN EL SUELO	102
7.8.	ÓMICAS EN LA BIOLOGÍA SINTÉTICA.....	103
8.	CONCLUSIONES	104
9.	REFERENCIAS.....	106

CAPÍTULO 2. IMPACTO DE LA METAGENÓMICA EN LA MICROBIOLOGÍA

1.	INTRODUCCIÓN	129
2.	GENERALIDADES DE LA METAGENÓMICA.....	130
2.1.	HISTORIA DE LA METAGENÓMICA	132
2.2.	ENFOQUES DE SECUENCIACIÓN Y FUNCIONALES DE LA METAGENÓMICA...	136
2.3.	ENFOQUES DE OTU Y ASV PARA ANALIZAR DATOS DE SECUENCIACIÓN...	138
2.4.	ECOLOGÍA MICROBIANA Y METAGENÓMICA.....	140
2.4.1.	<i>LA DIVERSIDAD GAMA.....</i>	141
2.4.2.	<i>LA DIVERSIDAD ALFA</i>	142
2.4.3.	<i>LA DIVERSIDAD BETA</i>	143
3.	ESTRATEGIAS DE SECUENCIACIÓN EN METAGENÓMICA.....	146

3.1.	SECUENCIACIÓN METAGENÓMICA NO DIRIGIDA (SHOTGUN).....	147
3.2.	SECUENCIACIÓN METAGENÓMICA DIRIGIDA (METATAXONÓMICA)	149
3.2.1.	<i>SECUENCIACIÓN DEL GEN 16S RIBOSOMAL RNA</i>	151
3.3.	METACÓDIGO DE BARRAS	154
3.4.	SECUENCIACIÓN DE METATRSCRIPTOMA	156
3.5.	ENFOQUE DE ANÁLISIS METAGENÓMICOS	157
3.6.	BIOINFORMÁTICA MICROBIANA: ANÁLISIS DE DATOS METAGENÓMICOS	159
3.6.1.	<i>FLUJO DE TRABAJO O PIPELINES EN METAGENÓMICA</i>	160
3.6.2.	<i>PROGRAMAS INFORMÁTICOS DE CÓDIGO ABIERTO</i>	161
3.6.3.	<i>LA MULTIPLEXACIÓN</i>	163
3.6.4.	<i>IDENTIFICACIÓN DE LA DIVERSIDAD BACTERIANA</i>	163
3.7.	PLATAFORMAS PARA ESTUDIOS METAGENÓMICOS	166
3.7.1.	<i>PLATAFORMA RAST</i>	166
3.7.2.	<i>PLATAFORMA MG-RAST</i>	167
3.7.3.	<i>PLACNETw</i>	167
3.8.	BASES DE DATOS UTILIZADAS EN ESTUDIOS METAGENÓMICOS.....	168
3.8.1.	<i>SILVA</i>	168
3.8.2.	<i>PROYECTO DE BASE DE DATOS RIBOSOMAL RDP</i>	169
3.8.3.	<i>GREENGENES</i>	169
3.8.4.	<i>METACYC</i>	169
3.8.5.	<i>KEGG</i>	170
3.8.6.	<i>IMG/M</i>	170
3.8.7.	<i>ENTEROBASE</i>	171
3.9.	OTROS RECURSOS GENÓMICOS O METAGENÓMICOS.....	171
4.	APLICACIONES DE LA METAGENÓMICA EN DIAGNÓSTICO CLÍNICO MICROBIOLÓGICO	172
4.1.	MICROBIOTA, MICROBIOMA Y DISBIOSIS	173
4.2.	METAGENÓMICA CLÍNICA Y DIAGNOSTICO MICROBIOLÓGICO..	175
4.2.1.	<i>MÉTODOS TRADICIONALES Y MOLECULARES EN LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA</i>	176
4.3.	ANÁLISIS METAGENÓMICO EN LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA.....	180

4.4.	ESTUDIOS METAGENÓMICOS EN DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS.....	182
4.5.	ESTUDIOS METAGENÓMICOS EN EL ANÁLISIS DE MICROBIOMAS	183
4.6.	ESTUDIOS DE METAGENÓMICA EN MICROBIOMAS EN INDIVIDUOS SANOS Y ENFERMOS	185
4.7.	ESTUDIOS METAGENÓMICOS SOBRE LA RESPUESTA DEL HUÉSPED MEDIANTE ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO.....	187
4.8.	ESTUDIOS METAGENÓMICOS EN APLICACIONES ONCOLÓGICAS.....	190
4.9.	METAGENÓMICA Y PRESENCIA DE VIROMAS	191
5.	METAGENÓMICAS Y RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS	192
5.1.	RESISTENCIA ANTIBACTERIANA (ABR)	192
5.2.	BASES GENÉTICAS DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS.....	194
5.2.1.	MUTACIÓN EN GENES RELACIONADOS CON LA RESISTENCIA	195
5.2.2.	TRANSFERENCIA DE GENES	196
5.3.	TIPOS DE RESISTENCIA BACTERIANA.....	198
5.3.1.	INTRÍNSECAS.....	198
5.3.2.	ADQUIRIDAS	198
5.3.3.	ADAPTATIVAS	199
5.4.	MECANISMOS RELACIONADOS CON LA RESISTENCIA BACTERIANA	200
5.4.1.	MODIFICACIÓN DEL OBJETIVO O MUTACIÓN.....	201
5.4.2.	REDUCCIÓN DE LA PERMEABILIDAD.....	203
5.4.3.	PREVENCIÓN DE LA LLEGADA DEL ANTIBIÓTICO AL OBJETIVO (EFFLUX PUMPS).....	204
5.4.4.	MODIFICACIONES DE LA MOLÉCULA ANTIMICROBIANA HIDROLASAS ENZIMAS INACTIVADORAS	205
5.4.5.	ALTERACIÓN METABÓLICA O AUXOTROFIA.....	207
5.4.6.	LAS PROTEÍNAS PROTECTORAS DEL OBJETIVO (TPP, POR SUS SIGLAS EN INGLÉS).....	207
5.4.7.	SISTEMAS DE AUTORREPARACIÓN	207
5.4.8.	CAMBIOS EN LA MORFOLOGÍA CELULAR.....	208
5.4.9.	PROTECCIÓN DEL BIOFILM	208
5.4.10.	CAMBIOS O EVASIÓN DE LOS SITIOS DIANA	212
5.5.	GENES DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS Y RESISTOMAS	212

5.6.	MÉTODOS PARA IDENTIFICAR BACTERIAS RESISTENTES	214
5.6.1.	<i>MÉTODOS CONVENCIONALES S PARA EVALUAR RESISTENCIA BACTERIANA</i>	215
5.6.2.	<i>MÉTODOS METAGENÓMICOS PARA EVALUAR RESISTENCIA BACTERIANA</i>	218
5.6.3.	<i>MÉTODOS DE METATRSCRIPTÓMICA PARA EVALUAR RESISTENCIA BACTERIANA</i>	219
5.6.4.	<i>VENTAJAS DE ENFOQUES METAGENÓMICOS Y METATRSCRIPTÓMICOS EN LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA</i>	222
5.6.5.	<i>IMPLEMENTACIÓN DE TÉCNICAS DE METAGENÓMICA Y METATRSCRIPTÓMICA EN ANÁLISIS DE RESISTENCIA</i>	224
6.	OTRAS APLICACIONES DE LA METAGENÓMICA.....	226
6.1.	METAGENÓMICA Y SU PAPEL EN LA MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL	226
6.2.	METAGENÓMICA Y DIVERSIDAD MICROBIANA EN SUELOS	226
6.3.	METAGENÓMICA EN AGUA.....	229
6.4.	METAGENÓMICA EN AIRE.....	231
6.5.	METAGENÓMICA EN AGRICULTURA	234
6.6.	METAGENÓMICA EN ANIMALES	236
7.	CONCLUSIONES	238
8.	REFERENCIAS.....	239
	GLOSARIO.....	255

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	<i>Enfoques utilizados por las ciencias ómicas en el diagnóstico</i>	23
Figura 2.	<i>Enfoque integrador de las ciencias ómicas en el diagnóstico, pronóstico y terapéutica de las enfermedades en humanos</i>	24
Figura 3.	<i>Dogma central y diversidad ómica</i>	26
Figura 4.	<i>Algunas técnicas y plataformas de NGS utilizadas en los diagnósticos genómicos.....</i>	28
Figura 5.	<i>Empresas que ofrecen tecnologías de captura de exoma para WES que son compatibles con Illumina</i>	31
Figura 6.	<i>Perfil transcriptómico para el diagnóstico clínico.....</i>	40
Figura 7.	<i>Transcriptómica en diagnóstico clínico: expresión y regulación génica, expresión diferencial y biomarcadores</i>	41
Figura 8.	<i>Flujo de trabajo en proteómica.....</i>	53
Figura 9.	<i>Funciones de los biomarcadores en el diagnóstico ómico</i>	54
Figura 10.	<i>Historial de publicaciones y predicción hasta 2025.....</i>	55
Figura 11.	<i>Proceso de desarrollo de biomarcadores. Datos ómicas y multiómicos.....</i>	56
Figura 12.	<i>Características de la reprogramación metabólica.....</i>	65
Figura 13.	<i>Diseño de estudio general para el flujo de trabajo de estudios en metabolómica.....</i>	68
Figura 14.	<i>Diseño de estudio general para el flujo de trabajo metabolómico dirigido.....</i>	69
Figura 15.	<i>Diseño de estudio general para el flujo de trabajo metabolómico no dirigido</i>	70
Figura 16.	<i>Caracterización de metabolitos en el flujo de trabajo metabolómico no dirigido</i>	71
Figura 17.	<i>Técnicas de Identificación de proteínas terapéuticas</i>	90
Figura 18.	<i>Ciencias ómicas y su relación con la biotecnología</i>	97
Figura 19.	<i>Contribuciones históricas al avance de la metagenómica.....</i>	133

Figura 20.	<i>Áreas de investigación en metagenómica y proyectos emergentes</i>	135
Figura 21.	<i>Clasificación y flujo de trabajo en metagenómica con diversas plataformas de secuenciación y herramientas bioinformáticas</i>	137
Figura 22.	<i>Análisis de diversidad y datos generados por NGS: OTU versus ASV.....</i>	139
Figura 23.	<i>Representación gráfica de la diversidad alfa, beta y gamma ..</i>	141
Figura 24.	<i>Aplicación de la tecnología mNGS no dirigida. Shotgun</i>	148
Figura 25.	<i>Tecnología de metagenómica dirigida o de ampliaciones</i>	150
Figura 26.	<i>Primer y localización en 16S ARNr</i>	152
Figura 27.	<i>Gen <i>rpoβ</i> subunidad β de la ARN polimerasa de <i>M. tuberculosis</i>.....</i>	153
Figura 28.	<i>Técnicas de secuenciación de ADN por códigos de barras: un enfoque metodológico avanzado.....</i>	155
Figura 29.	<i>Explorando la metagenómica: un enfoque integral</i>	158
Figura 30.	<i>Síntesis de ARN 16S en muestras ecológicas desde la extracción al análisis de datos.....</i>	164
Figura 31.	<i>Microbiota, microbioma y disbiosis.....</i>	174
Figura 32.	<i>Métodos tradicionales en laboratorios de microbiología infecciosa usados para la identificación de patógenos</i>	176
Figura 33.	<i>Técnicas moleculares utilizadas en metagenómica.....</i>	177
Figura 34.	<i>Usos de la mNGS en el diagnóstico clínico</i>	181
Figura 35.	<i>Trasplante fecal microbiano.....</i>	186
Figura 36.	<i>Estudios metagenómicos en respuesta huésped por análisis transcriptómico</i>	188
Figura 37.	<i>Efecto de las mutaciones en genes relacionados con la resistencia bacteriana</i>	196
Figura 38.	<i>Mecanismos de transferencia de genes en resistencia bacteriana..</i>	197
Figura 39.	<i>Mecanismos de resistencia bacteriana</i>	200
Figura 40.	<i>Anatomía de los biofilms: adhesión, maduración y dispersión celular en la producción de EPS.....</i>	209
Figura 41.	<i>Métodos convencionales para determinar la CMI.....</i>	217
Figura 42.	<i>Desafíos y problemas potenciales durante la implementación del perfilado metagenómico y metatranscriptómico</i>	225

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	<i>Diagnóstico de mutaciones específicas identificadas en enfermedades hereditarias a partir de las técnicas de secuenciación.....</i>	33
Tabla 2.	<i>Enfermedades hereditarias y variantes genéticas de riesgo detectables mediante WGS.....</i>	34
Tabla 3.	<i>Enfermedades raras que pueden ser diagnosticadas mediante WGS.....</i>	35
Tabla 4.	<i>Enfermedades adquiridas de origen genético y sus factores asociados</i>	36
Tabla 5.	<i>Agentes infecciosos de importancia clínica diagnosticados por secuenciación del genoma</i>	37
Tabla 6.	<i>Resistencia a antibióticos detectados por secuenciación del genoma.....</i>	38
Tabla 7.	<i>Aplicaciones de la transcriptómica en el diagnóstico de enfermedades</i>	46
Tabla 8.	<i>Estudios de perfiles del transcriptoma humano en FQ.....</i>	47
Tabla 9.	<i>Enfermedades raras que pueden ser diagnosticadas mediante transcriptómica.....</i>	48
Tabla 10.	<i>Enfermedades adquiridas que pueden ser diagnosticadas mediante transcriptómica.....</i>	49
Tabla 11.	<i>Diagnóstico de enfermedades hereditarias a partir de proteómica</i>	59
Tabla 12.	<i>Biomarcadores proteómicos presentes en algunas enfermedades raras</i>	60
Tabla 13.	<i>Enfermedades adquiridas de origen genético y sus biomarcadores de diagnóstico</i>	61
Tabla 14.	<i>Agentes infecciosos de importancia clínica diagnosticados por biomarcadores</i>	62
Tabla 15.	<i>Marcadores de resistencia en algunos patógenos.....</i>	63

Tabla 16.	<i>Enfermedades genéticas detectables mediante metabolómica</i>	73
Tabla 17.	<i>Metabolitos detectados en diferentes tipos de cáncer mediante metabolómica.....</i>	76
Tabla 18.	<i>Marcadores tumorales detectados en diferentes tipos de cáncer mediante metabolómica.....</i>	78
Tabla 19.	<i>Relación entre los metabolitos para diabetes tipo 2</i>	80
Tabla 20.	<i>Biomarcadores detectados mediante metabolómica en enfermedades cardiacas</i>	82
Tabla 21.	<i>Aplicaciones de las ómicas en la industria.....</i>	86
Tabla 22.	<i>Análisis metabolómico en alimentos para detectar marcadores moleculares</i>	93
Tabla 23.	<i>Aplicaciones de las ciencias ómicas en diferentes áreas de biotecnología</i>	98
Tabla 24.	<i>Biotecnología vegetal utilizando ómicas</i>	99
Tabla 25.	<i>Aplicaciones en comunidades microbianas en el suelo</i>	103
Tabla 26.	<i>Comparación de algunas plataformas y herramientas para análisis filogenético y funcional de metagenomas y microbiomas</i>	171
Tabla 27.	<i>Técnicas moleculares utilizadas en diagnostico microbiológico...</i>	178
Tabla 28.	<i>Investigaciones realizadas sobre el uso de mNGS en enfermedades infecciosas</i>	182
Tabla 29.	<i>Estudios de microbioma utilizando mNGS.....</i>	184
Tabla 30.	<i>Diferencias en el transcriptoma del huésped empleando técnicas de secuenciación de ARN para investigar las alteraciones en el transcriptoma.....</i>	189
Tabla 31.	<i>Ejemplos de bacterias con uno de sus mecanismos de resistencia a los antibióticos causadas por mutaciones</i>	202
Tabla 32.	<i>Mecanismos en bacterias y los antibióticos a los que han desarrollado resistencia</i>	203
Tabla 33.	<i>Familias de transportadores de e-flujo.....</i>	205
Tabla 34.	<i>Modificaciones de la molécula antimicrobiana enzimas que inactivan hidrolasas</i>	206
Tabla 35.	<i>Mecanismos de supervivencia de comunidades bacterianas ante antibióticos</i>	210

Tabla 36.	<i>Ejemplos de mecanismos de supervivencia de comunidades bacterianas frente a antibióticos</i>	211
Tabla 37.	<i>Enfoque metatranscriptómico en diferentes microorganismos</i>	214
Tabla 38.	<i>Bases de datos para resistencia a los antibióticos y su relación con los genes bacterianos</i>	214
Tabla 39.	<i>Técnicas convencionales, sus ventajas y desventajas</i>	216
Tabla 40.	<i>Técnicas metagenómicas</i>	218
Tabla 41.	<i>Presencia de EGMs por técnicas de metagenómica</i>	219
Tabla 42.	<i>Comparación de técnicas para caracterizar el nivel de expresión</i>	220
Tabla 43.	<i>Genes de resistencia a antibiótico</i>	222
Tabla 44.	<i>Implementación metagenómica para el perfilado de la resistencia a los antibióticos.....</i>	223
Tabla 45.	<i>Metagenómica y diversidad microbiana en suelos.....</i>	227
Tabla 46.	<i>Cambios observados en los microbiomas del suelo después de diferentes tipos de contaminación o alteraciones.....</i>	228
Tabla 47.	<i>Estudios y aplicaciones de la metagenómica en la evaluación de comunidades microbianas en distintos entornos acuáticos.....</i>	230
Tabla 48.	<i>Estudios y aplicaciones de la metagenómica en aire</i>	232
Tabla 49.	<i>Estudios y aplicaciones de la metagenómica en la evaluación de comunidades microbianas en agricultura</i>	235
Tabla 50.	<i>Estudios y aplicaciones de la metagenómica en la evaluación de comunidades microbianas en animales</i>	237

CAPÍTULO 1. APLICACIONES DE LAS CIENCIAS ÓMICAS EN EL DIAGNÓSTICO

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades humanas presentan una complejidad significativa y podrían beneficiarse de un enfoque de diagnóstico más exhaustivo que el actualmente empleado. El término *diagnóstico* se refiere a la identificación y determinación de la naturaleza o causa de una enfermedad, trastorno, problema o situación específica, este proceso implica la evaluación meticulosa, el análisis detallado y la recopilación precisa de datos relevantes (VOGESER y BENDT, 2023).

En el ámbito médico y en diversas disciplinas de la salud, el diagnóstico implica la identificación de una enfermedad o condición médica en un paciente, basándose en una cuidadosa consideración de los síntomas presentados, los exámenes clínicos, las pruebas médicas y las observaciones clínicas realizadas. El progreso notable en diversas tecnologías relacionadas con las ciencias ómicas ha respaldado este proceso facilitando la determinación precisa de la causa, naturaleza o estado de diversas enfermedades, a través del análisis minucioso de los datos proporcionados por las tecnologías ómicas.

En el ámbito de la investigación biológica, el concepto de *ómica* se concibió con el propósito de caracterizar y cuantificar de manera exhaustiva una amplia gama de moléculas biológicas presentes en muestras complejas. Este enfoque abarca, entre otras, diversas disciplinas como la genómica, que se centra en el estudio del ADN; la transcriptómica, que se ocupa del ARN; la proteómica, que se dedica al análisis de las proteínas; la metabolómica, que investiga las moléculas de bajo peso molecular; la epigenómica, que se enfoca en las modificaciones del ADN; la glucómica, que analiza los glucanos y la lipidómica, que se encarga de las moléculas anfífilas (VOGESER y BENDT, 2023).

Desde la perspectiva del diagnóstico clínico, la identificación de diversas subómicas no tiene un propósito específico, en otras palabras, se presupone que la información proveniente de varias áreas bioquímicas puede proporcionar un valor diagnóstico integral, superando las limitaciones de los biomarcadores individuales. Por tanto, en la actualidad se hace referencia al análisis multiómico (JEHAN *et al.*, 2020). Este enfoque implica la integración de datos provenientes

de diferentes disciplinas ómicas, lo que amplía las posibilidades de mejorar el diagnóstico, la comprensión, la prevención y el tratamiento de enfermedades. Además, los resultados obtenidos a través de los análisis multiómicos tienen el potencial de trascender el ámbito clínico, permitiendo avances significativos en campos como la biotecnología, la agricultura, las ciencias ambientales y la remediación (ASHENDEN *et al.*, 2024).

Además de su relevancia en el diagnóstico clínico, estas herramientas han posibilitado el progreso en áreas de investigación como las mencionadas anteriormente, asimismo, han contribuido significativamente a la comprensión de diversos temas en evolución y de los sistemas ecológicos (GREAVES *et al.*, 2019). Esta capacidad para abordar una amplia gama de disciplinas subraya el potencial transformador del análisis multiómico en el diagnóstico y en la investigación científica contemporánea (ASHENDEN *et al.*, 2024).

Así pues, las ciencias ómicas han transformado el campo del diagnóstico clínico. En este sentido, el presente capítulo tiene como objetivo presentar diversos progresos de las ómicas en el diagnóstico, al igual que sus avances en otras áreas como la industria y la biotecnología.

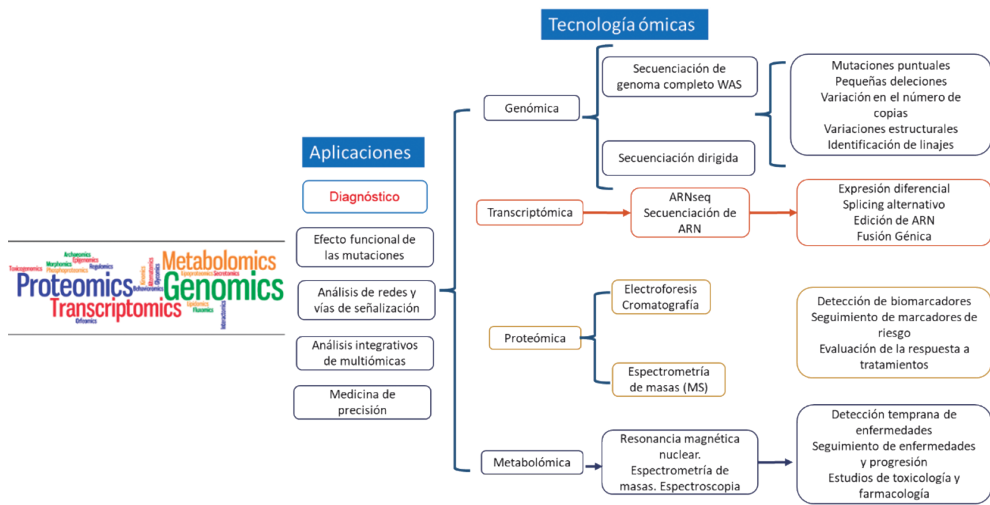
2. DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y ÓMICAS

En las últimas décadas, se ha optado por diversos enfoques en varios conjuntos de estudios para investigar la relación entre la fisiología y la fisiopatología funcional, y cómo estas contribuyen al diagnóstico de enfermedades (VOGESER y BENDT, 2023). En el campo del diagnóstico clínico, las tecnologías ómicas tienen el potencial de ser especialmente útiles en dos áreas clave: por un lado, está el descubrimiento de biomarcadores, aquí se implica la identificación de analitos como marcadores individuales, los cuales posteriormente pueden ser utilizados para diagnósticos, de manera similar a los análisis clásicos que se realizan en la actualidad mediante técnicas de laboratorio convencionales. Por otro lado, la lectura de firmas ómicas complejas presenta las dimensiones superiores de las muestras diagnósticas analizadas que se logran principalmente mediante datos obtenidos por tecnologías ómicas. Estas, en combinación con enfoques bioinformáticos y biomatemáticos que involucran reconocimiento de patrones e inteligencia artificial, permiten una clasificación del diagnóstico de manera más precisa y acertada.

Para varios investigadores, la premisa fundamental detrás de los métodos ómicos para el diagnóstico radica en la posibilidad de diagnosticar enfermedades complejas influenciadas por múltiples genes, con mayor precisión al identificar estas *firmas ómicas* (VOGESER y BENDT, 2023), lo que contrasta con los métodos de diagnóstico actuales, que se fundamentan en un solo marcador unidimensional.

Los análisis multiómicos facilitan el desarrollo de la medicina de precisión y la atención médica individualizada al fortalecer los diagnósticos clínicos. La **figura 1** presenta los principales enfoques ómicos disponibles en el diagnóstico, junto con una breve descripción de su aplicación, algunas de las tecnologías disponibles y el tipo de datos generados (CHETTY y BLEKHMANN, 2024).

Figura 1. Enfoques utilizados por las ciencias ómicas en el diagnóstico



Nota. La figura presenta un esquema de tecnologías ómicas y sus aplicaciones en el diagnóstico. Incluye áreas como la proteómica, la genómica, la transcriptómica y la metabolómica, mostrando la interconexión entre diferentes métodos y enfoques en el análisis molecular. Además, se visualiza cómo estas tecnologías se despliegan en distintos niveles y tipos de análisis para aplicaciones biomédicas.

El rápido crecimiento de las pruebas ómicas ha generado volúmenes masivos de datos, por lo cual los profesionales de la salud necesitan una formación sólida en estadística e interpretación para manejar esta avalancha de información, conocimiento que resulta crucial para comprender la amplitud y los resultados de la investigación ómica, e integrar estos datos en diagnósticos, tratamientos y estudios sobre las causas de las enfermedades a partir de análisis multiómicos (ASHENDEN *et al.*, 2024). Establecer nuevos modelos de colaboración entre académicos, hospitales y empresas de diagnóstico *in vitro* es esencial para certificar la calidad y estandarización de las pruebas clínicas (GREAVES *et al.*, 2019). La **figura 2** ilustra cómo las ciencias ómicas se integran para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de una variedad de enfermedades en humanos.

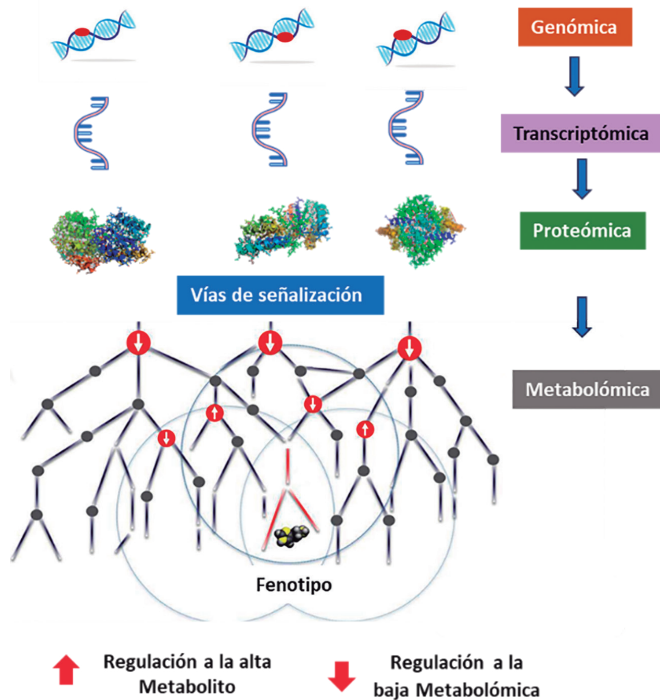
clínico y el asesoramiento genético, tanto de los pacientes como de sus familias. De este modo, desde la genómica hasta la metabolómica proporcionan datos valiosos en el diagnóstico clínico (KRIER *et al.*, 2016; PETERSEN *et al.*, 2017).

2.1. DEL DOGMA CENTRAL A LAS ÓMICAS

El dogma central de la biología, esencial para comprender la genética molecular, ha experimentado una redefinición y expansión significativas con la llegada de las tecnologías ómicas. Los datos recopilados en estos análisis han provocado una avalancha de descubrimientos, develando numerosas vías y redes en la biología celular y molecular que previamente permanecían sin explorar, los datos multiómicos son vitales para mejorar los diagnósticos, proporcionando una comprensión más profunda y completa de los procesos biológicos (CHETTY y BLEKHMANN, 2024).

El diagnóstico clínico ha experimentado avances significativos gracias al constante crecimiento en la comprensión del genoma humano y al estudio detallado del metabolismo (GREAVES *et al.*, 2019). Estos dos campos interconectados proporcionan una riqueza de información que no solo amplía la comprensión de las enfermedades y sus causas subyacentes, sino que también capacita al personal clínico para desarrollar tratamientos personalizados y altamente efectivos para los pacientes.

Mientras que los genes y las proteínas están sujetos a procesos epigenéticos reguladores y modificaciones postraduccionales, los metabolitos son productos bioquímicos finales que se encuentran más cerca del fenotipo. Las alteraciones en un solo gen o proteína pueden desencadenar una cascada de cambios en los metabolitos, que pueden aumentar o disminuir, y algunos pueden permanecer inalterados (**figura 3**). La metabolómica no dirigida tiene como objetivo perfilar de manera integral y sin sesgos los metabolitos para identificar cambios que se correlacionen con la función o el fenotipo celular (GREAVES *et al.*, 2019). A través de un metanálisis, es posible identificar alteraciones metabólicas compartidas entre múltiples modelos animales o diferentes modificaciones genéticas.

Figura 3. Dogma central y diversidad ómica

Nota. La figura muestra el flujo de información desde la genómica, transcriptómica, proteómica y metabolómica hacia la comprensión del fenotipo, ilustrando cómo las vías de señalización integran información molecular para determinar características fenotípicas. Las proteínas y los genes están sujetos a regulación, mientras que los metabolitos son productos finales más cercanos al fenotipo. Variaciones en genes o proteínas pueden desencadenar cambios en los metabolitos, representados en rojo y gris. Tomada y modificada de (GREAVES et al., 2019).

En el siguiente apartado se abordarán las principales ciencias ómicas y se destacarán algunos conceptos importantes en su aplicación en el diagnóstico clínico de enfermedades genéticas e infecciosas. Se mostrarán ejemplos de cómo estas disciplinas han contribuido a una comprensión más profunda de las enfermedades y han mejorado significativamente la precisión y personalización de los tratamientos médicos, fortaleciendo así la medicina de precisión.

3. LA GENÓMICA EN DIAGNÓSTICO CLÍNICO

La genómica representa la exploración más profunda y completa de los genes de un organismo, incluyendo su secuencia, estructura y función (Organización

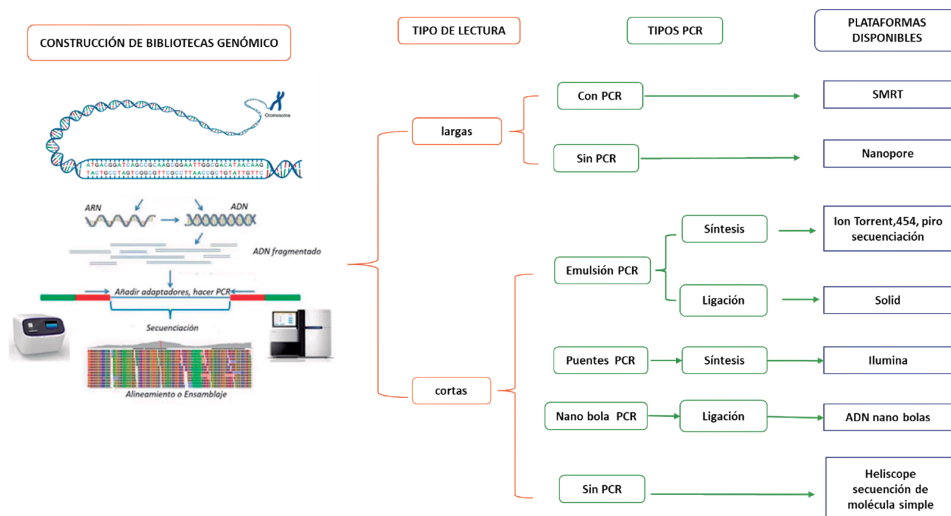
Mundial de la Salud [OMS], 2020). Esta disciplina ha desempeñado un rol esencial en la investigación científica y ha transformado radicalmente el panorama del diagnóstico clínico, ofreciendo alternativas para el tratamiento de diversas enfermedades (VIJAY *et al.*, 2016). De esta manera, la genómica, como una ciencia ómica, ha permitido a los profesionales de la salud adentrarse en la biología humana y ha redefinido la forma en que se comprenden y abordan principalmente las enfermedades genéticas (KARCZEWSKI y SNYDER, 2018).

La genómica ha experimentado avances significativos en el ámbito del diagnóstico clínico, se trata de una ciencia ómica que emplea metodologías genéticas y técnicas de biología molecular para el mapeo y secuenciación del ADN en grupos específicos de genes o en el conjunto completo de genes de organismos seleccionados. Además, implica la organización de estos resultados en bases de datos y su posterior aplicación en diversas áreas del conocimiento (GREAVES *et al.*, 2019).

Los avances tecnológicos, especialmente los nuevos sistemas de secuenciación han facilitado una variedad de proyectos de investigación que están proporcionando conocimientos para el diagnóstico de enfermedades. Más allá de la secuencia del ADN en sí, se han desarrollado ensayos para identificar modificaciones de los nucleótidos, analizar el estado de la cromatina, estudiar la organización nuclear y comprender la dinámica de estas características. Todo esto tiene como objetivo desarrollar plataformas que permitan un diagnóstico cada vez más preciso, lo que posibilita la utilización de información genómica integral en numerosas aplicaciones de investigación y atención médica individual (GREAVES *et al.*, 2019).

En la investigación genómica, la secuenciación de nueva generación (NGS) se ha establecido como una herramienta poderosa, la NGS tiene la capacidad de secuenciar simultáneamente millones de fragmentos de ADN, lo que proporciona información detallada sobre la estructura del genoma, las variaciones genéticas, la actividad genética y los cambios en el comportamiento de los genes. Esta tecnología se ha convertido en un recurso fundamental para investigadores de diversas disciplinas, desde la biología básica hasta el diagnóstico clínico (SATAM *et al.*, 2023). Han surgido numerosos avances en las técnicas de NGS que respaldan el diagnóstico, los cuales se presentan de manera resumida en la **figura 4**.

Figura 4. Algunas técnicas y plataformas de NGS utilizadas en los diagnósticos genómicos



Nota. Se muestra el proceso de secuenciación genética desde la extracción de ADN o ARN, seguida de la fragmentación y preparación mediante PCR, hasta el análisis de datos obtenidos tras la secuenciación. Se representan las etapas de alineamiento o ensamblaje y el flujo hacia diversas aplicaciones y análisis.

Los avances en NGS también han sido fundamentales para identificar variantes que causan enfermedades, descubrir nuevos objetivos farmacológicos y arrojar luz sobre fenómenos biológicos complejos, como la heterogeneidad de los tumores y los procesos de desarrollo en otras patologías: las enfermedades autoinmunes y el cáncer, por mencionar algunas (SATAM *et al.*, 2023).

Las técnicas de secuenciación del genoma completo (WGS, por sus siglas en inglés, Whole Genome Sequencing), la secuenciación del exoma (WES, por sus siglas en inglés, Whole Exome Sequencing) y la secuenciación dirigida son herramientas poderosas que permiten la identificación precisa de mutaciones y variantes genéticas específicas que pueden desempeñar un rol esencial en el desarrollo de enfermedades (COSTAIN *et al.*, 2021). Estas técnicas de secuenciación brindan la capacidad de explorar minuciosamente el material genético de un individuo, facilitando la detección de alteraciones genéticas asociadas con diversas condiciones médicas. Comprender estas mutaciones y variantes es esencial para el diagnóstico, la predicción de riesgos y el desarrollo de terapias personalizadas, lo que transforma la manera en que se abordan y tratan las enfermedades genéticas.

3.1. SECUENCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO (WGS)

La secuenciación por WGS abarca todos los genes, las regiones reguladoras y los elementos no codificantes del genoma de una persona, ofreciendo un modelo detallado de su composición genética. Su aplicación principal radica en descubrir regiones del genoma previamente no identificadas y se utiliza en investigaciones tanto en animales, plantas y en humanos. En el ámbito humano, se emplea para el diagnóstico del cáncer, enfermedades genéticas raras y en pacientes con síntomas de enfermedades complejas, así como en estudios de genética de poblaciones. Además, se utiliza extensamente en el ensamblaje de genomas novedosos de organismos, tanto eucariotas como procariotas (COSTAIN *et al.*, 2021).

El WGS permite identificar variaciones genéticas que van desde polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) hasta cambios estructurales más significativos, como inserciones, deleciones y reordenamientos, al secuenciar todo el genoma de un organismo. La abundante información obtenida mediante el WGS tiene numerosas aplicaciones en diversas áreas (COSTAIN *et al.*, 2021). Dependiendo del tamaño del genoma, el WGS utiliza la secuenciación de genoma completo grande, que descifra genomas de más de 5 Mb, como los de los eucariotas o la secuenciación de genoma completo pequeño, que generalmente descifra genomas de menos de 5 Mb, como los de los procariotas (SATAM *et al.*, 2023). Cada una de estas técnicas implica la construcción de una biblioteca genómica y una amplificación específica del ADN antes de la secuenciación, como se mostró en la **figura 4**.

En el diagnóstico clínico, se prefiere la secuenciación de lectura corta para la identificación de mutaciones, mientras que en los ensamblajes de genomas, se opta por la secuenciación de lectura larga. En la secuenciación de genomas novedosos, la combinación de secuenciación de lectura corta y larga se ha utilizado con éxito para lograr un ensamblaje genómico preciso sin depender de una secuencia de referencia (COSTAIN *et al.*, 2021). Este enfoque interdisciplinario en la secuenciación del exoma nos brinda una visión profunda de las complejidades genéticas, ofreciendo un terreno fértil para la exploración científica y el avance en la medicina genómica.

3.2. ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO (GWAS)

Son investigaciones genéticas que analizan las variaciones en todo el genoma de un gran número de individuos para identificar variantes genéticas asociadas con enfermedades o rasgos específicos. En un GWAS, los investigadores analizan miles o incluso millones de marcadores genéticos en el genoma de personas afectadas por una enfermedad y personas sanas para identificar diferencias significativas en la frecuencia de alelos específicos (variantes genéticas). Estos

estudios han sido fundamentales para identificar variantes genéticas asociadas con diversas enfermedades complejas, como enfermedades cardíacas, diabetes tipo 2, enfermedades autoinmunes y trastornos neuropsiquiátricos.

La metodología ofrece la posibilidad de complementar los análisis de secuenciación del genoma, utilizados para identificar variantes patogénicas. Al hacerlo, supera algunas de las restricciones de dichos estudios y mejora la probabilidad de realizar diagnósticos precisos en pacientes (COSTAIN *et al.*, 2021). Los GWAS han ampliado la comprensión sobre la base genética de muchas enfermedades y han proporcionado información importante para la indagación biomédica y el progreso de terapias personalizadas.

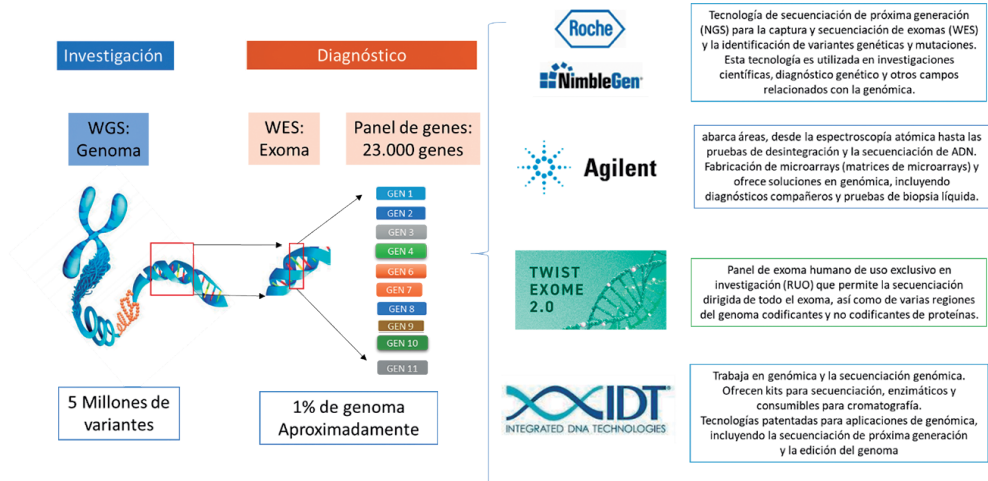
3.3. SECUENCIACIÓN DEL EXOMA (WES)

El exoma se ha definido tradicionalmente como la secuencia, incluye los exones de los genes codificantes de proteínas en el genoma, abarcando aproximadamente entre el 1 % y el 2 % del genoma, dependiendo de la especie. También puede ampliarse para incluir elementos codificantes no proteicos funcionales, como microARN y ARN no codificante intergénico largo, entre otros, así como *loci* candidatos específicos (COSTAIN *et al.*, 2021).

El exoma contiene la totalidad de las variantes conocidas que causan enfermedades. Las variaciones genéticas dentro de los genes codificadores de proteínas, como las variantes de un solo nucleótido (SNV), inserciones, eliminaciones y variaciones del número de copias (CNV), pueden encontrarse mediante la secuenciación del exoma a través de la WES. Esta técnica es una alternativa económica a la secuenciación del genoma completo (WGS) y se utiliza para identificar variantes en genética poblacional, cáncer y enfermedades clínicas raras (RABBANI y MAHDIEH, 2014).

La WES es un método de secuenciación que se enfoca en capturar y secuenciar los exomas, que son las regiones codificantes de proteínas del genoma. Existen dos categorías principales de tecnología para capturar el exoma: la basada en soluciones y la basada en matrices (WARR *et al.*, 2015). La WES enriquece las regiones exónicas mediante la captura híbrida o técnicas de amplificación específicas del objetivo, seguidas de una secuenciación de alto rendimiento. Los ensayos de captura de exoma de NimbleGen, Agilent, Illumina, Twist e IDT son compatibles con la plataforma NGS de Illumina (WARR *et al.*, 2015; SATAM *et al.*, 2023). Dado que la WES es una parte de la WGS, el método bioinformático utilizado para analizar los datos es el mismo (**figura 5**).

Figura 5. Empresas que ofrecen tecnologías de captura de exoma para WES que son compatibles con Illumina



Nota. Se compara la secuenciación de genoma completo (WGS) y de exoma (WES) en investigación y diagnóstico, mostrando herramientas como paneles de genes para identificar variantes genéticas. Incluye tecnologías de empresas como Roche, Agilent, Twist Exome y IDT, destacando sus aplicaciones en la detección de variantes y mutaciones para investigaciones y diagnósticos genómicos.

Es importante destacar que el análisis bioinformático de los datos de WES, siendo parte integral de la WGS, sigue siendo crucial para entender completamente el significado de estas variaciones (SATAM *et al.*, 2023). Este enfoque interdisciplinario en la secuenciación del exoma nos brinda una visión profunda de las complejidades genéticas, ofreciendo un terreno fértil para la exploración científica y el avance en la medicina genómica.

3.4. SECUENCIACIÓN DIRIGIDA

La secuenciación dirigida, como su nombre indica, tiene un alcance de exploración menor que la WGS o la WES, ya que se enfoca en regiones específicas del genoma, sin embargo, esta técnica es capaz de detectar una variedad de variaciones genéticas, desde SNV hasta pequeñas deleciones, duplicaciones, inserciones o reordenamientos en genes relacionados con fenotipos de enfermedades (SATAM *et al.*, 2023).

Las ventajas de la secuenciación dirigida incluyen su rentabilidad y la generación de datos más manejables para los médicos, lo que facilita la toma de decisiones clínicas basadas en información específica sobre la enfermedad. Además, este

enfoque puede proporcionar una cobertura mucho más profunda, alcanzando hasta 5.000 veces, lo que permite la detección de alelos genéticamente raros y clones mutantes poco comunes que pueden surgir debido a la heterogeneidad tumoral o a la evolución de la enfermedad en el cáncer (AKDEMIR *et al.*, 2020). Este enfoque en genes específicos ofrece la posibilidad de identificar de manera más precisa las alteraciones genéticas relacionadas con una enfermedad, lo que puede ser de gran utilidad en el diagnóstico y tratamiento médico.

Los proyectos de WGS y WES realizados a gran escala en poblaciones suelen dar lugar a la identificación de genes candidatos o a la disponibilidad de paneles específicos que son accesibles comercialmente (**figura 5**). Tanto las variantes de línea germinal como las variantes somáticas pueden ser evaluadas mediante el uso de paneles de NGS específicos (AKDEMIR *et al.*, 2020). Estos paneles específicos se enriquecen selectivamente mediante la amplificación utilizando grupos de cebadores oligonucleotídicos específicos de una región particular del genoma (AKDEMIR *et al.*, 2020). Las bibliotecas generadas son luego secuenciadas y sometidas a análisis bioinformático para identificar y caracterizar las variantes genéticas de interés.

Este enfoque de paneles específicos permite un análisis más dirigido y eficiente de las variantes genéticas de interés, lo que es especialmente útil en la investigación genómica y en la detección de variantes relacionadas con enfermedades específicas para su diagnóstico.

3.5. GENÓMICA EN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES GENÉTICAS

La genómica se ha convertido en una herramienta invaluable en la identificación de las causas subyacentes de las enfermedades genéticas, lo que ha abierto nuevas perspectivas para el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de estas afecciones. En este apartado presentaremos algunos ejemplos de cómo la genómica está revolucionando nuestro enfoque en el diagnóstico de las enfermedades genéticas y cómo esta revolución está abriendo puertas hacia un futuro más prometedor en la medicina personalizada y la salud humana.

3.5.1. ENFERMEDADES HEREDITARIAS

Las técnicas de secuenciación WGS, WES y la secuenciación dirigida son tecnologías que ha permitido descifrar la información genética contenida en el ADN de un individuo (KRIER *et al.*, 2016; PETERSEN *et al.*, 2017). Esta información genética es crucial porque influye directamente en la predisposición a enfermedades hereditarias, que son una afección médica causada por una alteración o mutación en los genes de una persona que se transmite de una

generación a otra a través de la herencia (CLAUSSNITZER *et al.*, 2020), estas enfermedades son el resultado de cambios en la secuencia de ADN que afectan la función normal de uno o varios genes (JACKSON *et al.*, 2018).

Existen diferentes tipos de enfermedades hereditarias, y pueden manifestarse de diversas maneras, desde enfermedades raras y graves hasta trastornos más comunes y menos graves. Las enfermedades hereditarias pueden ser autosómicas dominantes, autosómicas recesivas, ligadas al sexo o tener otros patrones de herencia, lo que significa que la forma en que se transmiten de una generación a otra puede variar (JACKSON *et al.*, 2018). A través de estas técnicas, es posible identificar mutaciones genéticas que pueden aumentar el riesgo de enfermedades hereditarias transmitidas de generación en generación o incluso de aquellas que pueden surgir debido a mutaciones espontáneas en el ADN en la **tabla 1** se presentan ejemplos de algunas de estas mutaciones.

Tabla 1. *Diagnóstico de mutaciones específicas identificadas en enfermedades hereditarias a partir de las técnicas de secuenciación*

Enfermedad	Gen	Mutación Causante	Referencia
Fibrosis quística	CFTR	Diversas mutaciones	(LÓPEZ-VALDEZ <i>et al.</i> , 2021)
Enfermedad de Huntington	HTT	Expansión triplete CAG	(DONALDSON <i>et al.</i> , 2021)
Anemia de células falciformes	HBB	Mutación HbS	(ADEKILE <i>et al.</i> , 2021)
Distrofia muscular de Duchenne	DMD	Mutaciones puntuales	(VENUGOPAL y PAVLAKIS, 2023)
Síndrome de Marfan	FBN1	Mutaciones puntuales	(MUÑOZ SANDOVAL <i>et al.</i> , 2014)
Fenilcetonuria	PAH	Diversas mutaciones	(ELHAWARY <i>et al.</i> , 2022)

Por otro lado, la identificación de variantes genéticas asociadas con enfermedades hereditarias es de suma importancia para la salud de un individuo y su familia, debido a que estas variantes pueden aumentar el riesgo de desarrollar enfermedades (MARIAN, 2020). Es relevante destacar que las variantes genéticas de riesgo no garantizan que una persona desarrolle la enfermedad, pero sí pueden incrementar la susceptibilidad (MOMOZAWA y MIZUKAMI, 2021), además, la predisposición a enfermedades es un proceso multifactorial que puede depender de la interacción entre múltiples genes y factores ambientales (BOOKSHELVES, 2021).

La WGS ofrece información valiosa que contribuye a comprender mejor el riesgo genético y a tomar medidas preventivas apropiadas (KRIER *et al.*, 2016). Cuando se detectan estas variantes, los médicos y consejeros genéticos pueden brindar asesoramiento personalizado acerca de las medidas preventivas y el manejo de riesgos específicos para cada paciente (KRIER *et al.*, 2016; MARIAN, 2020). La **tabla 2** presenta una lista de algunas enfermedades hereditarias y las variantes genéticas de riesgo asociadas que se pueden detectar mediante estas técnicas de secuenciación.

Tabla 2. *Enfermedades hereditarias y variantes genéticas de riesgo detectables mediante WGS*

Enfermedad	Variante Genética de Riesgo	Referencia
Cáncer de mama	BRCA1, BRCA2	(De TALHOUET <i>et al.</i> , 2020)
Enfermedad de Alzheimer	APOE ε4	(PARK <i>et al.</i> , 2021)
Diabetes tipo 2	TCF7L2, HNF1A	(FLOREZ <i>et al.</i> , 2006; MIYACHI <i>et al.</i> , 2022)
Cáncer de colon	APC	(MIYACHI <i>et al.</i> , 2022)
Enfermedad cardiovascular	APOB, PCSK9	(ARAGAM <i>et al.</i> , 2022)
Esclerosis múltiple	HLA-DRB1	(ALCINA <i>et al.</i> , 2012)
Diabetes tipo 1	HLA-DQ	(STICHT <i>et al.</i> , 2021)
Lupus eritematoso sistémico	HLA-DR	(HA <i>et al.</i> , 2022)

3.5.2. *ENFERMEDADES RARAS*

La genómica también ha revolucionado la forma en que comprendemos y abordamos las enfermedades raras, así como la detección de variantes genéticas patogénicas y la identificación de portadores. Las enfermedades raras son trastornos genéticos que afectan a un número limitado de personas en la población, y a menudo son difíciles de diagnosticar y tratar debido a su rareza y complejidad. La genómica, en particular la NGS ha proporcionado una herramienta esencial para el diagnóstico de estas enfermedades (GONZAGA-JÁUREGUI y ZEPEDA MENDOZA, 2021).

Muchas enfermedades raras son recesivas, lo que significa que una persona solo desarrolla la enfermedad si hereda mutaciones patogénicas de ambos padres. Las pruebas genéticas permiten identificar a individuos portadores

de una mutación, lo que es relevante para las parejas que desean tener hijos. La genómica brinda información crucial para tomar decisiones informadas sobre la planificación familiar y minimizar el riesgo de que los hijos hereden la enfermedad (XIAO y LAUSCHKE, 2021). A continuación, se presenta un cuadro (tabla 3) que ilustra ejemplos de enfermedades raras que se pueden identificar mediante estas técnicas de secuenciación. Estas enfermedades, debido a su rareza y, a menudo complejidad diagnóstica, han encontrado en la genómica una herramienta invaluable para un diagnóstico preciso (RAMOS-FUENTES *et al.*, 2020).

Tabla 3. *Enfermedades raras que pueden ser diagnosticadas mediante WGS*

Enfermedad rara	Genes asociados	Referencias
Síndrome de Alport	COL4A3, COL4A4, COL4A5	(KASHTAN, 1993)
Síndrome de Rett	MECP2	(LIYANAGE y RASTEGAR, 2014)
Fibrosis poliquística renal	PKD1, PKD2	(LAKHIA <i>et al.</i> , 2022)
Síndrome de Prader-Willi	SNRPN, MKRN3,	(BUTLER <i>et al.</i> , 2019; Mariani <i>et al.</i> , 2022)
Síndrome de Angelman	UBE3A	(GREER <i>et al.</i> , 2010)
Atrofia muscular espinal	SMN1, SMN2	(CHEN <i>et al.</i> , 2023)
Síndrome de Marfan	FBN1	(MUÑOZ SANDOVAL <i>et al.</i> , 2014)
Síndrome de Ehlers-Danlos	COL5A1, COL1A1	(MIKLOVIC y SIEG, 2023)
Síndrome de Ondine	PHOX2B	(KWON <i>et al.</i> , 2011)
Síndrome de Cockayne	ERCC6, ERCC8	(LAUGEL <i>et al.</i> , 2010)

3.5.3. *ENFERMEDADES GENÉTICAS ADQUIRIDAS*

Las enfermedades adquiridas de origen genético son afecciones médicas que tienen una base genética, pero no son heredadas de los padres. En cambio, se desarrollan a lo largo de la vida de un individuo debido a cambios genéticos que ocurren después de la concepción, generalmente como resultado de mutaciones somáticas (ISHIDA *et al.*, 2023). Estas enfermedades plantean desafíos únicos en la investigación, ya que a menudo muestran una heterogeneidad genética y clínica compleja que surge de mecanismos genéticos desconocidos (FU *et al.*, 2023)

Las mutaciones somáticas son cambios en el ADN que se producen en las células del cuerpo después de la etapa embrionaria y no se transmiten a la descendencia. Estas mutaciones pueden afectar a una célula o a un grupo de

células en un tejido específico y, a medida que estas células se dividen y se replican, las mutaciones pueden acumularse, lo que lleva al desarrollo de una enfermedad adquirida de origen genético (ISHIDA *et al.*, 2023; MILES y TADI, 2023). Es importante destacar que estas enfermedades son el resultado de mutaciones que ocurren en el transcurso de la vida de una persona debido a diversos factores, como la exposición a sustancias químicas o ambientales, la radiación, el envejecimiento y otros procesos biológicos (**tabla 4**) (BENTON *et al.*, 2021).

Tabla 4. *Enfermedades adquiridas de origen genético y sus factores asociados.*

Grupo de Enfermedades	Descripción	Ejemplo. Enfermedad-genes	Referencias
Cáncer	Las mutaciones somáticas en genes reguladores del crecimiento celular pueden llevar al desarrollo de diversos tipos de cáncer.	Cáncer de mama Genes BRCA1 BRCA2	(AKDEMIR <i>et al.</i> , 2020; GODET y GILKES, 2017)
Enfermedades neurodegenerativas	Tienen una base genética, pero no se heredan en el sentido clásico. Las mutaciones somáticas pueden desempeñar un papel en su desarrollo.	Alzheimer Gen APP	(MILLER <i>et al.</i> , 2022; PROUKAKIS, 2020)
Trastornos hematológicos	Enfermedades como leucemias pueden ser causadas por mutaciones somáticas en las células madre de la sangre.	Leucemia mieloide aguda Gen FLT3	(ZHAO <i>et al.</i> , 2023; PIPPA y ODERO, 2014)
Enfermedades autoinmunitarias	Afecciones autoinmunitarias, pueden estar influenciadas por factores genéticos adquiridos a lo largo del tiempo.	Artritis reumatoide Gen PTPN22	(CARMONA y MARTÍN, 2018; RAMOS <i>et al.</i> , 2015)
Enfermedades metabólicas	La genética puede contribuir a la predisposición, pero factores como la obesidad, la dieta poco saludable y la falta de actividad física son determinantes clave en su desarrollo.	Diabetes tipo 2 Gen TCF7L2	(BARROSO y MCCARTHY, 2019; DEL BOSQUE-PLATA <i>et al.</i> , 2021)
Enfermedades cardiovasculares	Mutaciones somáticas en genes relacionados con el metabolismo del colesterol y la inflamación pueden predisponer a enfermedades cardíacas.	Enfermedad aterosclerosis Gen PCSK9	(GAI <i>et al.</i> , 2021; HEIMLICH y BICK, 2022)

3.6. GENÓMICA Y ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Uno de los principales beneficios de las técnicas de secuenciación genómica de agentes infecciosos es su capacidad para identificar de manera específica y rápida bacterias, hongos, virus y parásitos responsables de una infección. En lugar de depender de cultivos tradicionales que pueden llevar días o semanas, la secuenciación del genoma permite a los médicos y microbiólogos analizar directamente el material genético de las muestras clínicas, lo que acelera el proceso de diagnóstico (Ko *et al.*, 2022). La **tabla 5** revela algunos ejemplos de agentes infecciosos que pueden ser identificados y diagnosticados mediante secuenciación del genoma.

Tabla 5. Agentes infecciosos de importancia clínica diagnosticados por secuenciación del genoma

Tipo de Agente Infeccioso	Ejemplos	Referencia
Bacterias	<i>Escherichia coli</i>	(F. CHEN <i>et al.</i> , 2021)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	(RESLANE <i>et al.</i> , 2021)
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	(MEEHAN <i>et al.</i> , 2019)
	<i>Salmonella enteritidis</i>	(HU <i>et al.</i> , 2021)
	<i>Helicobacter pylori</i>	(MUÑOZ-RAMÍREZ <i>et al.</i> , 2017)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(J.-W. CHEN <i>et al.</i> , 2018)
Hongos	<i>Candida albicans</i>	(ODDS <i>et al.</i> , 2004)
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	(BARBER <i>et al.</i> , 2021)
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	(WONGSUK <i>et al.</i> , 2020)
	<i>Trichophyton rubrum</i>	(ZHENG <i>et al.</i> , 2020)
Virus	Influenza A virus (H1N1, H3N2, etc.)	(RAVINA <i>et al.</i> , 2021)
	Virus de la inmunodeficiencia humana (HIV)	(PAI <i>et al.</i> , 2020)
	Hepatitis B (HBV)	(GARCIA-GARCIA <i>et al.</i> , 2021)
	Papillomavirus (HPV)	(VAN DER WEELE <i>et al.</i> , 2017)
	Herpes Simplex (HSV)	(LASSALLE <i>et al.</i> , 2020)
Parásitos	<i>Plasmodium falciparum</i>	(TEYSSIER <i>et al.</i> , 2021)
	<i>Entamoeba histolytica</i>	(PAUL <i>et al.</i> , 2007)
	<i>Toxoplasma gondii</i>	(YUCESAN <i>et al.</i> , 2021)
	<i>Trypanosoma cruzi</i>	(HERREROS-CABELLO <i>et al.</i> , 2020)
	<i>Leishmania donovani</i>	(DOMAGALSKA <i>et al.</i> , 2019)

3.7. RESISTENCIA BACTERIANA

En el contexto de una atención médica, la sepsis grave y el *shock* séptico siguen presentando una tasa de mortalidad que varía entre el 20 % y el 40 %. La creciente resistencia a los antibióticos incrementa de manera significativa el riesgo de fallecimiento en estas condiciones. Con el propósito de desarrollar un conjunto de datos de referencia que facilite la identificación de objetivos bacterianos comunes para su abordaje terapéutico, se han utilizado estas disciplinas ómicas a aislados clínicos de patógenos responsables de la sepsis (*Escherichia coli*, el complejo de especies de *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*). Se ha demostrado cómo la exposición al suero humano dio lugar a una firma molecular característica de la sepsis que se manifestó mediante incrementos globales en la biosíntesis y el metabolismo de ácidos grasos y lípidos, hallazgos coherentes con la remodelación de la envoltura celular y la adaptación nutricional para la osmoprotección.

Además, se observó la adquisición de colesterol en todas las especies bacterianas. Estos conjuntos de datos de referencia se han establecido como un recurso de acceso público para diseñar y respaldar la investigación y el progreso en el ámbito de la sepsis y su tratamiento (MU *et al.*, 2023).

La **tabla 6** ofrece unos ejemplos de agentes infecciosos y genes de resistencia a antibióticos que pueden ser detectados mediante secuenciación del genoma, destacando la importancia y el uso de cada una de estas ómicas en los diagnósticos de enfermedades infecciosas. Además, esta técnica es esencial para abordar la creciente preocupación de la resistencia a los antibióticos, puesto que la secuenciación genómica revela si un patógeno en particular lleva genes de resistencia a antibióticos. Esto es crucial para la elección adecuada de los tratamientos antimicrobianos y ayuda a evitar el uso innecesario de antibióticos que puede contribuir al desarrollo de cepas resistentes (BOOLCHANDANI *et al.*, 2019).

Tabla 6. Resistencia a antibióticos detectados por secuenciación del genoma

Patógeno	Antibióticos	Genes de resistencia detectados	Referencias
<i>Escherichia coli</i>	Ciprofloxacino	gyrA y parC	(VANSTOKSTRAETEN <i>et al.</i> , 2023)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Meticilina (MRSA)	mecA	(TAXT <i>et al.</i> , 2020)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Isoniazida	katG e inhA	(TSENG <i>et al.</i> , 2015)

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Carbapenémicos	KPC, NDM y OXA	(CAMARGO <i>et al.</i> , 2023)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cefalosporinas de tercera generación	AmpC y ESBLs	(IRUM <i>et al.</i> , 2021)
<i>Streptococcus sp.</i>	Penicilina	pbp1a, pbp2b y pbp2x	(PICCINELLI <i>et al.</i> , 2017)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Azitromicina	mtrR y porB	(KUEAKULPATTANA <i>et al.</i> , 2021)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Colistina	MCR1	(SOBIEH <i>et al.</i> , 2023)
<i>Enterococcus sp</i>	Vancomicina	vanA y vanB	(MOOSAVIAN <i>et al.</i> , 2018)

4. TRANSCRIPTÓMICA EN DIAGNÓSTICO CLÍNICO

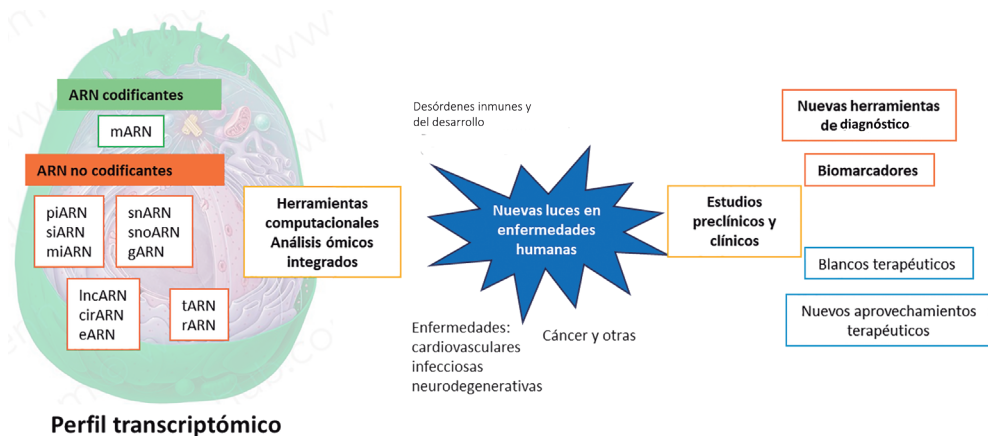
La transcriptómica, una rama esencial de la genómica, ha surgido como una disciplina fundamental en el campo del diagnóstico clínico. Esta tecnología revolucionaria se enfoca en los patrones de expresión génica a nivel de ARN, ofreciendo una visión única del funcionamiento molecular de los organismos. Al analizar la transcripción génica, la transcriptómica proporciona una comprensión detallada de cómo se regulan los genes, ya sea activándose o desactivándose en condiciones normales y patológicas. Implica el estudio global de los ARN mensajeros presentes en una célula en un momento específico, a menudo realizado mediante RNA-Seq (secuenciación de ARN, por sus siglas en inglés) (BYRON *et al.*, 2016). Esto permite el análisis de patrones de expresión génica a gran escala, ofrece una visión detallada de la actividad génica y facilita los avances en las técnicas de diagnóstico clínico.

Comprender el transcriptoma es esencial para poder interpretar los elementos funcionales del genoma, lo que permite revelar los constituyentes moleculares de las células y tejidos, y también para comprender el desarrollo y la enfermedad (BYRON, 2013). Los objetivos clave de la transcriptómica son: catalogar todas las especies de transcritos, incluidos los ARNm, los ARN no codificantes y los ARN pequeños; determinar la estructura transcripcional de genes en términos de sus sitios de inicio, extremos 5' y 3', patrones de empalme y otras modificaciones postranscripcionales y cuantificar los niveles de expresión cambiantes de cada transcripción durante el desarrollo y en diferentes condiciones (CASAMASSIMI *et al.*, 2017).

En las últimas décadas, el perfilado de transcriptomas ha surgido como uno de los enfoques más empleados para investigar las enfermedades humanas a nivel molecular. A través de estudios de expresión, se han identificado numerosos biomarcadores moleculares y dianas terapéuticas para diversas patologías

humanas (CASAMASSIMI *et al.*, 2017). Estos estudios siguen creciendo gracias a la secuenciación del ARN total que permite obtener un perfil proteómico más detallado (**figura 6**). De hecho, esta tecnología innovadora ha transformado por completo el análisis del transcriptoma, permitiendo cuantificar los niveles de expresión génica y la expresión específica de alelos en un solo experimento, además, ha facilitado la identificación de genes novedosos, isoformas de empalme, transcripciones de fusión y ha abierto la puerta a investigaciones sin precedentes en el mundo de los ARN no codificantes (BYRON, 2013).

Figura 6. Perfil transcriptómico para el diagnóstico clínico



Nota. Se muestra el papel del ARN codificante y no codificante en el descubrimiento de nuevas perspectivas sobre enfermedades humanas. Incluye el uso de herramientas computacionales y análisis ómicos integrados para desarrollar diagnósticos, biomarcadores, estudios clínicos, blancos terapéuticos y nuevos enfoques terapéuticos. Dentro de la figura: desórdenes y diagnóstico deben llevar tilde

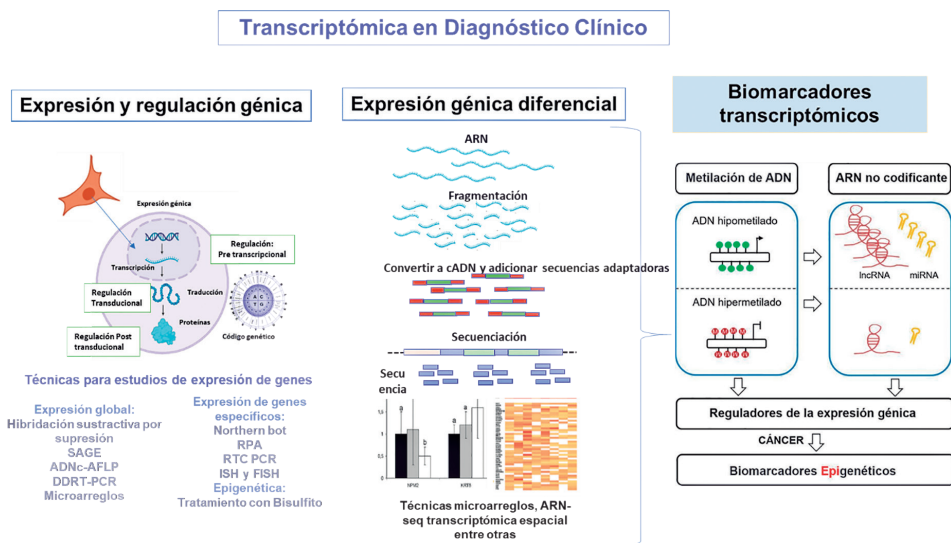
Las técnicas de secuenciación de ARN (ARN-seq) se han empleado en proyectos importantes como ENCODE y el proyecto del Atlas del Genoma del Cáncer (TCGA) con el objetivo de proporcionar perfiles transcriptómicos de docenas de líneas celulares y miles de muestras de tumores primarios (CASAMASSIMI *et al.*, 2017). Es importante resaltar que la ARN-seq permite identificar los genes que muestran una expresión excesiva y aquellos que se encuentran silenciados en una muestra.

Un ejemplo ilustrativo de dos enfermedades causadas por la sobreexpresión y la inhibición de genes que se han caracterizado mediante estudios de ARN-seq es la sobreexpresión del gen PDK1 que está relacionada con la enfermedad del riñón poliquístico (WORTMANN *et al.*, 2022).

Por otro lado, en el caso de enfermedades originadas por la inhibición de genes, se ha observado que la reducción en la expresión de RARS2 en la sangre se asocia con un retraso global del desarrollo, convulsiones, microcefalia, hipotonía y escoliosis progresiva (WORTMANN *et al.*, 2022).

Además, estos estudios han allanado el camino para el desarrollo de enfoques de integración de datos, facilitando la gestión y el análisis de datos e identificando nuevos marcadores de enfermedades y objetivos moleculares para la clínica. La **figura 7** muestra la importancia de la transcriptómica y los usos de las diferentes técnicas empleadas en procesos fundamentales para el diagnóstico clínico.

Figura 7. Transcriptómica en diagnóstico clínico: expresión y regulación génica, expresión diferencial y biomarcadores



Nota. La imagen aborda el uso de la transcriptómica en el diagnóstico clínico, destacando tres áreas: la expresión y regulación génica, la expresión génica diferencial y los biomarcadores transcriptómicos. Muestra las técnicas empleadas para estudiar la expresión de genes, la regulación de la expresión a nivel epigenético mediante metilación del ADN y ARN no codificante, y su relación con enfermedades como el cáncer. Los biomarcadores transcriptómicos se presentan como herramientas clave para el diagnóstico basado en la regulación de la expresión génica.

En el ámbito del diagnóstico clínico, es fundamental comprender la expresión génica, la expresión diferencial y la regulación génica. La regulación genética, que involucra una red compleja de elementos de control como promotores, *enhancers* y factores de transcripción, modula estas expresiones diferenciales. La transcriptómica

tiene aplicaciones amplias en el diagnóstico clínico, ofreciendo nuevas perspectivas para la detección temprana de enfermedades, la identificación de biomarcadores precisos y la personalización de tratamientos médicos (BYRON, 2013).

4.1. EXPRESIÓN GÉNICA

La expresión génica se refiere al procedimiento mediante el cual la información genética presente en el ADN se transforma en proteínas (proceso conocido como traducción) y en ARN funcional (VIJAY *et al.*, 2016), este proceso es fundamental para regular las funciones celulares y sintetizar proteínas. Las ciencias ómicas analizan cuidadosamente la expresión génica en busca de biomarcadores específicos de enfermedades. Tanto los organismos procariotas como los eucariotas utilizan la información codificada en su ADN para producir proteínas, como enzimas, hormonas y componentes estructurales (VIJAY *et al.*, 2016), proteínas que son vitales para llevar a cabo diversas funciones biológicas. Comprender el proceso de expresión génica es esencial para la biología y la genética, ya que arroja luz sobre cómo los genes influyen en las características y funciones de los seres vivos tanto a nivel patológico como normal.

4.2. EXPRESIÓN GÉNICA DIFERENCIAL

La expresión génica diferencial implica variaciones en la actividad génica entre diferentes condiciones o estados celulares, ofreciendo información crucial sobre cómo las enfermedades afectan la expresión de genes de manera única. Este proceso consiste en comparar la cantidad relativa de expresión de genes entre distintas condiciones o grupos de muestra, como células sanas y células enfermas (BYRON, 2013) y se lleva a cabo mediante técnicas como el análisis de microarreglos o ARN-seq para identificar genes cuya expresión varía significativamente entre las muestras.

En el diagnóstico de enfermedades, se pueden comparar los perfiles de ARN de tejidos sanos y enfermos, identificando patrones de expresión genética específicos asociados con las enfermedades, esta información es vital para diagnosticar enfermedades en etapas tempranas y determinar posibles estrategias de tratamiento (BYRON, 2013). Los análisis se utilizan para diagnosticar diversas enfermedades, incluyendo el cáncer y enfermedades cardiovasculares (CASAMASSIMI *et al.*, 2017). La transcriptómica facilita la adaptación de los planes de tratamiento a pacientes individuales basándose en sus perfiles de expresión genética, optimizando así los resultados terapéuticos en la medicina personalizada.

4.3. REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA

El proceso de regulación génica gobierna cómo los genes son transcritos y regulados, lo que tiene un impacto directo en las funciones celulares y el desarrollo de organismos multicelulares. La expresión génica está estrictamente regulada para permitir que los organismos se adapten a su entorno y a las demandas metabólicas (VIJAY *et al.*, 2016). La integración de la transcriptómica y la regulación en la expresión génica ha transformado el diagnóstico clínico, ofreciendo perspectivas profundas para el diagnóstico de enfermedades.

La regulación en la expresión de genes implica una red compleja de elementos de control, como promotores, *enhancers* y factores de transcripción, que modulan estas expresiones diferenciales. Los análisis transcriptómicos utilizan técnicas avanzadas como la RNA-Seq para analizar estos patrones con precisión, lo que permite el descubrimiento de firmas moleculares específicas de enfermedades (CASAMASSIMI *et al.*, 2017).

Entender detalladamente cómo las redes de regulación génica son moduladas en condiciones patológicas es fundamental para el diagnóstico clínico. Desde la identificación de genes clave hasta la evaluación de las vías de señalización implicadas, los investigadores pueden desentrañar las complejidades moleculares que son fundamentales para el desarrollo de terapias dirigidas y estrategias de tratamiento más efectivas (CASAMASSIMI *et al.*, 2017). En el ámbito clínico, el análisis transcriptómico permite identificar patrones de expresión génica específicos asociados con enfermedades, proporcionando biomarcadores precisos para diagnósticos tempranos y personalizados.

4.4. BIOMARCADORES TRANSCRIPTÓMICOS

Los biomarcadores transcriptómicos son herramientas esenciales que aprovechan la información de expresión génica para mejorar la investigación, el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades. Estos biomarcadores se basan en la identificación de patrones de expresión génica, lo que implica analizar qué genes se activan o desactivan en respuesta a una enfermedad o a ciertas condiciones biológicas (BARZAMAN *et al.*, 2020). Su capacidad para proporcionar una visión profunda de la biología molecular de una enfermedad los convierte en recursos valiosos en la atención médica moderna.

Estos biomarcadores transcriptómicos pueden utilizarse para la detección temprana de enfermedades. Al comparar los perfiles de expresión génica en muestras de pacientes con los de individuos sanos, es posible identificar señales moleculares que sugieran la presencia de una enfermedad en sus etapas iniciales (BARZAMAN *et al.*, 2020). También se utilizan para el diagnóstico y el pronóstico

de enfermedades, pueden ayudar a diferenciar entre subtipos de enfermedades y predecir la evolución de la enfermedad en un paciente, indicando qué tratamientos serán más eficaces para un paciente en función de su perfil de expresión génica (CASAMASSIMI *et al.*, 2017). Esto conduce a un tratamiento más preciso y menos invasivo, además, después de iniciar un tratamiento, también pueden utilizarse para evaluar la respuesta del paciente y ajustar el tratamiento en consecuencia.

Para identificar biomarcadores transcriptómicos, se utilizan tecnologías como la ARN-seq y microarreglos de expresión génica, que permiten medir la cantidad de ARN producido por cada gen en una muestra (CASAMASSIMI *et al.*, 2017). La transcriptómica puede ayudar en la identificación de mutaciones genéticas responsables de enfermedades genéticas raras y también puede contribuir a la comprensión y el manejo de enfermedades autoinmunes.

4.5. TRANSCRIPTÓMICA EN ENFERMEDADES GENÉTICAS

Las tecnologías de NGS, especialmente la RNA-seq, pueden aplicarse en las pruebas de diagnóstico genético, ofreciendo flexibilidad, sensibilidad y precisión sin precedentes en las mediciones de expresión genética. Además, la diversidad de especies de ARN permite medir simultáneamente transcripciones raras, variantes de empalme y especies de ARN no codificantes (CASAMASSIMI *et al.*, 2017). Este alcance diverso de las especies de ARN en RNA-seq está ganando relevancia, especialmente en el contexto del cáncer.

Esta tecnología también proporciona la detección directa de ARN de genes fusionados y variantes de empalme en secuencias de ARN de líneas celulares oncogénicas específicas, como EGFR y el receptor de andrógenos, que son relevantes desde el punto de vista pronóstico y terapéutico. A diferencia de herramientas como los microarreglos y la qRT-PCR, que son plataformas cerradas con una detección y medición de transcripciones claramente definidas, la RNA-seq es una plataforma abierta por naturaleza (CASAMASSIMI *et al.*, 2017).

La capacidad de RNA-seq para identificar transcripciones novedosas puede plantear desafíos en la interpretación clínica, similar a las “variantes de significado desconocido” encontradas en la secuenciación clínica del ADN genómico. Sin embargo, es crucial establecer y estandarizar métodos para evaluar la reproducibilidad, exactitud y precisión en diversas condiciones clínicamente relevantes, facilitando así la adopción de las pruebas RNA-seq en el laboratorio clínico (BYRON *et al.*, 2016).

La falta de evidencia funcional dificulta la interpretación de variantes, lo que deja a una gran proporción de personas con un trastorno mendeliano sospechoso sin diagnóstico genético después de GWAS o WES (WORTMANN *et al.*, 2022).

Los estudios de investigación apuntan por secuenciar aún más los transcriptomas para investigar directa y sistemáticamente los defectos de expresión génica. Sin embargo, todavía se necesita la recopilación de datos adicionales y el establecimiento de flujos de trabajo de laboratorio, procesos analíticos y conceptos definidos en la interpretación clínica de la expresión genética aberrante para adoptar la RNA-seq en los diagnósticos de rutina.

El efecto de las variantes sin sentido no siempre es sencillo, ya que pueden provocar un empalme aberrante, un plegamiento incorrecto de la proteína o niveles de expresión anormales (ABDELLAOU *et al.*, 2023). Esto último podría ser el resultado de un desequilibrio, donde el alelo mutante se expresa más alto que el alelo de tipo salvaje, lo que provoca una presentación aparentemente dominante (variante heterocigótica) de un trastorno recesivo. Se requieren WES (o preferiblemente WGS) para identificar variantes intrónicas y regulatorias, en combinación con estudios cuantitativos de ARN para detectar AEI.

El análisis de ARN también se puede utilizar para estudiar genes o vías reguladas hacia arriba o hacia abajo, del mismo modo que la proteómica puede proporcionar información sobre las redes de interacción de proteínas en enfermedades genéticas (WORTMANN *et al.*, 2022).

Nuevamente, otras técnicas pueden ayudar a confirmar la patogenicidad. Se ha demostrado que RNA-seq adicional puede mejorar el rendimiento diagnóstico entre un 10 % y un 16 % en comparación con ES solo y puede integrarse a costos y tiempos de respuesta razonables (Abdellaou *et al.*, 2023). El valor diagnóstico de integrar datos proteómicos con datos genómicos, transcriptómicos y fenotípicos de 145 individuos se demostró en un estudio sobre individuos sospechosos de tener una enfermedad mitocondrial y se logró una resolución genética del 21 % en casos WES negativos (WORTMANN *et al.*, 2022).

Aunque la RNA-seq todavía se centra en el nivel genético, los análisis funcionales adicionales pueden ayudar en la interpretación de variantes, especialmente para errores del metabolismo. En cuanto a los análisis genéticos, estas técnicas ómicas se basan en encontrar “valores atípicos” y necesitan compararse con una cohorte de control de tamaño suficiente (WORTMANN *et al.*, 2022).

4.5.1. ENFERMEDADES HEREDITARIAS

A través de la transcriptómica, se ha logrado un avance significativo en la identificación de marcadores transcriptómicos asociados a enfermedades hereditarias. Esta poderosa herramienta permite detectar biomarcadores que no solo arrojan luz sobre la predisposición genética a estas enfermedades,

sino que también ofrecen información valiosa sobre su desarrollo y progresión (CASAMASSIMI *et al.*, 2017). Para la interpretación precisa de las variantes en enfermedades hereditarias, es posible que los datos de la secuencia de ADN por sí solos no siempre sean suficientes. En algunos casos, la transcriptómica se realiza antes o simultáneamente con la WES para resaltar aquellos genes que muestran un perfil de transcripción aberrante. Es importante señalar que la elección del tejido utilizado para los estudios transcriptómicos podría afectar los resultados, ya que no todos los genes son igualmente relevantes ni se expresan en todos los tejidos (WORTMANN *et al.*, 2022)

La **tabla 7** presenta ejemplos algunas aplicaciones de la transcriptómica, resaltando así el potencial para revolucionar la comprensión y el abordaje de estas condiciones médicas hereditarias.

Tabla 7. *Aplicaciones de la transcriptómica en el diagnóstico de enfermedades*

Aplicaciones	Descripción	Referencia
Diagnóstico del cáncer	Se emplea para analizar los perfiles de expresión génica en las células, lo que ayuda a identificar marcadores genéticos específicos de ciertos tipos de cáncer. Esto permite un diagnóstico más preciso.	(ZUBAIR <i>et al.</i> , 2021)
Identificación de biomarcadores	Permite identificar ARNm específicos que pueden servir como biomarcadores para el diagnóstico temprano, la predicción del pronóstico y la monitorización de la progresión de la enfermedad.	(KATZEFF <i>et al.</i> , 2022)
Enfermedad coronaria	En las enfermedades cardiovasculares la transcriptómica se utiliza para el diagnóstico y tratamiento. Esto implica la identificación de factores genéticos y análisis de perfiles de expresión génica.	(GAI <i>et al.</i> , 2021)
Clasificación de subtipos de enfermedades	La transcriptómica ayuda a clasificar enfermedades en subtipos basados en patrones de expresión génica. Esto es crucial para una medicina personalizada, permite adaptar los tratamientos a los rasgos moleculares determinados de cada paciente.	(VIJAY <i>et al.</i> , 2016)
Evaluación de respuestas a tratamientos	Monitorizar los perfiles de expresión génica durante el tratamiento proporciona información sobre la eficacia y la resistencia terapéutica. Esto puede guiar ajustes en los regímenes de tratamiento para mejorar los resultados.	(ARYUTOVA <i>et al.</i> , 2021)

Una de las enfermedades genéticas hereditarias más documentadas es la fibrosis quística (FQ). El perfil del transcriptoma ha identificado genes clave asociados a la FQ que son relevantes para las vías defectuosas, para comprender mejor la compleja secuencia de eventos transcripcionales influenciados por la

disfunción del receptor de fibrosis quística (CFTR), se han realizado numerosos estudios utilizando enfoques de perfiles de transcriptoma de alto rendimiento (LÓPEZ-VALDEZ *et al.*, 2021).

La disrupción de las vías de señalización es profunda en la FQ, afectando a aquellas relacionadas con la transducción de señales y el sistema inmunológico. Los estudios de perfiles de transcriptoma humano en la FQ han arrojado luz sobre estos procesos. En la **tabla 8** se presentan algunos de los enfoques utilizados en el diagnóstico de CFTR.

Tabla 8. Estudios de perfiles del transcriptoma humano en FQ

Enfoque	Métodos	Vías clave enriquecidas	Referencia
Cambios transcripcionales influenciados por la variación genómica.	Sec. de ARN	Inflamación/señalización inflamatoria; respuesta inmune innata.	(POLINENI <i>et al.</i> , 2018)
FQ antes y después del tratamiento para la exacerbación.	Sec. de ARN	Enriquecimiento funcional no realizado; genes inflamatorios.	(JIANG <i>et al.</i> , 2019)
Cambios transcripcionales inducidos por plasma de FQ y sus fenotipos.	Microarreglos	Señalización E1F2, señalización de IL-8, receptor de células B, producción de óxido nítrico y especies reactivas de oxígeno.	(LEVY <i>et al.</i> , 2019)

4.5.2. ENFERMEDADES RARAS

Actualmente, las técnicas de transcriptómica, especialmente la RNA-seq, se utilizan para determinar las consecuencias de las variantes de ADN en las transcripciones de ARN, lo que mejora la tasa de diagnóstico en comparación con WGS y WES para enfermedades mendelianas no diagnosticadas o raras, que abarcan un amplio espectro de alteraciones clínicas. La tasa de diagnóstico molecular mediante WES o WGS fue del 31 % en enfermedades raras. La integración de RNA-seq con WGS ha mostrado un aumento en los casos adicionales con un diagnóstico claro de enfermedades genéticas raras (PETERSEN *et al.*, 2017; PEREIRA *et al.*, 2019), sin embargo, estudios recientes han revelado una tasa de diagnóstico molecular general de aproximadamente el 38 %. Además, el 18 % de todos los diagnósticos genéticos requiere una RNA-seq para determinar la causalidad de alguna variante rara (BYRON *et al.*, 2016).

En cohortes de enfermedades raras con un amplio espectro de condiciones genéticas sospechadas y no diagnosticadas, el análisis de RNA-seq aumenta

la tasa de diagnóstico molecular por encima de lo posible con solo WGS. En 2020, Lee *et al.* informaron cómo la RNA-seq se puede integrar con WGS para interpretar SNV y SV tanto exónicos como intrónicos, lo que aumenta significativamente la tasa de diagnóstico molecular para un amplio espectro de enfermedades mendelianas raras (LEE *et al.*, 2020). La **tabla 9** muestra algunas enfermedades raras diagnosticadas mediante transcriptómica.

Tabla 9. *Enfermedades raras que pueden ser diagnosticadas mediante transcriptómica*

Enfermedad rara	Genes Asociados	Referencias
Síndrome de Alport	COL4A3, COL4A4, COL4A5	(KASHTAN, 1993)
Síndrome de Rett	MECP2	(LIYANAGE Y RASTEGAR, 2014)
Fibrosis poliquística renal	PKD1, PKD2	(LAKHIA <i>et al.</i> , 2022)
Síndrome de Prader-Willi	SNRPN, MKRN3,	(BUTLER <i>et al.</i> , 2019; MARIANI <i>et al.</i> , 2022)
Síndrome de Angelman	UBE3A	(GREER <i>et al.</i> , 2010)
Atrofia muscular espinal	SMN1, SMN2	(CHEN <i>et al.</i> , 2023)
Síndrome de Marfan	FBN1	(MUÑOZ SANDOVAL <i>et al.</i> , 2014)
Síndrome de Ehlers-Danlos	COL5A1, COL1A1	(MIKLOVIC y SIEG, 2023)
Síndrome de Ondine	PHOX2B	(KWON <i>et al.</i> , 2011)
Síndrome de Cockayne	ERCC6, ERCC8	(LAUGEL <i>et al.</i> , 2010)

4.5.3. ENFERMEDADES GENÉTICAS ADQUIRIDAS

La transcriptómica, una rama fundamental de la genómica funcional, desempeña un papel crucial en nuestra comprensión de las enfermedades genéticas adquiridas. Esta disciplina analiza la actividad de los genes a nivel del ARN mensajero, lo que permite identificar patrones de expresión génica específicos asociados con enfermedades adquiridas. Al estudiar cómo las células afectadas regulan la expresión génica en respuesta a estos cambios, se pueden descubrir nuevos blancos terapéuticos y desarrollar tratamientos más precisos y efectivos para estas condiciones adquiridas, mejorando así la calidad de vida de los pacientes (**tabla 10**).

Tabla 10. *Enfermedades adquiridas que pueden ser diagnosticadas mediante transcriptómica*

Enfermedad adquirida	Biomarcadores Transcriptómicos	Descripción	Referencias
Diabetes tipo 2	Expresión anormal de genes relacionados con la insulina	La diabetes tipo 2 se define como un desorden metabólico que se manifiesta por la resistencia a la insulina y la presencia de altos niveles de glucosa en la sangre.	(DEL BOSQUE-PLATA <i>et al.</i> , 2021)
Enfermedad de Alzheimer	Cambios en la expresión génica en regiones cerebrales específicas	La enfermedad de Alzheimer es un trastorno neurodegenerativo que impacta en la memoria y otras habilidades cognitivas.	(PARK <i>et al.</i> , 2021)
Cáncer de pulmón	Mutaciones en genes reguladores del ciclo celular con tecnologías de meta-transcriptómica espacial.	El cáncer de pulmón es una forma de cáncer que se inicia en los pulmones y suele estar asociado al consumo de tabaco.	(WONG-ROLLE <i>et al.</i> , 2022)
Enfermedad de Parkinson	Disfunción en genes asociados con la dopamina por técnicas transcriptómicas en una célula	La enfermedad de Parkinson es un trastorno del sistema nervioso que impacta en el movimiento, provocando temblores y rigidez muscular.	(FERNANDES <i>et al.</i> , 2020)
Cáncer de mama	Expresión anormal de genes como BRCA1 y BRCA2	Es un tipo de cáncer maligno que se desarrolla en las células del tejido mamario y es el cáncer más prevalente en las mujeres, aunque también puede ocurrir en hombres en casos menos comunes.	GODET y GILKES, 2017).
Enfermedad de aterosclerosis	Cambios en la expresión génica relacionados con la acumulación de placa en las arterias con técnicas de secuenciación de ARN en una célula.	Se trata de una condición crónica y gradual en la que las arterias se vuelven rígidas y angostas debido a la acumulación de placa, compuesta principalmente por grasas, colesterol, calcio y otras sustancias.	(WILLIAMS <i>et al.</i> , 2020)

4.6. TRANSCRIPTÓMICA EN ENFERMEDADES INFECCIOSAS

La secuenciación metagenómica clínica de próxima generación (mNGS) representa un avance significativo en la investigación médica al permitir el análisis integral del material genético microbiano y del huésped (ADN y ARN) en muestras de pacientes (CHIU y MILLER, 2019). Este enfoque, que inicialmente se utilizaba en la investigación, ahora se está introduciendo rápidamente en los laboratorios clínicos, transformando los métodos con que los clínicos diagnostican y tratan enfermedades infecciosas.

Las aplicaciones de la transcriptómica son diversas y van desde la evaluación de la resistencia a los antimicrobianos hasta el estudio del microbioma, la exploración de la expresión genética del huésped humano (transcriptómica) y la oncología. En este contexto, los desafíos asociados con la implementación de mNGS en el laboratorio clínico será explorado en el próximo capítulo. Este avance tecnológico promete revolucionar nuestra comprensión y enfoque hacia las enfermedades, ofreciendo una diagnóstico y tratamiento médico más preciso y personalizado.

La transcriptómica ha revolucionado el diagnóstico de enfermedades infecciosas al proporcionar una comprensión detallada de la expresión génica en respuesta a las infecciones. Este enfoque avanzado permite el análisis simultáneo de miles de genes, revelando patrones distintivos de expresión génica asociados con enfermedades infecciosas. Estos patrones son esenciales para identificar biomarcadores específicos del huésped y del patógeno, lo que facilita un diagnóstico más preciso y temprano, además, la transcriptómica no solo ayuda en la detección, sino que también permite comprender las complejas interacciones genéticas y las respuestas del sistema inmune frente a los patógenos. Esta comprensión profunda no solo mejora la precisión del diagnóstico, sino que también guía el desarrollo de terapias personalizadas y estrategias de prevención, lo que es fundamental para abordar eficazmente las enfermedades infecciosas y mitigar su impacto en la salud pública.

4.6.1. RESISTENCIA BACTERIANA

La transcriptómica se utiliza en el estudio de la resistencia microbiana para entender los mecanismos moleculares que subyacen a la resistencia a los antimicrobianos. Al analizar los perfiles de expresión génica de microorganismos resistentes y sensibles, se puede identificar genes y vías de señalización que están asociados con la resistencia, esta información es crucial para el desarrollo de nuevos fármacos y estrategias terapéuticas para combatir las infecciones resistentes a los antimicrobianos (CHIU y MILLER, 2019).

El estudio del transcriptoma de la comunidad bacteriana ha revelado valiosa información sobre la resistencia a antibióticos y otras terapias en el contexto de enfermedades infecciosas, al analizar la actividad génica de las bacterias presentes en un entorno, como un tejido humano o un ecosistema específico, los científicos pueden identificar patrones de expresión génica relacionados con la resistencia a tratamientos antimicrobianos (CHIU y MILLER, 2019).

El enfoque transcriptómico no solo proporciona luces sobre los mecanismos moleculares que las bacterias utilizan para evadir los efectos de los antibióticos, sino que también ofrece posibles objetivos para el desarrollo de nuevas terapias y estrategias para superar la resistencia bacteriana (CHIU y MILLER, 2019). Al comprender cómo las bacterias se adaptan y responden a los tratamientos, los investigadores pueden informar el diseño de terapias más efectivas y contribuir significativamente a la lucha contra las infecciones resistentes a los medicamentos. La mayoría de los estudios metagenómicos en este campo se han centrado en analizar la composición de los microbiomas, tratando de establecer conexiones entre la abundancia o ausencia de ciertos microorganismos y el desarrollo resistencia, no obstante, aún son escasos los estudios que desentrañan las implicaciones funcionales de la actividad del microbioma (CHIU y MILLER, 2019).

En particular, existe una notable falta de investigaciones que evalúen estas implicaciones directamente, mediante el análisis del transcriptoma de la comunidad bacteriana. Las contribuciones de la metagenómica y la metatranscriptómica al entendimiento del entorno microbiano asociado con resistencia serán abordados en el último capítulo del libro. También se destacarán las ventajas significativas de la metatranscriptómica sobre la metagenómica y cómo este enfoque puede ser aprovechado para profundizar en nuestro conocimiento del entorno bacteriano en el contexto de la resistencia a los medicamentos.

5. APLICACIONES DE LA PROTEÓMICA EN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO

El proteoma se refiere al conjunto completo de proteínas que son expresadas a partir de la información genética de un organismo o una célula. La proteómica se dedica al estudio dinámico del proteoma de un organismo, analizando específicamente momentos particulares y condiciones específicas, como enfermedades; componentes ambientales y fisiológicos como el estrés, la edad, sustancias tóxicas y medicamentos (LEE *et al.*, 2021). Se puede ver como un conjunto de técnicas y herramientas altamente precisas que deben ser optimizadas y desarrolladas para su aplicación rutinaria, especialmente en la identificación de biomarcadores (RAI *et al.*, 2024; VELEZ y MAHAJAN, 2020).

Un proteoma típico puede abarcar varias decenas de miles de proteínas distintas que varían en sus concentraciones. En organismos eucariotas, como los

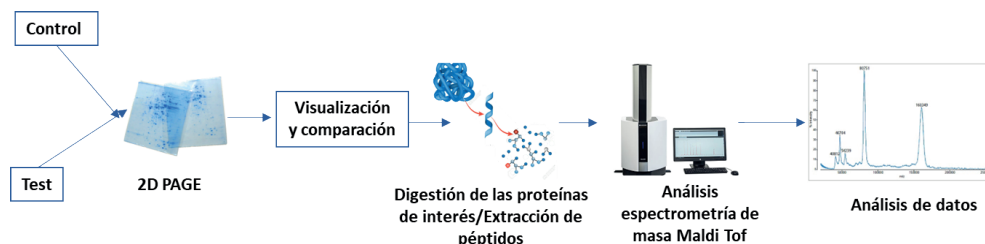
humanos, que tienen alrededor de 20.000 a 25.000 genes, el proceso de *splicing* alternativo de los precursores de ARN, que se produce durante la transcripción y la subsiguiente traducción de las diferentes isoformas de estas proteínas, agrega complejidad a la muestra (VELEZ y MAHAJAN, 2020). Cuando esto se combina con numerosas modificaciones postraduccionales (PTM), el número de proteínas únicas que podrían constituir el proteoma en organismos complejos podría exceder el millón.

El objetivo fundamental de la proteómica es analizar los proteomas y sus variaciones en diversas células de un tejido, con el fin de resaltar las diferencias entre ellas. A un nivel más detallado, uno de los principales propósitos de la proteómica es proporcionar información valiosa en el campo de la biomedicina sobre los cambios específicos en los perfiles de expresión de proteínas y los procesos asociados en diferentes estados celulares, ya sean saludables o patológicos (VELEZ y MAHAJAN, 2020). A largo plazo, esto tiene como finalidad facilitar el desarrollo de enfoques diagnósticos y terapéuticos más efectivos para las enfermedades.

5.1. ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Las ómicas relacionadas con la espectrometría de masas (EM), como la proteómica y la metabolómica se pueden dividir simplemente en dos categorías amplias de estudios dirigidos y no dirigidos. En los estudios no dirigidos se suelen analizar dos poblaciones y comparar los perfiles de MS utilizando sofisticados programas informáticos. Por lo general, se consideran herramientas de descubrimiento y se utilizan en el entorno de investigación (GREAVES *et al.*, 2019). Los estudios dirigidos, por otro lado, analizan los analitos “descubiertos” que son de interés clínico y para su traducción al flujo de trabajo de diagnóstico clínico. La **figura 8** muestra un diagrama de flujo para realizar un estudio proteómico.

Las aplicaciones de EM relacionadas con la bioquímica clínica, tanto dirigidas como no dirigidas, ahora abarcan desde compuestos tradicionales de pequeño peso molecular (metabolómica), con esteroides a veces descritos específicamente como esteroideonomía, hasta lípidos (lipidómica) y péptidos y proteínas (proteómica). Si bien se supone que se identificarán todos los analitos en su categoría respectiva, la realidad es que la preparación de la muestra, el rango analítico y la configuración del espectrómetro de masas influyen en el resultado (GREAVES *et al.*, 2019).

Figura 8. *Flujo de trabajo en proteómica*

Nota. El diagrama representa un flujo de trabajo en proteómica diferencial. Comienza con muestras control y test, que se analizan mediante electroforesis en gel bidimensional (2D PAGE) para visualizar y comparar proteínas. Luego, se realiza la digestión de proteínas seleccionadas para extraer péptidos, seguidos por el análisis de espectrometría de masas (MALDI-TOF) y finaliza con el análisis de datos para identificar diferencias proteicas.

Los estudios de investigación no dirigidos generan grandes volúmenes de datos, requieren un análisis estadístico y probablemente seguirán siendo predominantemente utilizados en el ámbito de la investigación. Sin embargo, se anticipa un aumento en la aplicación de enfoques ómicos tanto dirigidos como no dirigidos en entornos de laboratorio de diagnóstico en la próxima década, por ende, será esencial dar prioridad a la adaptación de estas aplicaciones específicas a un contexto clínico (GREAVES *et al.*, 2019).

Los enfoques proteómicos se presentan como un conjunto especializado de métodos y recursos extremadamente precisos que requieren una optimización y mejora continua para su implementación regular, sobre todo en el ámbito de la identificación de biomarcadores claves en el diagnóstico.

5.2. EL DESCUBRIMIENTO DE BIOMARCADORES Y SU IMPORTANCIA EN EL DIAGNÓSTICO

Un biomarcador se define como cualquier componente biológico medible que puede utilizarse como indicador de condiciones fisiopatológicas o de respuestas farmacológicas, ya sean normales o anormales, frente a un tratamiento específico. Los Institutos Nacionales de Salud definen un biomarcador o marcador biológico como “una característica que se mide y evalúa objetivamente como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patógenos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica” (Biomarkers Definitions Working Group, 2001).

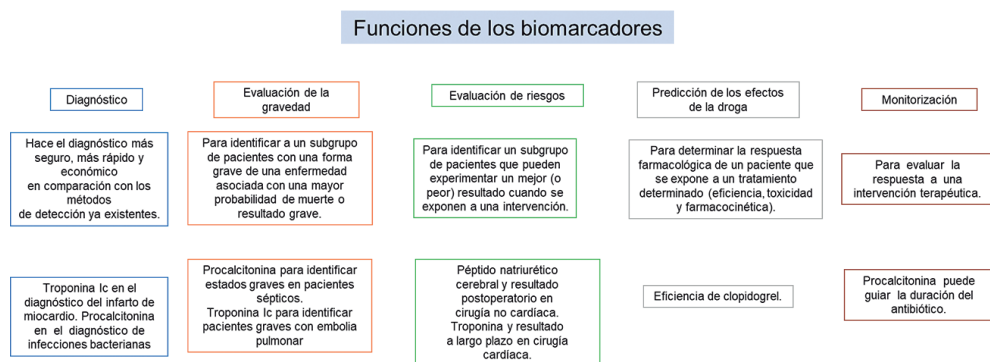
Es así como la Organización Mundial de la Salud (OMS) sugiere que la definición debe incluir cualquier medida que refleje interacciones entre cualquier sistema biológico con algún agente potencialmente peligroso, que puede ser de

naturaleza química, física o biológica. Las respuestas evaluadas pueden ser de naturaleza funcional, fisiopatológica y bioquímica a nivel molecular, celular o histológico (Biomarkers Definitions Working Group, 2001).

Los tejidos en el organismo muestran una composición biomolecular única conocida como biomarcadores, los cuales presentan características específicas, como los niveles o las actividades de genes, proteínas y otras biomoléculas, es decir, su capacidad para realizar funciones particulares en el cuerpo. Los biomarcadores hacen referencia a una característica que puede medirse objetivamente mediante múltiples muestras bioquímicas y que permite evaluar la exposición del organismo a procesos normales o patológicos, así como su respuesta a intervenciones farmacológicas.

Ejemplos de algunos marcadores biológicos clínicos importantes son la presión arterial, la frecuencia del pulso, los indicadores bioquímicos clínicos y algunas otras pruebas de laboratorio críticas más complejas de fluidos corporales y varios otros sistemas. Los biomarcadores siempre se han utilizado en medicamentos clínicos y los análisis basados en biomarcadores ahora han ingresado en nuevas áreas y pueden ayudar en el diagnóstico más temprano de enfermedades y en la terapia eficiente de varios trastornos (**figura 9**). Los biomarcadores se definen como “las sustancias, estructuras o procesos que pueden cuantificarse en el cuerpo o sus productos e influyen o predicen la incidencia de resultados o enfermedades” (ARYUTOVA *et al.*, 2021).

Figura 9. Funciones de los biomarcadores en el diagnostico ómico



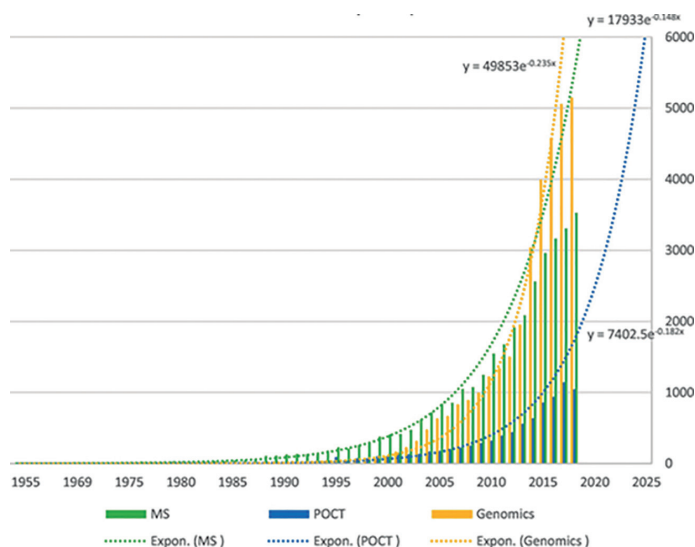
Nota. El esquema describe las funciones de los biomarcadores en distintas áreas: diagnóstico, evaluación de la gravedad, evaluación de riesgos, predicción de efectos de drogas y monitorización.

5.3. BIOMARCADORES Y PROTEÓMICA

Las ciencias ómicas ofrecen dos enfoques fundamentales para mejorar el diagnóstico médico: uno se centra en identificar biomarcadores específicos para desarrollar pruebas diagnósticas, mientras que el otro mide una amplia cobertura de analitos sin requerir su identificación individual. Ambas estrategias tienen el potencial de aumentar significativamente la precisión y la efectividad de los diagnósticos médicos (GREAVES *et al.*, 2019).

En la mayoría de los casos, los biomarcadores son descubiertos en laboratorios de investigación, lo que ha llevado a la creación de numerosos artículos y publicaciones que presentan nuevas opciones diagnósticas para enfermedades existentes. Sin embargo, no todos estos biomarcadores llegan a ser parte de la práctica clínica diaria pues para ser efectivos, deben cumplir condiciones que los hagan prácticos y accesibles, no solo en el ámbito de la investigación, sino también en el uso diario en la clínica. Los avances en áreas como POCT, EM y genómica han provocado cambios significativos en el proceso analítico de las pruebas. Cada una de estas áreas ha experimentado un aumento exponencial en publicaciones recientes, y se prevé que esta tendencia continúe a medida que estas tecnologías transforman la práctica laboratorial actual (**figura 10**).

Figura 10. Historial de publicaciones y predicción hasta 2025

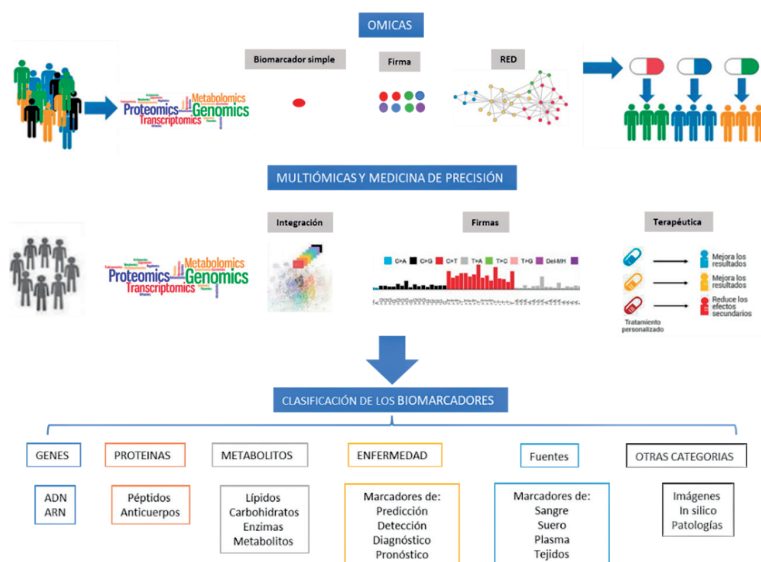


Nota. Abarca las fechas del enero de 1900 a diciembre de 2018 para los equipos de búsqueda de MS clínica, pruebas en el punto de atención (POCT) y genómica clínica. Tomado y modificado de (GREAVES *et al.*, 2019).

Los marcadores individuales descubiertos con estrategias ómicas podrían ser eventualmente cuantificados y empleados en diagnósticos comunes a través de plataformas estándar. Un ejemplo de esta táctica es la utilización de la proteómica basada en EM para encontrar proteínas con valor diagnóstico específico que pueden luego ser convertidas en pruebas diagnósticas mediante inmunoensayos, que son aptos para ser utilizados en analizadores de alto rendimiento para diagnósticos habituales (GREAVES *et al.*, 2019).

Los avances en las tecnologías ómicas actuales han ampliado significativamente las posibilidades de obtener nuevos biomarcadores de diversos tipos. Estos biomarcadores se generan mediante estrategias que abarcan áreas como la genómica, proteómica, metabolómica, transcriptómica, lipidómica, epigenómica, entre otras. Los biomarcadores poseen características distintivas que pueden ser cuantificadas de manera objetiva y evaluadas como indicadores de procesos biológicos normales, patológicos o resultados farmacológicos de diversas terapias. Estos biomarcadores se clasifican en diferentes tipos (figura 11).

Figura 11. Proceso de desarrollo de biomarcadores. Datos ómicas y multiómicos



Nota. El esquema aborda el uso de tecnologías ómicas en medicina de precisión, destacando la integración de datos de multiómicas para generar firmas y redes de biomarcadores. La clasificación de los biomarcadores incluye categorías como genes, proteínas, metabolitos, tipos de enfermedades y fuentes (sangre, suero, tejidos), orientando su aplicación en diagnóstico, pronóstico y tratamiento personalizado (ASHENDEN *et al.*, 2024).

Los biomarcadores ómicos no solo tienen la capacidad de pronosticar, sino que también se aplican en la respuesta a paradigmas terapéuticos, permitiendo la detección en muestras de tejido o suero, tanto en individuos sanos como enfermos, por lo que se han convertido en herramientas valiosas en diferentes campos de la investigación médica. En el ámbito de la investigación clínica, se encuentran disponibles en la actualidad *kits* de múltiples metabolitos basados en EM diseñados para su uso descentralizado, además, existen proveedores de servicios que llevan a cabo análisis de ómicas, como la metabolómica en laboratorios corporativos, (VOGESER y BENDT, 2023).

Dos campos muy avanzados en el estudio de los biomarcadores son la farmacogenómica, que se enfoca en identificar rasgos genéticos que influyen en diferentes efectos farmacocinéticos o farmacodinámicos, como base para un tratamiento farmacológico personalizado; y la patología molecular, en la que los análisis de transcriptomas y los perfiles de expresión genética de muestras de tejido representan los primeros métodos tangibles de reconocimiento de patrones que se han traducido con éxito en la atención sanitaria personalizada, otra aplicación proteómica exitosa basada en un enfoque de reconocimiento de biomarcadores como patrones de identificación de cultivos bacterianos basada en MALDI-TOF en microbiología, que se ha convertido en una tecnología estándar en los últimos años (VOGESER y BENDT, 2023).

Es evidente que los avances tecnológicos en las tecnologías multiómicas han facilitado los esfuerzos crecientes a nivel mundial en el ámbito de la medicina de precisión traslacional, que busca ofrecer atención médica personalizada basada en la búsqueda de biomarcadores. La osteoartritis es un ejemplo de una enfermedad compleja influida por factores locales y sistémicos, las características de los pacientes complican su comprensión, pero los avances tecnológicos han permitido estudiar transcriptomas, proteomas y metabolomas en tejidos y fluidos relacionados con esta enfermedad. (ASHENDEN *et al.*, 2024; RAI *et al.*, 2024).

5.4. PROTEÓMICA EN DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES GENÉTICAS

La proteómica surgió como una herramienta principal en el diagnóstico de enfermedades genéticas, incluyendo las hereditarias, raras y adquiridas (VOGESER y BENDT, 2023). Esta disciplina se centra en el estudio exhaustivo y sistemático de las proteínas presentes en un organismo o en un sistema biológico específico, en el contexto de las enfermedades genéticas, la proteómica se utiliza para analizar y comprender las variaciones en las proteínas que están directamente relacionadas con trastornos hereditarios, así como para descifrar las complejas redes de señalización molecular que subyacen a estas enfermedades (VOGESER y BENDT, 2023). Este enfoque no solo permite la identificación de biomarcadores

específicos que pueden utilizarse para un diagnóstico temprano y preciso, sino que también arroja luz sobre los mecanismos moleculares subyacentes a estas condiciones patológicas (VELEZ y MAHAJAN, 2020). En este contexto, este estudio explorará el papel crucial de la proteómica en el diagnóstico de enfermedades genéticas, proporcionando una comprensión más profunda de su aplicación en el ámbito de las enfermedades hereditarias, raras y adquiridas.

5.4.1. ENFERMEDADES HEREDITARIAS

La proteómica desempeña un rol primordial en la comprensión de las enfermedades hereditarias al proporcionar información detallada sobre las proteínas involucradas y sus interacciones, lo que puede conducir a mejores diagnósticos, tratamientos más efectivos y una mayor comprensión de los mecanismos subyacentes de estas enfermedades (GREAVES *et al.*, 2019).

La proteómica desempeña un papel crucial en la identificación de proteínas alteradas en enfermedades hereditarias, que se utilizan como marcadores para diagnóstico y monitoreo. Este campo de estudio examina las rutas de señalización afectadas por mutaciones genéticas, revelando los complejos mecanismos moleculares subyacentes, adicionalmente, identifica las proteínas asociadas, lo que resulta fundamental para descubrir objetivos terapéuticos y diseñar fármacos específicos (VELEZ y MAHAJAN, 2020). La proteómica también analiza la variabilidad en las respuestas a tratamientos, lo que posibilita la personalización de terapias para cada paciente (GREAVES *et al.*, 2019). Estudiar cómo las variantes genéticas afectan las proteínas es esencial para entender la variabilidad clínica en enfermedades hereditarias, para una implementación efectiva y a largo plazo de la proteómica en el entorno clínico, es vital que los científicos en este campo trabajen de cerca con médicos y patólogos para identificar áreas donde se necesitan avances. En la **tabla 11** se presentan algunos ejemplos de enfermedades genéticas hereditarias diagnosticadas mediante proteómica.

Tabla 11. *Diagnóstico de enfermedades hereditarias a partir de proteómica*

Enfermedad	Biomarcador	Tipo de enfermedad	Referencia
Telangiectasia hemorrágica hereditaria (HHT) y otras enfermedades vasculares	VEGF se refiere al factor de crecimiento endotelial vascular, mientras que VEGFR es el receptor del factor de crecimiento endotelial vascular. VM representa la malformación vascular, PlGF es el factor de crecimiento placentario y ANGPT se refiere a las angiopoyetinas.	Una enfermedad vascular autosómica dominante rara, es una enfermedad genética rara que afecta a los vasos sanguíneos.	(VILLANUEVA <i>et al.</i> , 2023)
Vitreorretinopatía inflamatoria neovascular (VNI)	Calpaína-5 (CAPN5)	Enfermedad hereditaria rara inflamatoria de la retina causada por mutaciones en el gene CAPN5	(VELEZ y MAHAJAN, 2020)
Amiloidosis sistémica	Cadena Aα del fibrinógeno amiloidogénico	Enfermedad rara que resulta del depósito sistémico o localizado de fibrillas de amiloide en los espacios extracelulares de los tejidos que causan disfunción orgánica y potencialmente la muerte.	(CHAPMAN y DOGAN, 2019)
Esclerosis lateral amiotrófica	sTREM02 and pTDP43	Enfermedad progresiva que involucra la degeneración de las células nerviosas en el cerebro y la médula espinal.	(JERICÓ <i>et al.</i> , 2023; KATZEFF <i>et al.</i> , 2022)
Enfermedad de Alzheimer	Proteína beta-amiloide y proteína tau	Enfermedad progresiva que impacta en la memoria, el pensamiento y el comportamiento, siendo la forma más prevalente de demencia en adultos mayores.	(WAGNER <i>et al.</i> , 2022)

5.4.2. ENFERMEDADES RARAS

El diagnóstico con biomarcadores es un campo revolucionario en el abordaje de las enfermedades raras. Dada la complejidad y la baja prevalencia de estas

condiciones, las técnicas avanzadas de proteómica permiten un análisis detallado de las proteínas presentes en el cuerpo, identificando biomarcadores específicos asociados con enfermedades poco comunes (BUTLER *et al.*, 2019; MARIANI *et al.*, 2022). Esta metodología precisa no solo facilita el diagnóstico anticipado y preciso de las enfermedades raras, sino que también proporciona información invaluable sobre las características moleculares y las vías biológicas involucradas en estas condiciones (MIKLOVIC y SIEG, 2023). Al comprender mejor las firmas proteómicas asociadas con enfermedades raras, los científicos y los médicos pueden desarrollar terapias más específicas y personalizadas que permitan mejorar significativamente la calidad de vida en los pacientes (SAVIGE y HARRAKA, 2021). Además, el diagnóstico proteómico se ha convertido en una esperanza para muchos pacientes y sus familias al ofrecer una luz en la oscuridad de las enfermedades raras, brindando una vía prometedora para la detección anticipada y el tratamiento efectivo de estas condiciones médicas complejas y desafiantes. La **tabla 12** muestras algunas enfermedades raras y sus biomarcadores.

Tabla 12. *Biomarcadores proteómicos presentes en algunas enfermedades raras*

Enfermedad rara	Biomarcadores	Referencias
Síndrome de Alport	COL4A3, COL4A4, COL4A5	(SAVIGE y HARRAKA, 2021.)
Síndrome de Rett	MECP2, CDKL5	(KADAM <i>et al.</i> , 2019)
Fibrosis poliquística renal	PKD1, PKD2	(LAKHIA <i>et al.</i> , 2022)
Síndrome de Prader-Willi	SNRPN, MKRN3	(BUTLER <i>et al.</i> , 2019; MARIANI <i>et al.</i> , 2022)
Síndrome de Angelman	UBE3A, GABRB3	(GREER <i>et al.</i> , 2010)
Atrofia muscular espinal	SMN1, SMN2	(CHEN <i>et al.</i> , 2023)
Síndrome de Marfan	FBN1, TGFBR1	(MUÑOZ SANDOVAL <i>et al.</i> , 2014)
Síndrome de Ehlers-Danlos	COL5A1, COL5A2, COL3A1	(MIKLOVIC y Sieg, 2023)

5.4.3. *ENFERMEDADES ADQUIRIDAS*

Las enfermedades adquiridas de origen genético se desarrollan a lo largo de la vida debido a interacciones complejas entre factores genéticos y ambientales. La identificación temprana y precisa de estas enfermedades es esencial para un tratamiento eficaz y un manejo adecuado de los pacientes (GREAVES *et al.*, 2019), en este contexto, los biomarcadores de diagnóstico juegan un papel crucial (**tabla 13**). Estos biomarcadores, que pueden ser proteínas, genes o incluso alteraciones específicas en el ADN, actúan como señales reveladoras en el cuerpo, indicando

la presencia de enfermedades específicas, su detección y análisis proporcionan a los médicos información valiosa para el diagnóstico y pronóstico preciso, permitiendo intervenciones médicas tempranas y personalizadas (ZUBAIR *et al.*, 2021). En este contexto exploraremos los últimos avances en la identificación y aplicación de biomarcadores en el diagnóstico de enfermedades adquiridas de origen genético, destacando la importancia de la medicina de precisión en el tratamiento de estas condiciones complejas (**tabla 13**).

Tabla 13. *Enfermedades adquiridas de origen genético y sus biomarcadores de diagnóstico*

Enfermedad	Biomarcador	Referencia
Cáncer de mama	CA 15-3, CA 27.29	(ZUBAIR <i>et al.</i> , 2021)
Enfermedad de Alzheimer	Proteína tau, Proteína beta-amiloide	(WAGNER <i>et al.</i> ,2022)
Diabetes tipo 2	Proteína C reactiva (PCR), péptido C	(PEIXOTO-BARBOSA <i>et al.</i> , 2020)
Cáncer de colon	Antígeno carcinoembrionario (CEA)	(STEWART <i>et al.</i> , 2018)
Enfermedad cardiovascular	Troponina, Proteína C reactiva (PCR)	(CHENG <i>et al.</i> ,2023)
Esclerosis múltiple	Proteína básica de mielina (MBP), IgG en líquido cefalorraquídeo	(TALBOT <i>et al.</i> , 2022)
Diabetes tipo 1	Autoanticuerpos contra las células de los islotes (ICA), Autoanticuerpos contra la insulina	(ZHANG <i>et al.</i> , 2022)
Lupus eritematoso sistémico	Anticuerpos anti-DNA de doble cadena, Anticuerpos anti-Sm	(WONGJARIT <i>et al.</i> , 2023)

5.5. PROTEÓMICA EN EL DIAGNÓSTICO EN ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Las enfermedades infecciosas tienen un alto impacto en la población y afectan la salud global. Tradicionalmente, el diagnóstico de estas infecciones se realizaba mediante el cultivo de microorganismos *in vitro*, un método costoso y demorado. En las últimas décadas se ha enfocado en la aplicación de tecnologías ómicas, particularmente las técnicas proteómicas, para abordar las enfermedades infecciosas (JOHNSON *et al.*, 2019). Este documento revisa el manejo, procesamiento y análisis de muestras biológicas en el contexto de la proteómica para el estudio de estas enfermedades.

La proteómica ha revolucionado el campo del diagnóstico de enfermedades infecciosas. En el mundo actual, donde las enfermedades infecciosas siguen

representando una amenaza significativa para la salud global, contar con herramientas precisas y rápidas para el diagnóstico es fundamental (SMITH *et al.*, 2020). La proteómica es una pieza clave de este rompecabezas, permitiendo a los científicos analizar de manera integral todas las proteínas presentes en un organismo o muestra biológica, esta técnica no solo ofrece una comprensión profunda de la biología molecular de los patógenos, sino que también ha llevado a la identificación de biomarcadores específicos que son cruciales para el diagnóstico temprano y preciso de enfermedades infecciosas (BROWN *et al.*, 2018). En este contexto, la proteómica ha transformado el diagnóstico de enfermedades infecciosas, abriendo nuevas puertas hacia intervenciones médicas más efectivas y un control más eficiente de las epidemias (**tabla 14**).

Tabla 14. Agentes infecciosos de importancia clínica diagnosticados por biomarcadores

Enfermedad infecciosa	Biomarcador proteico	Referencia
COVID-19 (SARS-CoV-2)	Proteína S del virus (<i>Spike</i>), proteína N del virus (nucleocápside), proteína M del virus (membrana), proteína E del virus (envoltura)	(SMITH <i>et al.</i> , 2020)
Influenza	Hemaglutinina, neuraminidasa, proteína M1 del virus	(JOHNSON <i>et al.</i> , 2019)
VIH/AIDS	Antígeno p24, antígeno gp120, antígeno gp41	(BROWN <i>et al.</i> , 2018)
Hepatitis B	Antígeno de superficie (HBsAg), antígeno del Core (HBcAg)	(GARCÍA <i>et al.</i> , 2017)
Hepatitis C	Proteína del núcleo (Core), proteína E1, proteína E2	(DAVIS <i>et al.</i> , 2016)
Tuberculosis	Antígeno 85B, antígeno 60, proteína CFP-10	(WILSON <i>et al.</i> , 2015)
Malaria (<i>Plasmodium falciparum</i>)	Proteína histidina rica (HRP2), lactato deshidrogenasa (pLDH)	(CLARK <i>et al.</i> , 2014)
Dengue	Proteína del envoltorio (E), NS1 (no estructural I)	(SMITH <i>et al.</i> , 2013)
Zika	Proteína del envoltorio (E), NS1 (no estructural I)	(JONES <i>et al.</i> , 2012)
Chikunguña	Proteína del envoltorio (E1, E2), proteína del núcleo (Capsid)	(MILLER <i>et al.</i> , 2011)

5.5.1. RESISTENCIA MICROBIANA

La resistencia microbiana representa uno de los desafíos más apremiantes en el ámbito de la salud pública pues pone en peligro la efectividad de tratamientos médicos que alguna vez fueron seguros y confiables. En este contexto crítico, la proteómica emerge como una herramienta invaluable en la comprensión de los mecanismos subyacentes de la resistencia microbiana (DIZ, 2020). Esta rama avanzada de la biología molecular permite el análisis completo y detallado de las proteínas presentes en microorganismos resistentes, revelando así las complejas interacciones que conducen a su capacidad de evadir los efectos de los antimicrobianos (MARASCO y KORNBLIHTT 2023). Al desentrañar estas intrincadas redes proteicas, la proteómica no solo proporciona conocimientos fundamentales sobre la resistencia microbiana, sino que también abre nuevas vías para el desarrollo de terapias más eficaces y estrategias de prevención (DIZ, 2020). En este contexto, exploraremos cómo la proteómica se ha convertido en una herramienta esencial en la lucha contra la resistencia microbiana, ofreciendo perspectivas innovadoras para abordar este problema de salud pública cada vez más urgente.

El empalme alternativo contribuye sustancialmente a la alta complejidad de los transcriptomas de eucariotas multicelulares. En esta revisión, analizamos la evidencia acumulada de que la mayor parte de esta complejidad se refleja a nivel de proteínas y fundamentalmente da forma a la fisiología y patología de los organismos (MARASCO y KORNBLIHTT 2023). Esta noción está respaldada no solo por análisis de todo el genoma sino, principalmente, por estudios detallados que muestran que las modulaciones globales y específicas de genes del empalme alternativo regulan procesos muy diversos, como la diferenciación celular específica de tejido y de especie, la regulación térmica y la autonomía neuronal, evitación, detección de infrarrojos, efecto Warburg, mantenimiento de la longitud de los telómeros, cáncer y trastornos del espectro autista (TEA) (MARASCO y KORNBLIHTT 2023). Estos biomarcadores proteicos son fundamentales para identificar la resistencia bacteriana en diferentes patógenos, permitiendo una adecuada selección de tratamientos antibióticos y contribuyendo a la lucha contra las infecciones resistentes a los medicamentos (tabla 15).

Tabla 15. Marcadores de resistencia en algunos patógenos

Patógeno	Marcador	Referencia
<i>Tuberculosis (Mycobacterium tuberculosis)</i>	Proteína KatG, proteína InhA, proteína rpoB, proteína embB	(MANSILLA, 2009).
<i>Staphylococcus aureus</i> (incluyendo MRSA)	Proteína PBP2a (penicilinasa resistente a la meticilina), proteína FemA, proteína FemB	(JORDANA-LLUCH <i>et al.</i> , 2012).

<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)	Proteína TEM-1 (β -lactamasa), proteína CTX-M (β -lactamasa), proteína OmpF (porina externa)	(DÍZ, 2020).
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Proteína KPC (<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemasa), proteína SHV (β -lactamasa), proteína OmpK35	(Académica, 2016).
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Proteína AmpC (β -lactamasa cromosómica), proteína OprD, porina externa), proteína Me- xAB-OprM	(DÍZ, 2020).

Estos biomarcadores proteicos son esenciales para identificar la resistencia bacteriana en diversas enfermedades infecciosas, permitiendo un diagnóstico preciso y contribuyendo a la gestión efectiva de las infecciones (MARASCO y KORNBLIHTT 2023).

6. APLICACIONES DE LA METABOLÓMICA EN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO

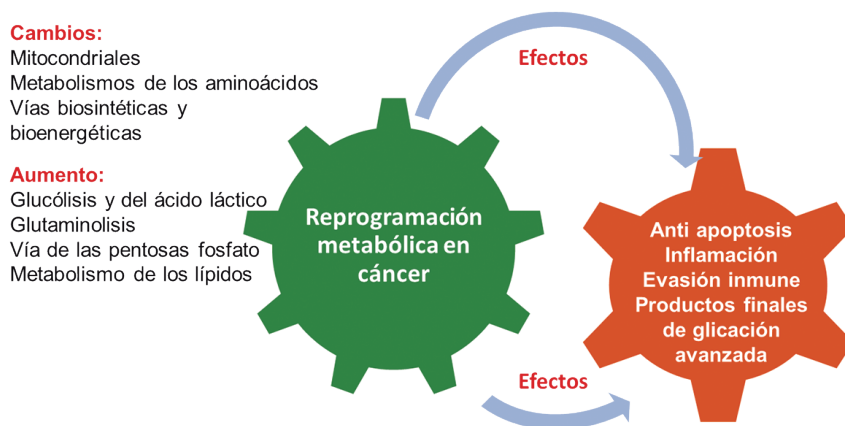
La metabolómica implica el análisis sistemático y cuantitativo de compuestos de bajo peso molecular que se encuentran en células, tejidos o fluidos biológicos y que son el resultado de las reacciones metabólicas en organismos vivos (DUNN *et al.*, 2005). Los componentes del metaboloma son los productos finales de la expresión génica y determinan el perfil bioquímico de una célula, tejido u organismo. Además, implica un estudio detallado del metabolismo en relación con un sistema biológico en respuesta a estímulos o condiciones fisiopatológicas. Medir estos metabolitos ofrece una comprensión completa del estado bioquímico, lo que puede ser útil para monitorear y entender la función de un gen (BINO *et al.*, 2004).

En la actualidad, el campo de la metabolómica ha ganado considerable importancia ya que proporciona un conjunto de metabolitos alterados en múltiples biofluidos y tejidos, que podrían usarse para una mayor validación y desarrollo de biomarcadores, estudios de función biológica y fármacos terapéuticos en desarrollo (PEG *et al.*, 2021). Es así como se están desarrollando sistemas electrónicos con capacidad analítica diseñado para detectar compuestos orgánicos volátiles (VOCs) en el aire (nariz electrónica) que tiene varias aplicaciones importantes que agilizan la detección de metabolitos relacionados con enfermedades (DIMA *et al.*, 2021).

6.1. REPROGRAMACIÓN METABÓLICA

La reprogramación metabólica es una característica del cáncer que ha demostrado ser fundamental en las infecciones virales. La reprogramación metabólica proporciona a la célula energía y biomasa para la biosíntesis a gran escala, según los estudios de los cambios celulares que contribuyen a la reprogramación metabólica, se pueden identificar siete características principales: *i)* aumento de la glucólisis y del ácido láctico, *ii)* aumento de la glutaminólisis, *iii)* aumento de la vía de las pentosas fosfato, *iv)* cambios mitocondriales y recableado de TCA, *v)* aumento del metabolismo de los lípidos, *vi)* cambios en el metabolismo de los aminoácidos y *vii)* cambios en otras vías biosintéticas y bioenergéticas (ALLEN *et al.*, 2022). Estas siete características distintivas de la reprogramación metabólica también conducen a efectos no metabólicos: inflamación, antiapoptosis, evasión inmunológica y producción de productos finales de glicación avanzada (**figura 12**).

Figura 12. Características de la reprogramación metabólica



Nota. La ilustración representa las siete características distintivas de la reprogramación metabólica y efectos no metabólicos de la reprogramación metabólica.

Varios estudios han revisado el estado metabólico de las células cancerosas en función de las etapas de progresión del cáncer. Para que las células cancerosas proliferen, invadan y metastaticen necesitan adquirir un estado metabólico diferente. A grandes rasgos se puede clasificar en tres etapas. En la primera,

los microambientes tumorales son típicamente ácidos e hipóxicos con una composición de nutrientes distinta en comparación con los tejidos normales, lo que obliga a las células cancerosas a adaptarse a tales condiciones para sobrevivir. La segunda etapa es la invasión, para sobrevivir en los vasos sanguíneos, las células cancerosas deben reprogramar su estado metabólico, permitiendo un crecimiento independiente del anclaje. Por último, cuando las células cancerosas colonizan otros órganos, deben adaptarse a entornos metabólicos completamente nuevos en comparación con los sitios primarios para poder crecer (ALLEN *et al.*, 2022). Comprender los mecanismos subyacentes a esta reprogramación metabólica puede ayudar a identificar nuevas dianas terapéuticas para el cáncer.

Estudios recientes han demostrado que los biomarcadores metabolómicos presentes en muestras de sangre pueden utilizarse para detectar el cáncer en casos donde los síntomas no son específicos. Un estudio similar realizado por Xu y su equipo identificó metabolitos distintivos en el plasma de niños que padecían meduloblastoma, otros estudios han revelado, a través del análisis de perfiles metabólicos, diferencias en los niveles de metabolitos entre el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) y los tejidos normales (XU *et al.*, 2022). Estos descubrimientos sobre los metabolitos tienen el potencial de optimizar de manera significativa tanto el diagnóstico como el pronóstico en pacientes que afrontan procesos cancerígenos.

El descubrimiento de biomarcadores sensibles para el cáncer mediante una estrategia adaptada se ha convertido en un enfoque crucial en la investigación oncológica y puede utilizarse como herramienta de detección para enfocar terapias dirigidas a enzimas metabólicas. La intervención temprana en el tratamiento del cáncer podría llevar a resultados más efectivos si estas tácticas se aplican con éxito. En el futuro, los biomarcadores de diagnóstico y pronóstico jugarán un papel fundamental en la medicina individualizada y de precisión (ALLEN *et al.*, 2022). El análisis de los fenotipos metabólicos permitirá clasificar a los pacientes según sus perfiles metabólicos, lo que podría revolucionar la forma en que personalizamos los tratamientos y mejoramos los resultados para los pacientes con cáncer.

6.1.1. METABOLÓMICA EN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Si bien el término *metaboloma* se acuñó en 1998 y el campo de la metabolómica se consideraba emergente hasta hace poco, los perfiles metabólicos se han estudiado en fluidos biológicos durante siglos. En contraste con otras disciplinas ómicas, presenta ventajas notables, como proporcionar una investigación más detallada a cerca del fenotipo de una enfermedad, utilizar muestras menos invasivas y aplicar técnicas menos complejas, lo que conduce a resultados más rápidos (PATTI *et al.*, 2012).

Contrariamente a los genes y las proteínas, cuya función se ve afectada por la regulación epigenética y las modificaciones postraduccionales, los metabolitos funcionan como señales directas de la actividad bioquímica, permitiendo su asociación directa con el fenotipo (PATTI *et al.*, 2012), por esta razón, el análisis del conjunto de metabolitos, llamado metabolómica, se ha convertido en un enfoque clínico diagnóstico eficaz y ampliamente utilizado.

Los avances analíticos en el campo de la resonancia magnética nuclear y la EM han permitido el análisis de matrices y metabolomas complejos a través de rangos dinámicos extendidos, mayor selectividad y sensibilidad. El acoplamiento de estas técnicas con diversas metodologías de separación (por ejemplo, cromatografía líquida, cromatografía de gases, electroforesis capilar y las variaciones de la movilidad iónica en rápido desarrollo) también ha contribuido al crecimiento del campo de la metabolómica (ULMER *et al.*, 2021). La metabolómica se puede dividir en dos enfoques, metabolómica dirigida y no dirigida, según su propósito.

6.1.2. METABOLÓMICA DIRIGIDA Y NO DIRIGIDA

El enfoque de la metabolómica dirigida describe un procedimiento en el que se calcula una lista específica de metabolitos, normalmente centrándose en una o más vías de interés relacionadas. Se dedica a examinar una cantidad específica de metabolitos en una muestra, según el interés del investigador (ULMER *et al.*, 2021). Estos metabolitos son seleccionados en base a una hipótesis predefinida por el propio investigador. Aplican enfoques cuantitativos de uno o varios analitos para analizar una selección predefinida (de 1 a 100) de compuestos que se originan en una vía metabólica específica. La metabolómica dirigida puede ser eficaz para estudios farmacocinéticos del metabolismo de fármacos, así como para medir la influencia de terapias o modificaciones genéticas en una enzima específica.

El enfoque de la metabolómica no dirigida permite calcular la máxima cantidad de metabolitos presentes en una muestra sin necesidad de una hipótesis previa. Los datos obtenidos proporcionan una aproximación al problema en cuestión y ofrecen información crucial (PATTI *et al.*, 2012), en caso necesario, estos datos pueden servir como base para llevar a cabo un estudio de metabolómica más específico posteriormente. Se aplican enfoques quimiométricos para llevar a cabo un análisis integral o global de todos los metabolitos detectables en una muestra biológica, generando hipótesis en el proceso.

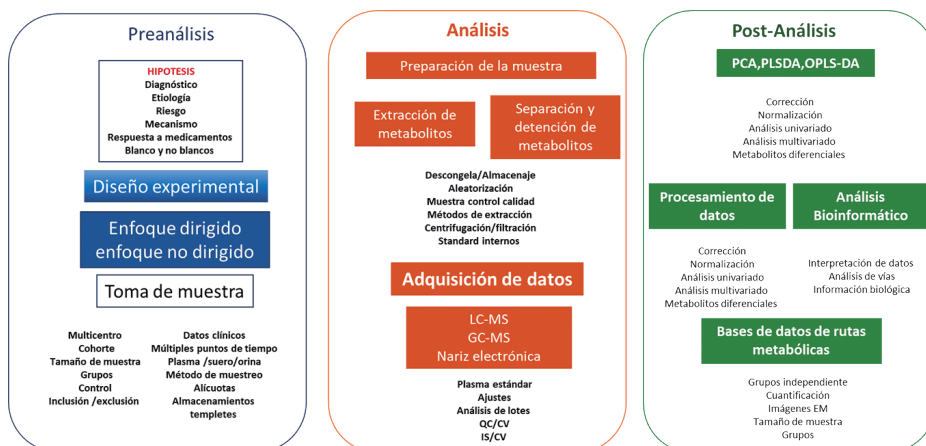
El objetivo, tanto de la metabolómica dirigida como de la no dirigida, es utilizar el perfil metabólico para inferir funciones biológicas dentro de un sistema y comprender mejor las respuestas bioquímicas (PATTI *et al.*, 2012; ULMER *et al.*, 2021). No obstante, la metabolómica no dirigida se presenta como

una herramienta de exploración más adecuada para detectar metabolitos que se alteran en respuesta a la manipulación de un sistema biológico, en lugar de ofrecer la concentración precisa de un metabolito específico, según lo indicado por PEG *et al.* (2021). Desde su introducción formal en la comunidad científica, los flujos de trabajo de metabolómica dirigida han desempeñado un papel esencial en las pruebas de laboratorio clínico.

6.1.3. FLUJO DE TRABAJO EN METABOLÓMICA

Los flujos de trabajo en metabolómica incluyen bioanálisis (recolección y preparación de muestras y adquisición de datos), procesamiento de datos, caracterización de compuestos e interpretación biológica (MÉNDEZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2019; ULMER *et al.*, 2021). Los avances en las plataformas analíticas, como resonancia magnética (RMN) y EM, permiten la separación, detección, caracterización y cuantificación de metabolitos. La MS generalmente se combina con técnicas de separación, como la cromatografía líquida (LC) y la cromatografía de gases (GC). Estas técnicas ofrecen información detallada sobre una amplia gama de metabolitos en una sola medición sin restringirse a unas escasas moléculas (PATTI *et al.*, 2012). Son relativamente fáciles de usar, ya que requieren muestras de tamaño moderado y con equipos automatizados, es posible analizar hasta 200 muestras al día (figura 13).

Figura 13. Diseño de estudio general para el flujo de trabajo de estudios en metabolómica

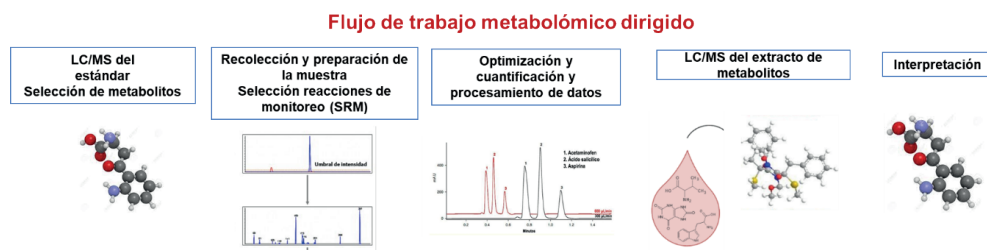


Nota. El diagrama detalla el flujo de trabajo en estudios metabolómicos, dividido en tres fases: preanálisis (diseño experimental y toma de muestras), análisis (preparación, extracción y detección de metabolitos, y adquisición de datos con técnicas como LC-MS y GC-MS), y postanálisis (procesamiento de datos y análisis bioinformático usando herramientas como PCA y bases de datos de rutas metabólicas). Modificado de MÉNDEZ-RODRÍGUEZ *et al.* (2019).

Finalmente, el número y la composición química de los metabolitos seleccionados para el estudio constituyen una característica crucial en cualquier experimento de metabolómica, lo que influye en el diseño experimental, incluyendo la preparación de muestras y la elección de la instrumentación (PATTI *et al.*, 2012).

En el flujo de trabajo metabolómico dirigido primero, se obtienen compuestos estándar para los metabolitos de interés y se utilizan para configurar métodos de monitoreo de reacciones seleccionados. Aquí se establecen los voltajes de los instrumentos y se generan curvas de concentración para la cuantificación absoluta, una vez establecidos los métodos específicos según estándares, se analiza el extracto metabólico de las muestras de investigación (**figura 14**). La salida de datos proporciona la cuantificación únicamente de aquellos metabolitos para los que se han creado métodos estándar.

Figura 14. *Diseño de estudio general para el flujo de trabajo metabolómico dirigido*



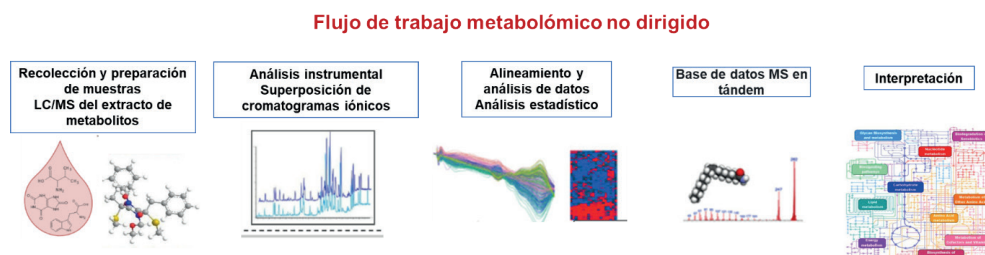
Nota. Flujo de trabajo en metabolómica dirigida. Incluye la selección de metabolitos mediante LC/MS, recolección y preparación de muestras, optimización y cuantificación de datos, análisis del extracto de metabolitos, y finalmente, la interpretación de resultados. Modificado de Patti *et al.* (2012).

Como resultado, las aplicaciones clínicas los análisis metabolómicos dirigidos son innumerables e incluyen el diagnóstico y seguimiento de enfermedades, el descubrimiento de metabolitos de fármacos terapéuticos y de drogas de abuso, la identificación de errores congénitos del metabolismo y la cuantificación de diversos biomarcadores clínicos.

En este flujo de trabajo metabolómico no dirigido los metabolitos son aislados primero de la muestra (tejidos, biofluidos o cultivos celulares), posteriormente se analizan mediante LC/MS. Después de la adquisición de datos, los resultados se procesan mediante el uso de software bioinformático como XCMS para realizar una alineación del tiempo de retención no lineal e identificar las características de los metabolitos que cambian entre los conjuntos de muestras analizadas (ver figura 15).

Las características de interés de los metabolitos se buscan en bases de datos de metabolitos sobre la base de una masa precisa para obtener identificaciones putativas. Las supuestas identificaciones se confirman luego comparando MS/MS y los datos del tiempo de retención con los de los estándares (PATTI *et al.*, 2012). El flujo de trabajo no dirigido tiene un alcance global y genera datos relacionados con el metabolismo celular completo.

Figura 15. Diseño de estudio general para el flujo de trabajo metabolómico no dirigido



Nota. Flujo de trabajo en metabolómica no dirigida. Inicia con la recolección y preparación de muestras, análisis instrumental con cromatogramas iónicos, alineamiento y análisis estadístico de datos, uso de bases de datos MS en tándem y, finalmente, la interpretación de los resultados. Modificado Patti et al. (2012).

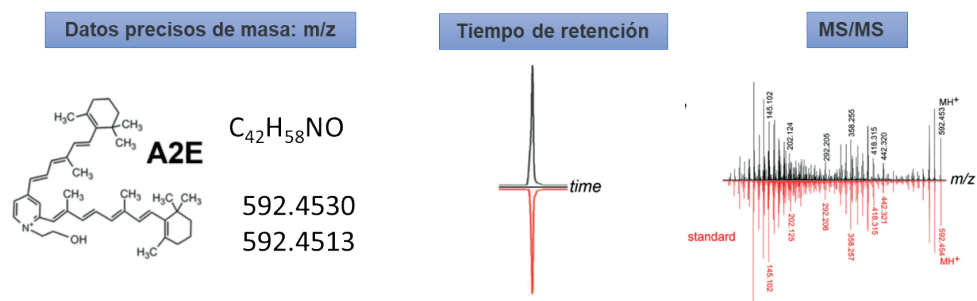
Si bien los ensayos dirigidos son rutinarios y están bien integrados en el espacio clínico, se considera que los ensayos de metabolómica no dirigidos aún se encuentran en etapas iniciales, pero no se debe pasar por alto la adopción de ensayos metabolómicos no dirigidos en laboratorios clínicos. Estos ensayos brindan nuevas oportunidades en la medicina de precisión al detectar una variedad de metabolitos en una sola prueba.

Además, estos ensayos permiten el descubrimiento de nuevos biomarcadores para diversas enfermedades difíciles de alcanzar, sin embargo, los ensayos de metabolómica no dirigidos presentan desafíos únicos a la hora de diseñar el estudio de interés, localizar estándares internos apropiados, analizar e interpretar conjuntos de datos complicados y garantizar resultados precisos. Para maximizar el potencial de esta poderosa técnica en los laboratorios clínicos de rutina y permitir la traducción exitosa de estudios de metabolómica no dirigidos desde el banco a la cabecera, es necesario abordar estos desafíos (ULMER *et al.*, 2021).

La caracterización de metabolitos en el flujo de trabajo metabolómico no dirigido está basada en LC/MS, los metabolitos se identifican en función de datos precisos de masa, tiempo de retención y MS/MS (PATTI *et al.*, 2012). Por lo general, el error de masa está dentro del rango esperado de la mayoría de los

espectrómetros de masas modernos, los datos comparan el tiempo de retención de la muestra de investigación con el de un estándar. Finalmente, para confirmar una asignación se realiza un análisis MS/MS específico de seguimiento. Generalmente los datos de MS/MS de la muestra de investigación se muestran en negro y los datos de MS/MS del estándar se muestran en rojo (ULMER *et al.*, 2021) como se ilustra en la **figura 16**.

Figura 16. Caracterización de metabolitos en el flujo de trabajo metabolómico no dirigido



Nota. Se ilustran aspectos clave del análisis de espectrometría de masas, mostrando datos precisos de masa (m/z), el tiempo de retención de compuestos en el cromatograma y el análisis MS/MS para identificar fragmentos moleculares específicos. Modificado Patti *et al.* (2012).

Las alteraciones en una sola enzima pueden conducir a una cascada de perturbaciones metabólicas que funcionalmente no están relacionadas con el fenotipo de interés. Por lo tanto, el perfil metabólico no dirigido de una enfermedad o mutante en particular puede revelar cientos de alteraciones que probablemente no tengan implicaciones mecanísticas. Dados los recursos necesarios para identificar compuestos conocidos y desconocidos, las estrategias para reducir las listas de características potencialmente interesantes antes de dedicar tiempo a la identificación son de gran utilidad. Una de esas estrategias es el metanálisis, mediante el cual se comparan datos de perfiles no específicos de múltiples estudios.

6.2. METABOLÓMICA EN ENFERMEDADES GENÉTICAS

La metabolómica, ha revolucionado la comprensión de las enfermedades genéticas al explorar las complejas interacciones bioquímicas que ocurren a nivel celular. En el contexto de las enfermedades genéticas, la metabolómica se presenta como una herramienta invaluable que desentraña los mecanismos subyacentes y permitiendo una comprensión más profunda de estas condiciones hereditarias.

La metabolómica se ha utilizado para estudiar una amplia variedad de enfermedades genéticas hereditarias, a continuación describiremos los principales estudios realizados actualmente en algunas de estas enfermedades (ULMER *et al.*, 2021). Las técnicas de análisis metabolómico más comunes son la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN), la cromatografía de gases o líquidos y la EM (GC-MS y LC-MS). Muchas enfermedades genéticas hereditarias y raras son poco comunes y se han investigado utilizando metabolómica para comprender mejor sus perfiles metabólicos y las vías afectadas entre ellas están los errores congénitos del metabolismo y algunos estudios de metabolómica en pediatría (ULMER *et al.*, 2021).

6.2.1. METABOLÓMICA EN ENFERMEDADES GENÉTICAS ADQUIRIDAS Y ENFERMEDADES RARAS

Los trastornos metabólicos heredados son un grupo heterogéneo de trastornos genéticos, habitualmente heredados como trastornos recesivos o, en menor proporción, como resultado de mutaciones espontáneas. Estas enfermedades son causadas por un defecto en las vías metabólicas involucradas en el metabolismo de moléculas pequeñas (es decir, aminoácidos, ácidos grasos, etc.) y grandes (es decir, glucógeno, esfingolípidos, etc.), coenzimas, vitaminas, etc. produce una alteración de las concentraciones corporales (aumento o reducción) de estas moléculas (ULMER *et al.*, 2021). Esto puede conducir, por ejemplo, a una acumulación excesiva de macromoléculas, o un déficit de las vías energéticas, etc. La expresión clínica del defecto y el daño orgánico dependen de la vía metabólica involucrada.

Los avances en la EM han posibilitado el análisis del metaboloma a una escala que antes parecía inimaginable. Los estudios de metabolómica a través de MS/MS, que solo precisan de unas pocas gotas de sangre, se revelarán especialmente beneficiosos en el ámbito de la neonatología y la perinatología, dado que otros métodos de análisis requieren muestras de sangre significativamente mayores, las cuales pueden conllevar riesgos (ULMER *et al.*, 2021). Un ejemplo de esto se presenta en el caso de los neonatos con un peso muy bajo al nacer, cuyo volumen de sangre disponible es limitado para la evaluación de procesos patológicos (SPITZER, 2008).

La metabolómica neonatal ofrece múltiples beneficios en diversas áreas del cuidado intensivo neonatal. Estos beneficios incluyen el diagnóstico a través de biomarcadores y la evaluación de la eficacia del tratamiento para la septicemia neonatal; la detección temprana de la hipoxia isquémica u otras causas de daño cerebral en neonatos; la mejora en la administración de nutrientes mediante la alimentación parenteral; la identificación de marcadores de inflamación en el desarrollo de enfermedades crónicas pulmonares y hepáticas; la personalización

de la terapia farmacológica y la evaluación adicional del estado nutricional del paciente (SPITZER, 2008). En la **tabla 16** se muestran algunas enfermedades con sus metabolitos detectables mediante técnicas de metabolómica.

Tabla 16. *Enfermedades genéticas detectables mediante metabolómica*

Enfermedad	Descripción	Metabolito estudiado	Referencia
Enfermedad de Fabry	Patología originada por una deficiencia de la enzima llamada alfa-galactosidasa A (α -GAL A). Esta deficiencia enzimática conduce a la acumulación de un tipo específico de grasa, llamada globotriaosilceramida, en diversas células y tejidos del cuerpo.	Globotriaosilceramida (Gb3) Gb3 desacilada Globotriaosilesfingosina (Lyso-Gb3).	(SAKURABA <i>et al.</i> , 2018; MARUYAMA <i>et al.</i> , 2019)
Hiperuricemia y la gota	Grupo de trastornos del metabolismo de las purinas.	Perfil de aminoácidos libres de plasma (PFAA). Correlaciones positivas entre los niveles de alanina, isoleucina, leucina, fenilalanina, triptófano, valina y gota. La glicina y serina se asociaron negativamente con la gota.	(MAHBUB <i>et al.</i> , 2017; Wu y You, 2023)
Acidemias orgánicas y aminoacidopatías	Es un tipo de errores innatos del metabolismo, también conocidos como trastornos metabólicos hereditarios. Estos trastornos afectan la forma en que el cuerpo procesa ciertos aminoácidos y ácidos orgánicos.	Perfil de biomarcadores del espectro de deficiencia de holocarboxilasa sintasa.	(PULIDO <i>et al.</i> , 2021)
MELAS	MELAS es un trastorno mitocondrial que se caracteriza por encefalomiopatía, acidosis láctica y episodios que se asemejan a accidentes cerebrovasculares.	20 analitos se correlacionan con el desequilibrio redox de NADH como característica predominante de la enfermedad de la cadena respiratoria mitocondrial.	(SHARMA <i>et al.</i> , 2021)

Defecto metabólico en la enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo I (GSDI)	Hipoglucemia en ayunas y anomalías metabólicas secundarias típicas (por ejemplo, hipertrigliceridemia, hiperlactatemia, hiperuricemia).	GSDI tiene efectos profundos en varias vías metabólicas además de las excepciones típicas conocidas.	(MATHIS <i>et al.</i> , 2022)
Errores congénitos del metabolismo	Son un grupo heterogéneo de enfermedades causadas por un déficit de algunas vías metabólicas específicas. Glucogenosis: afecta la descomposición del glucógeno en glucosa. Acidemia Isovalérica: leucina. Síndrome de Lesch-Nyhan afecta la forma en que el cuerpo descompone las purinas. Enfermedad de Gaucher.	Fenilcetonuria: fenilalanina. Acidemia metilmalónica. Homocistinuria: homocisteína.	(COSSU <i>et al.</i> , 2023)

6.2.2. METABOLÓMICA Y ENFERMEDADES CRÓNICAS

La metabolómica es una herramienta invaluable en la comprensión de las enfermedades crónicas como la diabetes tipo 2, la obesidad y las enfermedades cardíacas en las que la metabolómica ha proporcionado aciertos sin precedentes (WANG *et al.*, 2023). A través de avanzadas técnicas de espectrometría y resonancia magnética nuclear, se han identificado biomarcadores metabólicos asociados con estas condiciones, a continuación se describen algunas aplicaciones de la metabolómica en algunas enfermedades crónicas.

En metabolómica se miden y estudian de manera integral metabolitos como monosacáridos, aminoácidos, lípidos pequeños, cofactores, complejos vitamínicos B, intermediarios del ciclo energético, nucleótidos, xenobióticos exógenos y más (SURI *et al.*, 2023). La biomasa, la energía y el equilibrio redox desempeñan un papel clave en el metabolismo celular, que es esencial para la vida. Se han hecho numerosos estudios que señalan la importancia de la reprogramación metabólica en una variedad de trastornos, incluidos el cáncer, la diabetes, las enfermedades cardiovasculares y las enfermedades neurológicas. Para descubrir las causas subyacentes de las enfermedades e idear nuevos tratamientos, es necesario comprender el metabolismo (QIU *et al.*, 2023).

El uso de biomarcadores (moléculas específicas o patrones metabólicos), no solo proporcionan una comprensión profunda de los mecanismos subyacentes de

algunas enfermedades, sino que también ofrece una prometedora oportunidad para la detección temprana como diagnóstico, el pronóstico preciso y la monitorización efectiva del progreso de las enfermedades, entre ellas las crónicas, como la diabetes, enfermedades cardiovasculares y cáncer. La búsqueda de biomarcadores metabolómicos ha llevado a importantes avances en la medicina personalizada, permitiendo terapias más dirigidas y, en última instancia, mejorando la calidad de vida de los pacientes.

Los metabolitos tienen diversas funciones en el desarrollo de enfermedades: producir energías, sintetizar o modificar macromoléculas y servir como moléculas y hormonas de señalización. Se han utilizado técnicas como cromatografía de líquidos acoplada a EM (LC-EM) para este análisis, y se han relacionado con algunas enfermedades como el cáncer y la diabetes 2. A continuación, se presentan los avances en el uso de la metabolómica en el cáncer diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares.

6.2.3. METABOLÓMICA Y BIOMARCADORES EN CÁNCER

Se prevé que para 2030 alrededor de 17 millones de personas morirán cada año a causa del cáncer. Las células cancerosas tienen un metabolismo defectuoso que provoca una proliferación descontrolada, este metabolismo alterado genera características metabólicas únicas que pueden usarse para ayudar en el descubrimiento temprano del cáncer, el tratamiento personalizado o evaluar la respuesta terapéutica (QIU *et al.*, 2023). Los procesos bioquímicos y las vías metabólicas se pueden describir en detalle utilizando la metabolómica en lugar de los procedimientos estándar de laboratorio clínico.

La transformación oncogénica altera el metabolismo intracelular y contribuye al crecimiento de células malignas. La metabolómica puede revelar información sobre la progresión del cáncer que otros estudios de biomarcadores no pueden revelar. La cantidad de metabolitos involucrados en este proceso ha sido objeto de atención para la detección, el seguimiento y la terapia del cáncer (SURI *et al.*, 2023).

Investigaciones recientes han mostrado que técnicas metabolómicas se puede utilizar para discernir indicadores metabólicos de forma no invasiva utilizando diferentes métodos analíticos como la tomografía por emisión de positrones, imágenes espectroscópicas de resonancia magnética, etc., la metabolómica también puede predecir cambios metabólicos individuales en respuesta al tratamiento del cáncer, medir la eficacia de los medicamentos y monitorear la resistencia a los medicamentos (QIU *et al.*, 2023).

La investigación en metabolómica ha identificado varios biomarcadores potenciales en diferentes tipos de cáncer. Es importante tener en cuenta que los

biomarcadores pueden variar según el tipo y el estadio del cáncer y la validación continua en estudios clínicos es necesaria para confirmar su utilidad. A pesar de estas variaciones, aquí hay algunos ejemplos de biomarcadores metabolómicos destacados en varios tipos de cáncer. El descubrimiento de biomarcadores sensibles para el cáncer mediante una estrategia adaptada es ahora un foco de atención en la investigación del cáncer y puede utilizarse como herramienta de detección para la focalización terapéutica de enzimas metabólicas. La intervención temprana en el tratamiento del cáncer podría conducir a mejores resultados si estas tácticas se aplican con éxito, en el futuro, los biomarcadores de diagnóstico y pronóstico de enfermedades desempeñarán un papel importante en el tratamiento individualizado y la medicina de precisión. El análisis de los fenotipos metabólicos permitirá categorizar a los pacientes según sus perfiles metabólicos. En la **tabla 17** se presentan algunos metabolitos genéricos utilizados para el diagnóstico pronóstico y tratamiento de algunos tipos de cáncer.

Tabla 17. *Metabolitos detectados en diferentes tipos de cáncer mediante metabolómica*

Metabolito	Tipo de cáncer	Descripción	
Ácido láctico (lactato)	Cáncer de mama, próstata, pulmón entre otros tipos de cáncer.	El lactato puede ser un indicador de la actividad metabólica y la hipoxia en tumores. Evalúa la respuesta al tratamiento y para predecir el pronóstico. A menudo se acumula en grandes cantidades en el microambiente tumoral debido a la fermentación láctica, incluso en presencia de oxígeno (efecto Warburg).	(LIMA <i>et al.</i> , 2018; MORAVA <i>et al.</i> , 2023)
Glutamato y glutamina		Los cambios en los niveles de estos aminoácidos están relacionados con la proliferación celular y se han observado en varios tipos de cáncer. La glutamina proporciona un sustrato importante para el ciclo del ácido tricarbóxico (TCA) en las mitocondrias, que es crucial para la producción de energía. La glutamina también puede ser un sustrato importante para el crecimiento tumoral.	(WANG <i>et al.</i> , 2023)

Acetato puede convertirse en acetil-CoA, que es un intermediario central en el metabolismo celular	Niveles elevados de acetato tienen correlación con la malignidad en algunos tipos de cáncer.	Se ha encontrado en el microambiente tumoral, las células cancerosas y las células del estroma pueden intercambiar metabolitos, incluido el acetato. Esta “comunicación” metabólica entre las células puede proporcionar a las células cancerosas recursos metabólicos adicionales para mantener su crecimiento y proliferación. En las condiciones de hipoxia (baja disponibilidad de oxígeno), que son comunes en los tumores sólidos debido al rápido crecimiento celular, las células cancerosas pueden depender más del metabolismo del acetato para generar energía en lugar del metabolismo oxidativo de la glucosa.	(QIU <i>et al.</i> , 2023)
Colina	Los niveles elevados de colina y sus derivados se han observado en el cáncer de próstata y otros tipos de cáncer.	La colina está involucrada en la síntesis de membranas celulares y se ha asociado con la proliferación celular y se ha utilizado como biomarcador en estudios de imágenes para identificar la proliferación celular en tumores.	(WANG <i>et al.</i> , 2011; MORAVA <i>et al.</i> , 2023)
Fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE):	Cáncer hepático y otros tipos de cáncer.	Estos son componentes principales de las membranas celulares y su desregulación se ha observado en varios tipos de cáncer. Los fosfolípidos pueden influir en la actividad de diversas enzimas y receptores en la superficie celular	ELMALLAH <i>et al.</i> , 2023)
Metabolitos de Aminoácidos	Correlacionados con la malignidad en algunos tipos de cáncer.	Alteraciones en los niveles de aminoácidos como alanina, serina y glicina se han relacionado con el cáncer. Por ejemplo, la serina puede ser un biomarcador en el cáncer de pulmón y el cáncer de mama.	(DUBEY <i>et al.</i> , 2023; MORAVA <i>et al.</i> , 2023)
Metabolitos de nucleótidos	Correlacionados con la malignidad en algunos tipos de cáncer.	La desregulación de los metabolitos de nucleótidos, como el ácido úrico y el ácido hipoxantrico, se ha observado en ciertos tipos de cáncer.	(MORAVA <i>et al.</i> , 2023)

Bases de Purina y Pirimidina	Correlacionados con la malignidad en algunos tipos de cáncer.	Alteraciones en las bases de purina y pirimidina, los componentes básicos del ADN y el ARN pueden indicar disregulaciones en el metabolismo nucleotídico asociado con la proliferación celular.	(Morava <i>et al.</i> , 2023)
Metabolitos de Lípidos	Correlacionados con la malignidad en algunos tipos de cáncer.	Diversos metabolitos lipídicos, como los ácidos grasos, los fosfolípidos y los esfingolípidos, han mostrado cambios en su perfil en el cáncer y pueden ser indicadores de la actividad tumoral.	(Xu <i>et al.</i> , 2023; Morava <i>et al.</i> , 2023)

Un biomarcador específico, conocido como marcador tumoral, se emplea para identificar la presencia de células cancerosas o evaluar el avance de un cáncer. Este marcador es una sustancia presente en las células cancerosas o en otras células del cuerpo que se produce en respuesta al cáncer o a condiciones no cancerosas. Proporciona información crucial sobre el cáncer, como su grado de malignidad, la posibilidad de aplicar terapias dirigidas y la efectividad del tratamiento (SALAZAR y Le, 2021).

Estos marcadores pueden detectarse en la sangre, la orina y otros tejidos, son útiles para el diagnóstico, la estadificación del cáncer, el monitoreo postratamiento y la evaluación de la respuesta al mismo. Diversas tecnologías ómicas, incluyendo la metabolómica, permiten detectar estos marcadores tumorales (BARZAMAN *et al.*, 2020). A continuación, se detallan los marcadores tumorales más comúnmente utilizados, especialmente para guiar el tratamiento o el diagnóstico del cáncer (tabla 18).

Tabla 18. *Marcadores tumorales detectados en diferentes tipos de cáncer mediante metabolómica.*

Marcador tumoral	Cáncer	Uso	Referencia
Actividad de la enzima tiopurina S-metiltransferasa (TPMT) o análisis del gen TPMT.	Leucemia linfoblástica aguda	Anticipar la probabilidad de sufrir una grave toxicidad en la médula ósea (mielodepresión) debido al tratamiento con tiopurina.	(SCHWARZ <i>et al.</i> , 2023)
El activador del plasminógeno urocinasa (uPA) y el inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1).	Cáncer de seno	Evaluar la naturaleza maligna del cáncer y guiar el enfoque terapéutico.	(BARZAMAN <i>et al.</i> , 2020)

Alfafetoproteína (AFP)	Cáncer de hígado y tumor de células germinativas	Establecer el diagnóstico del cáncer hepático y monitorear la efectividad del tratamiento; examinar la etapa, las perspectivas y la respuesta terapéutica en los tumores de células germinativas.	(SALAZAR y LE, 2021).
Los oncometabolitos, incluidos el 2-hidroxiglutarado, la sarcosina [50] y la glutamina	Cáncer de próstata	El perfil metabólico de la progresión del cáncer de próstata (CaP) identificó niveles marcadamente elevados de sarcosina (N -metilglicina) en el CaP metastásico y una elevación modesta pero significativa del metabolito en la orina del CaP.	(KHAN <i>et al.</i> , 2013)

6.2.4. BIOMARCADORES METABOLÓMICOS EN DIABETES 2

La diabetes mellitus (DM) tipo 1 y tipo 2 son enfermedades crónicas que afectan a casi 425 millones de personas en todo el mundo (GUASCH-FERRÉ *et al.*, 2016), lo que genera malos resultados de salud y altos costos de atención médica. La detección de metabolómica de alto rendimiento puede proporcionar información vital sobre las vías fisiopatológicas de la DM y ayudar a controlar sus efectos. Un biomarcador es una medida objetiva de una característica biológica normal, un proceso patológico o una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica.

En la **tabla 19** se muestran las relaciones entre los metabolitos y la diabetes tipo 1 (DT1) y los metabolitos y la diabetes tipo 2 (DT2). En estudios que utilizan metabolómica de alto rendimiento, varios aminoácidos sanguíneos parecen estar constantemente asociados con el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2. Varios estudios han evaluado la relación entre una amplia gama de metabolitos, la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2, utilizando principalmente dos técnicas diferentes: EM junto con cromatografía en fase gaseosa o líquida (GC y LC, respectivamente) y cromatografía de protones (^1H) espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN).

Tabla 19. *Relación entre los metabolitos para diabetes tipo 2*

Metabolito	Descripción	Referencias
Glucosa y fructosa	El exceso de fructosa puede inducir resistencia a la insulina, aumentar los niveles de glucosa en la sangre y provocar acumulación de grasa en el hígado, como la esteatosis hepática no alcohólica (EHNA), común en personas con diabetes tipo 2.	(ARNETH <i>et al.</i> , 2019)
Acilcarnitinas, aminoácidos, hexosas y fosfolípidos esfingomielinas y triglicéridos.	Los aminoácidos de cadena ramificada y sus metabolitos están estrechamente vinculados con la resistencia a la insulina, habiéndose observado disparidades en su nivel.	(FLOEGEL <i>et al.</i> , 2011. ARNETH <i>et al.</i> , 2019)
Aminoácidos de cadena ramificada (BCAA-leucina, isoleucina y valina)	Los aminoácidos de cadena ramificada son esenciales para la síntesis de proteínas y pueden actuar como reguladores del metabolismo; en personas con diabetes tipo 2, los niveles elevados de BCAA pueden estar relacionados con la resistencia a la insulina y la obesidad, contribuyendo al desarrollo de estos problemas.	(ZHAO <i>et al.</i> , 2016; KARUSHEVA <i>et al.</i> , 2019; WANG <i>et al.</i> , 2011)
Aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano, tirosina):	El incremento en los niveles de aminoácidos aromáticos se ha vinculado con la resistencia a la insulina y podría estar conectado con la inflamación crónica, una condición frecuente en personas con diabetes tipo 2.	(WANG <i>et al.</i> , 2023; DOBROWOLSKI <i>et al.</i> 2022)
Glicina	La glicina, un aminoácido no esencial con diversas funciones cruciales, incluyendo su papel como neurotransmisor inhibidor, podría mejorar la sensibilidad a la insulina y reducir la glucosa en sangre en diabetes tipo 2, además de poseer propiedades antiinflamatorias y antioxidantes beneficiosas para esta enfermedad.	(WANG <i>et al.</i> , 2023; DOBROWOLSKI <i>et al.</i> 2022)
Glutamina.	La glutamina, un aminoácido esencial abundante en el cuerpo, desempeña un papel crucial en el metabolismo y el bienestar del sistema intestinal, y podría regular los niveles de glucosa y fortalecer la función inmunológica en personas con diabetes tipo 2.	(WANG <i>et al.</i> , 2023; DOBROWOLSKI <i>et al.</i> 2022)
Acilcarnitinas, acilglicinas y derivados del triptófano	Lesiones renales que han progresado desde la microalbuminuria a la macroalbuminuria.	(VAN DER KLOET <i>et al.</i> , 2013)

Los productos finales de la glicación avanzada (AGEs) son indicadores biológicos que se asocian con complicaciones crónicas de la diabetes, como retinopatía, nefropatía y neuropatía. En personas con diabetes, es común encontrar cambios en los perfiles lipídicos, incluyendo niveles elevados de triglicéridos, colesterol total y lipoproteínas de baja densidad (LDL), así como niveles reducidos de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (WANG *et al.*, 2023; DOBROWOLSKI *et al.*, 2022). Además, se han observado alteraciones en los niveles de aminoácidos, como leucina, isoleucina y valina en individuos con diabetes tipo 2, y estas alteraciones se vinculan con la resistencia a la insulina y la disfunción metabólica.

Los niveles elevados de ácido úrico también están asociados con un mayor riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 y pueden estar relacionados con la resistencia a la insulina. Además, los ácidos grasos libres y sus metabolitos, como los ácidos grasos no esterificados (NEFAs) y los ácidos grasos hidroxilados, están relacionados con la resistencia a la insulina y la disfunción metabólica en la diabetes tipo 2 (DOBROWOLSKI *et al.*, 2022). Por otro lado, los marcadores de inflamación, como la proteína C reactiva (PCR) y otros mediadores inflamatorios, se encuentran elevados en personas con diabetes y están relacionados con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares. Además, los productos de oxidación de lípidos y otros metabolitos relacionados con el estrés oxidativo están aumentados en personas con diabetes y podrían contribuir a las complicaciones diabéticas.

En investigaciones anteriores, Wang y sus colegas detectaron un aumento en los niveles de aminoácidos de cadena ramificada (valina, leucina e isoleucina) y aminoácidos aromáticos (fenilalanina y tirosina) en las muestras de suero de pacientes diabéticos. Un estudio adicional realizado por FLOEGEL *et al.* (2013) también analizaron las muestras de suero de personas con diabetes tipo 2 (FLOEGEL *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2023). Utilizando un espectrómetro de masas y aplicando una infusión directa a la muestra, encontraron diferencias significativas en varios aminoácidos de cadena ramificada y sus metabolitos, los cuales están fuertemente vinculados con la resistencia a la insulina.

Se han identificado por técnicas metabolómicas integrales de alto rendimiento una serie de metabolitos plasmáticos asociados prospectivamente con la prediabetes y la diabetes tipo 2 en humanos. La evidencia actual sugiere que los metabolitos de carbohidratos (glucosa y fructosa), lípidos (fosfolípidos, esfingomielinas y triglicéridos) y aminoácidos (BCAA, aminoácidos aromáticos, glicina y glutamina) están alterados en individuos con diabetes tipo 2 y también exhiben asociaciones prospectivas significativas con prediabetes o diabetes tipo 2 (Wang *et al.*, 2023; Dobrowolski *et al.*, 2022). Los resultados de estudios prospectivos respaldan asociaciones positivas sólidas de BCAA (leucina, isoleucina y valina),

aminoácidos aromáticos (tirosina y fenilalanina) y asociaciones inversas de glicina y glutamina con diabetes tipo 2 incidente (GUASCH-FERRÉ *et al.*, 2016).

En investigaciones anteriores, WANG *et al.* (2023) detectaron un aumento en los niveles de aminoácidos de cadena ramificada (valina, leucina e isoleucina) y aminoácidos aromáticos (fenilalanina y tirosina) en las muestras de suero de pacientes diabéticos (WANG *et al.*, 2023). Un estudio adicional realizado por FLOEGEL y su equipo en 2013 también analizaron las muestras de suero de personas con diabetes tipo 2 (FLOEGEL *et al.*, 2013). Utilizando un espectrómetro de masas y aplicando una infusión directa a la muestra, encontraron diferencias significativas en varios aminoácidos de cadena ramificada y sus metabolitos, los cuales están fuertemente vinculados con la resistencia a la insulina.

6.2.5. METABOLÓMICA EN DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

En la búsqueda constante de herramientas diagnósticas más precisas y efectivas, la metabolómica se ha destacado como un campo innovador y prometedor, especialmente en el ámbito de las enfermedades cardiovasculares. Estas condiciones, que incluyen enfermedades del corazón y trastornos vasculares, representan una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo.

Este enfoque metabólico no solo permite una comprensión más profunda de los mecanismos subyacentes, sino que también ofrece la posibilidad de identificar biomarcadores específicos y patrones metabólicos característicos, allanando así el camino para diagnósticos más tempranos, precisos y personalizados en el ámbito cardiovascular. En este contexto, la **tabla 20** muestra la aplicación de la metabolómica en diagnostico las enfermedades cardiovasculares, marcando un hito significativo en la medicina de precisión y la mejora de la salud cardiovascular a nivel global.

Tabla 20. Biomarcadores detectados mediante metabolómica en enfermedades cardíacas

Biomarcador	Función	Referencia
Metabolitos lipídicos	Diversos metabolitos lipídicos, incluyendo ácidos grasos libres, ceramidas, fosfolípidos y esfingolípidos, están asociados con enfermedades cardíacas, como la aterosclerosis y la enfermedad coronaria. Los perfiles lipídicos anormales pueden indicar un mayor riesgo de enfermedad cardíaca.	(ELMALLAH <i>et al.</i> , 2022)

Aminoácidos y derivados	Cambios en los niveles de aminoácidos, como la homocisteína, están relacionados con enfermedades cardíacas. La homocisteína elevada se asocia con un mayor riesgo de enfermedad arterial coronaria.	(KARUSHEVA <i>et al.</i> , 2019)
Biomarcadores inflamatorios	La inflamación está implicada en muchas enfermedades cardíacas. Biomarcadores como la proteína C reactiva (PCR) y ciertas citocinas pueden indicar la presencia de inflamación en el sistema cardiovascular.	(ZHAO <i>et al.</i> , 2023)
Metabolitos del estrés oxidativo	El estrés oxidativo contribuye al deterioro de los vasos sanguíneos y a las enfermedades del corazón. Los compuestos derivados del estrés oxidativo, como los productos de la peroxidación lipídica, pueden utilizarse como indicadores biológicos.	(DOBROWOLSKI <i>et al.</i> , 2022)
Metabolitos de la glucosa	Los niveles de glucosa y otros compuestos vinculados al proceso metabólico de la glucosa, como la insulina, pueden señalar la presencia de resistencia a la insulina y diabetes, ambos factores de riesgo para enfermedades cardíacas.	(ZHANG <i>et al.</i> , 2022)
Metabolitos del ácido úrico	El ácido úrico elevado se ha asociado con un mayor riesgo de hipertensión y enfermedad cardíaca. Puede indicar disfunción metabólica y renal.	(WU y YOU 2023).
Metabolitos relacionados con el metabolismo del nitrógeno	Los metabolitos relacionados con el óxido nítrico, un importante regulador de la función vascular, pueden ofrecer información sobre la salud cardiovascular.	(WANG <i>et al.</i> , 2011; GAI <i>et al.</i> , 2021)
Metabolitos de la creatinina	La creatinina y otros metabolitos relacionados pueden indicar problemas renales, que a su vez están relacionados con enfermedades cardíacas.	(GAI <i>et al.</i> , 2021; ARAGAM <i>et al.</i> , 2022)
Metabolitos del amoníaco	Elevados niveles de amoníaco en sangre pueden indicar insuficiencia cardíaca y otros problemas cardíacos.	(ARAGAM <i>et al.</i> , 2022)
Niveles elevados de N-óxido de trimetilamina en plasma (TMAO)	El metabolismo de la colina y la fosfatidilcolina en el microbiota intestinal produce trimetilamina (TMA), que se metaboliza aún más a una especie proaterogénica, el N-óxido de trimetilamina (TMAO).	(KOETH <i>et al.</i> , 2013)

6.3. METABOLÓMICA EN DIAGNÓSTICO EN ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Cada vez más, el metabolismo desregulado también se reconoce como un importante contribuyente a una enfermedad que tradicionalmente no se considera de origen “metabólico”, e incluso en enfermedades críticas como la sepsis. La

metabolómica ha demostrado el potencial de predecir la gravedad y diferenciar a los pacientes con sepsis del SIRS, e indicó vías de producción de energía que desempeñan funciones vitales en la fisiopatología de la sepsis. Por lo tanto, la metabolómica puede servir como una herramienta precisa y no invasiva no solo para definir biomarcadores que predicen la incidencia, gravedad y progresión de la enfermedad, sino también para arrojar nueva luz sobre las anomalías mecánicas subyacentes (PEG *et al.*, 2021).

La metabolómica basada en EM es una de las tecnologías clave para detectar e identificar las pequeñas moléculas producidas por la microbiota humana y comprender el papel funcional de estos metabolitos microbianos. Las formas comunes de EM no dirigida y los tipos de datos que se pueden obtener en el contexto del análisis del microbioma serán tema del siguiente capítulo.

La microbiota es una parte maleable de los ecosistemas, incluido el ecosistema humano. Los microorganismos no solo afectan la química de su nicho específico, como el intestino humano, sino también la química de entornos distantes, como otras partes del cuerpo. La metabolómica basada en EM es una de las tecnologías clave para detectar e identificar las pequeñas moléculas producidas por el microbioma humano y comprender el papel funcional de estos metabolitos microbianos (PEG *et al.*, 2021). Esta revisión tiene como objetivo proporcionar una introducción fundamental a las formas comunes de EM no dirigida y los tipos de datos que se pueden obtener en el contexto del análisis de microbiomas. El análisis de datos sigue siendo un obstáculo, por lo que se hace hincapié en los enfoques de análisis de datos y el análisis integrador, incluida la integración de datos de secuenciación de microbiomas.

6.3.1. METABOLÓMICA EN RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

En el contexto de la resistencia antimicrobiana, la metabolómica se ha convertido en una herramienta valiosa para comprender las complejas interacciones entre los microorganismos y los antibióticos, así como los mecanismos subyacentes de resistencia. Al analizar los cambios en los metabolitos de las células microbianas expuestas a antibióticos, los científicos pueden identificar posibles dianas terapéuticas y comprender mejor cómo los microorganismos se adaptan y desarrollan resistencia a los tratamientos antimicrobianos.

Los estudios de metabolómica en resistencia antimicrobiana han revelado alteraciones en rutas metabólicas específicas, la producción de metabolitos secundarios y cambios en las concentraciones de compuestos específicos en respuesta a la exposición a antibióticos. Estos hallazgos proporcionan información crucial para el diseño de nuevos fármacos antimicrobianos y estrategias terapéuticas, temas que serán tratados en el siguiente capítulo.

7. OTRAS APLICACIONES DE LAS PRINCIPALES ÓMICAS

En la última década, la ciencia y la tecnología han presenciado un avance sin precedentes en las ciencias ómicas. A pesar de que estas disciplinas han desempeñado un papel crucial en campos como la medicina y la investigación biomédica, su influencia se expande mucho más allá del ámbito de la atención médica. En esta sección, se abordarán otras aplicaciones de las ciencias ómicas en la industria y la biotecnología. Desde la mejora de los procesos de producción hasta la optimización de la calidad de los productos, estas tecnologías están revolucionando la forma de abordar los desafíos en la industria y la biotecnología moderna. Las ciencias ómicas ofrecen soluciones innovadoras que impulsan la eficiencia, promueven la sostenibilidad y fomentan la excelencia en la producción industrial y en la biotecnología (ÖZDEMİR, 2018).

Las ómicas desempeñan un papel esencial en la industria al impulsar la optimización de procesos, la ingeniería de cepas y la producción de productos químicos y biotecnológicos más eficientes. Las técnicas de nueva generación en la industria, como las innovaciones tecnológicas y la Industria 4.0, son cruciales en la era contemporánea. Estas tecnologías permiten la adquisición y generación de conocimiento científico, impulsan el desarrollo de procesos de investigación y facilitan la creación de nuevos paradigmas en la producción (ÖZDEMİR, 2018). Además, la integración de sistemas inteligentes y la automatización optimizan la eficiencia, reducen costos y mejoran la calidad del producto final. En un entorno global de competencia, estas técnicas son esenciales para que las empresas se adapten, innoven y permanezcan competitivas. La cuarta revolución industrial, también conocida como Industria 4.0, es un claro ejemplo de esta transformación, donde la convergencia de tecnologías como el internet de las cosas (IOT, red colectiva de dispositivos conectados), la inteligencia artificial y el análisis de datos redefine los procesos industriales, generando un impacto significativo en la productividad y la economía mundial (ÖZDEMİR, 2018; ÖZDEMİR y HEKİM, 2018).

7.1. ÓMICAS EN LA INDUSTRIA

Las ómicas han irrumpido en la industria con un impacto transformador. Estas ciencias han encontrado su lugar en una amplia variedad de sectores industriales, incluyendo la alimentaria, farmacéutica y de la salud. Su capacidad para analizar de forma integral datos moleculares ha permitido avances significativos en la comprensión de sistemas biológicos y en el desarrollo de nuevos productos y tratamientos. Estas ciencias han encontrado en la industria farmacéutica, han permitido un análisis detallado de las interacciones moleculares en el cuerpo humano, mejorando el descubrimiento y desarrollo de medicamento, además, aplicaciones en la industria alimentaria para mejorar la seguridad alimentaria y la calidad de los productos.

En agricultura las ciencias ómicas se utilizan para mejorar cosechas y desarrollar plantas resistentes a enfermedades; en la industria del medio ambiente, ayudan en la monitorización de ecosistemas, facilitando una gestión más efectiva de los recursos naturales y respuestas rápidas a problemas ambientales; en la producción de biocombustibles optimizan los procesos para mayor eficiencia y sostenibilidad. Incluso en la industria cosmética, se emplean para desarrollar productos personalizados basados en perfiles genéticos y moleculares individuales (**tabla 21**). Este impacto multidisciplinario ilustra el poder transformador de las ciencias ómicas en diversas áreas industriales. En el cuadro se muestran las aplicaciones de las ómicas en la industria biofarmacéutica y de alimentos.

Tabla 21. *Aplicaciones de las ómicas en la industria*

Aplicación	Descripción
Secuenciación genómica en agricultura	Permite desarrollar cultivos resistentes a enfermedades y adaptados a condiciones específicas, mejorando así la productividad agrícola. La genómica se utiliza en la agricultura para mejorar la resistencia de los cultivos a plagas y enfermedades, aumentar el rendimiento y desarrollar cultivos de precisión. Precisión con mejora de cultivos agrícolas.
Secuenciación del genoma en industria farmacéutica	Identificar dianas terapéuticas, desarrollando medicamentos personalizados y más efectivos. La proteómica se aplica en la producción de proteínas terapéuticas recombinantes, garantizando la calidad y la uniformidad de los productos biofarmacéuticos.
Mejora de cepas microbianas	La Ingeniería genómica se utiliza para modificar cepas microbianas con el fin de aumentar la producción de productos químicos, bioplásticos, enzimas y otros compuestos industriales.
Secuenciación de genomas de organismos Industriales	Estudios específicos en los que se ha secuenciado el genoma de organismos industriales, como levaduras y bacterias utilizadas en la producción industrial.
Biología sintética	La genómica se combina con la biología sintética para diseñar organismos personalizados que puedan realizar tareas industriales específicas, como la producción de biocombustibles.
Optimización de procesos industriales	Tanto la genómica como la proteómica son herramientas esenciales en la industria, permitiendo optimizar procesos, controlar la producción, y mejorar la eficiencia al reducir residuos y caracterizar microorganismos para la producción de productos químicos y biotecnológicos.

Control de calidad y seguridad alimentaria	Se aplica en la industria alimentaria para garantizar la calidad y seguridad de los productos, incluyendo la detección de patógenos y la trazabilidad. La proteómica se emplea en la detección de contaminantes en productos alimentarios y farmacéuticos, así como en el control de calidad para garantizar la seguridad de los productos.
Gestión ambiental y biotecnología verde	La genómica se utiliza en la biotecnología verde para abordar desafíos ambientales, como la degradación de contaminantes y la restauración de ecosistemas.
Edición genética	Exploración de las tecnologías de edición genética, como CRISPR-Cas9, y su potencial en la corrección de mutaciones genéticas y el desarrollo de terapias génicas.
Enfoques terapéuticos innovadores	Ejemplos de terapias innovadoras basadas en genómica, como la inmunoterapia y la terapia génica, que están revolucionando el tratamiento de enfermedades.
Descubrimiento y desarrollo de medicamentos	La proteómica se utiliza en la identificación de blancos terapéuticos, la validación de biomarcadores y la evaluación de la eficacia de fármacos en desarrollo en la industria farmacéutica.
Proteómica en la industria farmacéutica	Examina cómo la proteómica se aplica en la identificación de blancos terapéuticos, el desarrollo y la evaluación de fármacos, y la optimización de las terapias existentes.
Aplicaciones de la metabolómica en la industria de los cosméticos	Investiga cómo la metabolómica se utiliza para el desarrollo y la evaluación de productos cosméticos, identificando ingredientes activos y evaluando la seguridad y eficacia.
Metabolómica en la industria alimentaria	Explora cómo la metabolómica se aplica para garantizar la seguridad y calidad de los alimentos, rastrear el origen y autenticidad de los productos alimenticios y mejorar la eficiencia de la producción.
Producción de alimentos	La transcriptómica se utiliza para optimizar la producción de alimentos, como la fermentación de productos lácteos y la producción de levadura.
Ómicas en la industria de alimentos funcionales	Examina cómo las tecnologías ómicas se aplican para desarrollar alimentos funcionales con propiedades nutricionales mejoradas y beneficios para la salud.
Ómicas en la biotecnología de la acuicultura	Examina cómo las tecnologías ómicas se utilizan para mejorar la producción y salud de organismos acuáticos cultivados, incluyendo peces y mariscos.
Ómicas en la industria ambiental	Investiga cómo las ómicas se utilizan para evaluar la salud de los ecosistemas, monitorear la contaminación y desarrollar soluciones sostenibles para la gestión ambiental.

Diagnóstico de problemas ambientales	Investiga cómo las tecnologías ómicas se aplican para diagnosticar y resolver problemas ambientales, como la contaminación del suelo y del agua.
Genómica cultivos y ganado	Aumenta la resistencia a enfermedades, mejorando la calidad nutricional y aumentando la producción agrícola.

En la producción de alimentos y bebidas, la transcriptómica se utiliza para monitorear y controlar microorganismos contaminantes. La detección temprana de patógenos a través del análisis de su ARN permite una respuesta rápida y efectiva, asegurando la calidad y seguridad de los productos finales (FERROCINO *et al.*, 2022). La transcriptómica es fundamental para entender los microbiomas presentes en diversos entornos industriales, desde plantas de tratamiento de aguas residuales hasta procesos de biorremediación. Analizar la expresión génica en estas comunidades microbianas proporciona información crucial para mejorar la eficacia de estos procesos y reducir el impacto ambiental de las industrias.

7.2. CIENCIAS ÓMICAS EN LA PRODUCCIÓN DE BIOFARMACÉUTICA

En la producción de biofarmacéutica, las ómicas, en especial la genómica y la proteómica permiten la optimización de cepas celulares y la identificación de proteínas terapéuticas. El análisis profundo de datos genómicos ha acelerado el desarrollo de medicamentos biológicos, mejorando la eficiencia y reduciendo costos. Al comprender los aspectos genéticos y proteómicos de las células productoras, las compañías farmacéuticas pueden optimizar sus procesos de producción, lo que lleva a una mayor eficiencia y reducción de costos en la fabricación de biofarmacéuticas (MASSO *et al.*, 2023).

7.2.1. OPTIMIZACIÓN DE CEPAS CELULARES

La genómica permite analizar los genes de microorganismos o células de mamíferos usados en la producción de biofarmacéuticos. Esto lleva a la selección y modificación de cepas que producen proteínas terapéuticas de manera más eficiente, la optimización de cepas celulares es un proceso crítico en la producción biotecnológica, especialmente en la fabricación de productos farmacéuticos y biofarmacéuticas. La optimización implica mejorar las características de las células para aumentar la producción de proteínas específicas o metabolitos (KOSTIDIS *et al.*, 2023).

Las técnicas de selección genética permiten identificar y elegir cepas celulares con características deseables, como alta productividad o resistencia a condiciones

específicas de cultivo. Por otro lado, la ingeniería metabólica implica modificar las vías metabólicas de las células para aumentar la producción de compuestos específicos en donde la lipidómica juega un papel fundamental (KOSTIDIS *et al.*, 2023). Esto se logra manipulando genes involucrados en las rutas metabólicas clave y modificaciones postranscripcionales como la glicosilación (Puranik *et al.*, 2022). Otras tecnologías como las técnicas modernas de clonación –CRISPR-Cas9, por ejemplo– permiten modificar genéticamente células de manera precisa, lo que puede aumentar la productividad y la resistencia al estrés.

La optimización también se realiza en biorreactores, donde se controlan cuidadosamente variables como la temperatura, el pH y la concentración de nutrientes. Estas condiciones óptimas aseguran un crecimiento celular saludable y una alta producción de metabolitos deseados (ALINAGHI *et al.*, 2022). La implementación de sistemas de monitoreo continuo, como sensores de oxígeno y glucosa, permite ajustes en tiempo real para mantener las condiciones de cultivo ideales y maximizar la producción. Los medios de cultivo son fundamentales, optimizar la composición de los medios, incluyendo nutrientes y factores de crecimiento, es esencial para el crecimiento celular y la producción de biomoléculas (BARBERI *et al.*, 2022).

La optimización de cepas celulares es un campo en constante evolución, con la integración de tecnologías ómicas avanzadas que conducen a mejoras significativas en la producción industrial y la investigación científica. Finalmente, el uso de tecnologías ómicas ayuda a comprender mejor las características celulares y guía la optimización al identificar los puntos críticos en las vías metabólicas.

7.2.2. CARACTERIZACIÓN PROTEÓMICA EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

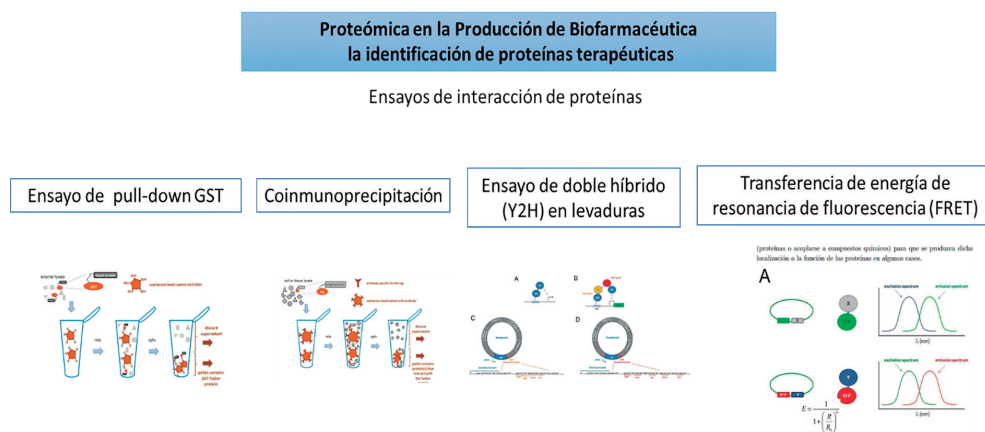
La caracterización proteómica en la producción de biofarmacéuticos permite el análisis detallado y exhaustivo de las proteínas expresadas en células o tejidos específicos que se utilizan en la producción de medicamentos biológicos, como anticuerpos monoclonales, vacunas y terapias génicas. Esta técnica avanzada implica varias etapas y tiene implicaciones cruciales en la calidad y eficacia del producto final. La proteómica también se aplica en la industria alimentaria para el control de calidad, la detección de alérgenos y la mejora de la seguridad alimentaria.

La proteómica no solo permite la identificación precisa de las proteínas presentes en las células utilizadas en la producción, además, ayuda en la cuantificación exacta de estas proteínas, lo que es esencial para garantizar la consistencia en lotes de producción y la eficacia terapéutica del biofarmacéutico (LILL *et al.*, 2021), adicionalmente, las proteínas pueden sufrir diversas modificaciones después de su síntesis, como glicosilación y fosforilación (PURANIK *et al.*, 2022).

La proteómica permite el estudio detallado de estas modificaciones, lo que es crucial para comprender la funcionalidad y la estabilidad de las proteínas terapéuticas. Además, durante la producción de biofarmacéuticos, es fundamental identificar y cuantificar cualquier impureza presente en el producto final. La proteómica puede detectar trazas de proteínas no deseadas, garantizando la pureza del medicamento y la seguridad del paciente (LILL *et al.*, 2021). Es así como al comprender las proteínas involucradas en el proceso de producción, se pueden optimizar las condiciones de cultivo y los métodos de purificación para mejorar el rendimiento y la calidad del biofarmacéutico.

La caracterización proteómica también permite estudiar las interacciones entre diferentes proteínas, lo que es esencial para comprender las vías celulares y los mecanismos de acción de los biofarmacéuticos. En la **figura 17** se muestran los ensayos más utilizados por proteómica para el análisis de la interacción proteica.

Figura 17. Técnicas de Identificación de proteínas terapéuticas



La proteómica se utiliza para estudiar las interacciones entre proteínas en sistemas biológicos y cómo esto puede tener aplicaciones en la industria, como en el desarrollo de terapias dirigidas. El ensayo de *pull-down GST* (Glutathione S-Transferase) y la coimmunoprecipitación son técnicas bioquímicas utilizada para estudiar las interacciones proteína-proteína. Estos son metodos artificiales, mientras que los sistemas de doble híbrido de levaduras o mamíferos analizan estas interacciones *in vivo* (Guo *et al.*, 2017). Estos métodos proporcionan análisis de punto final y carecen de detalles sobre la dinámica en tiempo real, por ello, se han desarrollado enfoques dinámicos. La transferencia de energía fluorescente resonante (FRET) es comúnmente usada. En FRET, la energía se transfiere entre moléculas fluorescentes cercanas, medidas en angstroms. Una limitación es que

las proteínas deben fusionarse con fluoróforos diferentes, afectando su ubicación o función en algunos casos (BLAY *et al.*, 2020).

7.2.3. DESARROLLO DE BIOPROCESOS EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

La información genómica y proteómica se utiliza para diseñar procesos de fermentación y cultivo celular específicos. Esto asegura un ambiente óptimo para la producción de proteínas terapéuticas, mejorando tanto el rendimiento como la calidad del producto final (LILL *et al.*, 2021; BALCÁZAR-ZUMAETA *et al.*, 2023). El desarrollo de bioprocesos en la industria farmacéutica es esencial para la producción eficiente y segura de medicamentos biotecnológicos.

Los bioprocesos implican el uso de organismos vivos, como células o microorganismos, para producir medicamentos (ALINAGHI *et al.*, 2022). En la industria farmacéutica, estos procesos se utilizan para fabricar una variedad de medicamentos biotecnológicos, como anticuerpos monoclonales, vacunas, terapias génicas y terapia de células T con receptores quiméricos de antígenos células (CAR-T) (STERNER y STERNER, 2021). Estos medicamentos ofrecen tratamientos más precisos y efectivos para diversas enfermedades, desde el cáncer hasta las enfermedades autoinmunes.

Por otro lado, algunos bioprocesos farmacéuticos a menudo implican el cultivo de células animales o microbianas en biorreactores (ZHENG *et al.*, 2019). La optimización de las condiciones de cultivo, incluyendo la selección del medio de cultivo y el control preciso de factores como la temperatura y el pH, es crucial para maximizar el rendimiento y la calidad del producto. La fermentación es un componente central, especialmente en la producción de proteínas recombinantes y enzimas terapéuticas (AMER y BAIDOO, 2021).

La industria farmacéutica está adoptando tecnologías avanzadas como la inteligencia artificial y el aprendizaje automático para mejorar la eficiencia y la productividad de los bioprocesos (ÖZDEMİR, 2018). Estas tecnologías permiten el monitoreo en tiempo real de los biorreactores, la predicción de problemas y la optimización en función de grandes conjuntos de datos, lo que conduce a una toma de decisiones más informada y a una producción más rentable (ÖZDEMİR y HEKİM 2018). A pesar de los avances, los bioprocesos enfrentan desafíos como la necesidad de escalabilidad para la producción a gran escala, la gestión de la variabilidad biológica y la necesidad de cumplir con regulaciones estrictas.

En la industria farmacéutica, la transcriptómica se emplea para descubrir biomarcadores relacionados con enfermedades, estos biomarcadores son vitales para el desarrollo de terapias personalizadas y la creación de medicamentos más efectivos y seguros, adaptados a las necesidades individuales de los pacientes

(VOGESER y BENDT, 2023). El futuro de la industria farmacéutica se enfoca en la bioproducción sostenible, la automatización avanzada y la terapia celular y génica personalizada, promoviendo así una revolución en la forma en que tratamos enfermedades y mejoramos la calidad de vida de los pacientes.

7.3. CIENCIAS ÓMICAS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

En los últimos años, la investigación en ciencias de la alimentación y la nutrición ha pasado de métodos analíticos clásicos a enfoques ómicos muy sofisticados que crean una cantidad impresionante de datos (FERROCINO *et al.*, 2022). Las últimas novedades solo pueden analizarse mediante herramientas bioinformáticas. Los trabajos publicados hasta ahora han demostrado el poder de las tecnologías ómicas en el campo de la foodómica que es una disciplina científica que explora el ámbito de la alimentación y la nutrición. Profundiza en la comprensión de cómo los alimentos impactan la salud y el bienestar humanos. Este campo analiza biomoléculas en los alimentos para obtener información sobre su composición y efectos en el cuerpo humano (SÉBÉDIO y MALPUECH-BRUGÈRE, 2022).

La mayoría de los estudios realizados hasta ahora utilizaron uno o dos enfoques, como la transcriptómica y metabolómica, y un desafío importante es integrar y conectar conjuntos de datos de diferentes niveles de expresión, como genes, transcripciones, proteínas y metabolitos. Sin embargo, aún queda mucho por hacer para trasladar este enfoque utilizado principalmente en los laboratorios de investigación al mundo industrial (SÉBÉDIO y MALPUECH-BRUGÈRE, 2022). La metabolómica y la lipidómica han transformado la industria alimentaria al proporcionar información detallada sobre los componentes bioquímicos de los alimentos. Esto permite un análisis exhaustivo de la calidad, seguridad y autenticidad de los productos alimenticios, garantizando estándares más altos para los consumidores.

7.3.1. AUTENTICIDAD Y PROCEDENCIA DE ALIMENTOS

La metabolómica y la lipidómica permiten identificar y cuantificar las huellas moleculares únicas de diferentes alimentos, lo que facilita la detección de fraudes alimentarios (DRAKOPOULOU *et al.*, 2023). Estas ómicas identifican marcadores moleculares específicos para diversos alimentos, incluyendo compuestos orgánicos y lípidos (SUH *et al.*, 2022; DRAKOPOULOU *et al.*, 2023). Al comparar estos perfiles, se pueden autenticar la procedencia de un producto, asegurando su calidad y autenticidad.

La metabolómica está ampliamente establecida en el campo de la autenticidad de los alimentos para abordar cuestiones exigentes, como los casos de adulteración. La espectrometría de movilidad de iones atrapados (TIMS) acoplada a la cromatografía líquida (LC) y la EM de alta resolución (HRMS) proporciona una dimensión analítica adicional, al introducir la metabolómica mejorada por la movilidad en cuatro dimensiones (4D) (DRAKOPOULOU *et al.*, 2023).

En la **tabla 22** se presentan algunos ejemplos de cómo se utilizan estas técnicas para identificar marcadores moleculares en diferentes alimentos que permiten evaluar e identificar su autenticidad.

Tabla 22. *Análisis metabolómico en alimentos para detectar marcadores moleculares*

Alimento	Compuestos analizados	Marcadores moleculares	Propósito	Bibliografía APA
Aceite de Oliva extra-virgen	Compuestos fenólicos específicos	Alta calidad, autenticidad, previene adulteración	Identificar autenticidad y calidad	(MAESTRELLO <i>et al.</i> , 2022)
Vino	Polifenoles, ácidos grasos	Variedad de uva, condiciones de fermentación	Evaluar autenticidad y calidad	(JACOBS <i>et al.</i> , 2012)
Miel	Azúcares, aminoácidos y otros compuestos	Autenticidad, procedencia geográfica	Verificar pureza y evitar adulteraciones	KOULIS <i>et al.</i> , 2021)
Cacao y Chocolate	Flavonoides, alcaloides	Calidad del cacao, proceso de fabricación	Evaluar calidad del producto final	(BALCÁZAR-ZUMAETA <i>et al.</i> , 2023)
Leche y productos lácteos	Lípidos, proteínas y otros compuestos	Autenticidad, detección de adulteraciones	Garantizar pureza y calidad de productos lácteos	(SUH, 2022).

Además, estas técnicas multiómicas avanzadas son fundamentales para detectar fraudes alimentarios, como la falsificación de productos premium. Al analizar las firmas moleculares, los expertos pueden determinar si un producto coincide con su descripción, evitando engaños a los consumidores (KOULIS *et al.*, 2021). La metabolómica y lipidómica pueden identificar una amplia variedad de compuestos, desde aminoácidos hasta lípidos y otros metabolitos, esta diversidad permite una caracterización detallada de los alimentos, lo que es crucial para verificar su autenticidad. Al analizar estos marcadores moleculares, las industrias pueden prevenir el fraude alimentario (BALCÁZAR-ZUMAETA *et al.*, 2023).

Identificar ingredientes adulterados o falsificados ayuda a mantener la integridad de los productos, asegurando que los consumidores obtengan lo que están comprando, los marcadores moleculares también permiten establecer la trazabilidad de los alimentos. Esto implica rastrear el origen y el proceso de producción de un alimento específico, lo que es crucial para garantizar su calidad y seguridad, al comprender mejor la composición molecular de los alimentos, las empresas pueden innovar, desarrollando productos más auténticos y personalizados para satisfacer las demandas del mercado (SÉBÉDIO y MALPUECH-BRUGÈRE, 2022). Al verificar la autenticidad y procedencia, las industrias alimentarias pueden garantizar la calidad y seguridad de sus productos. Esto no solo fomenta la confianza del consumidor, sino que también protege la reputación de las marcas (FERROCINO *et al.*, 2022).

7.3.2. DESARROLLO DE ALIMENTOS FUNCIONALES

Durante mucho tiempo, se ha sabido que la nutrición y el entorno tienen un impacto significativo en la salud humana. Los fitonutrientes, que incluyen una gran variedad de flavonoides, compuestos fenólicos y carotenoides, junto con los nutrientes nutracéuticos beneficiosos para la salud, desempeñan un papel crucial en la prevención de enfermedades como el cáncer, la diabetes, la obesidad, las enfermedades cardíacas y la demencia. Los metabolitos bioactivos derivados de plantas tienen ahora un papel fundamental en la dieta, influyendo en la expresión genética a través de disciplinas como la nutrigenómica y la transcriptómica, y actuando como reguladores epigenéticos en el epigenoma, lo que se conoce como nutrieptigenómica. Para analizar estos componentes, se utilizan plataformas integrales como la transcriptómica, proteómica, epigenómica, miRNómica y metabolómica, que son fundamentales en el desarrollo de alimentos funcionales y nutracéuticos (PANDITA y PANDITA, 2022).

El término alimentos funcionales se utiliza para describir alimentos que han sido mejorados en su contenido de compuestos bioactivos a través de procesos de reproducción, influencias ecológicas o ingeniería genómica. Estos alimentos, además de proporcionar nutrición esencial, ofrecen beneficios para la salud (PANDITA y PANDITA, 2022). El concepto *alimento funcional* fue introducido en Japón en 1980 y fue definido en 1999 como productos que tienen un impacto significativo en el bienestar y la salud o que reducen el riesgo de enfermedades. Sin embargo, no existe una definición internacionalmente aceptada para los alimentos funcionales y nutracéuticos.

Los alimentos funcionales son generalmente considerados como productos procesados que no solo son nutritivos, sino que también tienen beneficios para prevenir enfermedades y promover la salud. Esta categoría incluye nutracéuticos,

alimentos farmacéuticos, probióticos, alimentos diseñados, alimentos médicos y alimentos vita. El concepto nutraceutico se aplica a un alimento o a una parte de un alimento que ofrece ventajas para la salud, incluyendo la prevención y tratamiento de enfermedades. Esta categoría abarca una amplia gama de productos, desde nutrientes aislados y suplementos dietéticos hasta alimentos diseñados, productos sintéticos, hierbas y alimentos procesados, y se sitúan entre los alimentos y los productos farmacéuticos (TÉLESSY *et al.*, 2019; PANDITA y PANDITA, 2022).

Las técnicas ómicas son fundamentales para el desarrollo de ingredientes y alimentos funcionales. Estos alimentos están formulados para tener beneficios más allá de la nutrición básica, como fortalecer el sistema inmunológico o mejorar la salud digestiva. Los avances en tecnologías ómicas se aplican en la innovación y el desarrollo industrial de alimentos funcionales y nutraceuticos, estos avances están respaldados por proyectos de investigación que integran estas disciplinas para mejorar la salud a través de la alimentación (PANDITA y PANDITA, 2022).

Analizar metabolitos ayuda a comprender cómo los alimentos afectan los procesos metabólicos en el cuerpo, lo que es crucial para desarrollar alimentos que apoyen la salud y el bienestar. La metabolómica y la lipidómica desempeñan un papel crucial en el desarrollo de alimentos funcionales, ya que proporcionan una comprensión detallada de las moléculas presentes en los alimentos y cómo afectan al organismo humano (TÉLESSY *et al.*, 2019). La metabolómica permite identificar metabolitos bioactivos en alimentos, como polifenoles y compuestos antioxidantes, que tienen efectos beneficiosos para la salud, como la reducción del estrés oxidativo y la inflamación (BALCÁZAR-ZUMAETA *et al.*, 2023; PANDITA y PANDITA, 2022).

Analizar cómo los metabolitos interactúan con los procesos metabólicos del cuerpo humano es vital para desarrollar alimentos que puedan regular el metabolismo, como aquellos dirigidos a personas con diabetes o enfermedades metabólicas (TÉLESSY *et al.*, 2019). La lipidómica permite analizar el perfil de ácidos grasos en los alimentos como es el caso de los alimentos ricos en ácidos grasos omega-3 que son fundamentales para la salud cardiovascular y cerebral (SÉBÉDIO y MALPUECH-BRUGÈRE, 2022). Además, comprende cómo ciertos lípidos, como los fosfolípidos, afectan la salud cardiovascular y metabólica es esencial para crear alimentos funcionales que puedan reducir el riesgo de enfermedades del corazón y trastornos metabólicos (TÉLESSY *et al.*, 2019). La información obtenida a través de las ómicas permite formular productos específicos para abordar problemas de salud particulares, como la obesidad, la hipertensión y las enfermedades cardíacas (PANDITA y PANDITA, 2022).

Las tecnologías ómicas también ayudan a comprender los compuestos que influyen en el sabor y la textura de los alimentos funcionales. Esto es crucial para garantizar que los alimentos desarrollados no solo sean saludables sino

también apetitosos para los consumidores. La aplicación de la metabolómica y la lipidómica en el desarrollo de alimentos funcionales representa un enfoque científico avanzado para crear productos que no solo sean agradables, sino también beneficiosos para la salud humana (KOULIS *et al.*, 2021).

Las ciencias ómicas han revolucionado tanto la industria alimentaria como la investigación médica al proporcionar una visión detallada de las moléculas presentes en los alimentos y en el cuerpo humano. Estas disciplinas no solo son esenciales para el desarrollo de alimentos funcionales, sino que también desempeñan un papel crucial en la caracterización de enfermedades y complicaciones (TÉLESSY *et al.*, 2019). Además, ayudan a formular alimentos personalizados para satisfacer las necesidades dietéticas específicas de las personas, como dietas bajas en sodio o ricas en antioxidantes, mejorando así la salud pública (SÉBÉDIO y MALPUECH-BRUGÈRE, 2022).

Las ómicas principalmente la metabolómica y la lipidómica facilitan el diagnóstico temprano de enfermedades como diabetes, cáncer y enfermedades cardíacas al identificar marcadores moleculares específicos en el cuerpo, permitiendo intervenciones preventivas más efectivas (SÉBÉDIO y MALPUECH-BRUGÈRE, 2022). Al comprender los perfiles metabólicos y lipídicos, los médicos pueden personalizar los tratamientos para enfermedades crónicas, optimizando la eficacia y minimizando los efectos secundarios (PANDITA y PANDITA, 2022). También, ayudan a entender las complicaciones asociadas con enfermedades, como la resistencia a la insulina en la diabetes, esto conduce al desarrollo de terapias más precisas y específicas.

Las tecnologías ómicas están revolucionando tanto la industria alimentaria como el campo de la medicina, mejorando la calidad de vida y facilitando avances importantes en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades. Su habilidad para ofrecer una visión completa de las complejidades moleculares en los alimentos y en el cuerpo humano las convierte en herramientas esenciales en la ciencia contemporánea.

7.4. APLICACIONES DE LAS ÓMICAS EN ÁREAS DE BIOTECNOLOGÍA

En la confluencia de la ciencia y la innovación, las ciencias ómicas han emergido como un catalizador poderoso para la revolución en la biotecnología. Estas disciplinas han abierto una ventana sin precedentes hacia la comprensión y manipulación de sistemas biológicos a nivel molecular. A medida que avanza el siglo XXI, las aplicaciones de las ómicas se han vuelto presentes en numerosos campos de la biotecnología, abarcando desde la mejora de cultivos, industria alimentaria y la producción de biofármacos hasta la biodegradación de contaminantes ambientales y el diseño de enzimas personalizadas (**figura 18**).

Tabla 23. *Aplicaciones de las ciencias ómicas en diferentes áreas de biotecnología*

Áreas de la biotecnología	Aplicaciones de las ciencias ómicas	Referencia (autor, año)
Biotecnología agrícola	Genómica para mejorar cultivos resistentes a enfermedades.	(JACOBS <i>et al.</i> , 2012; LILL <i>et al.</i> , 2021)
Biotecnología médica	Transcriptómica en el desarrollo de terapias génicas.	(PURANIK <i>et al.</i> , 2022)
Biotecnología ambiental	Metagenómica para estudiar comunidades microbianas en el suelo. La proteómica contribuye en la degradación de contaminantes y la remediación de suelos y aguas contaminadas.	(Ko <i>et al.</i> , 2022)
Biotecnología industrial	Proteómica para producir enzimas industriales.	(ZHENG <i>et al.</i> , 2019)
Biotecnología alimentaria	Metabolómica para mejorar la calidad de los alimentos.	(MAESTRELLO <i>et al.</i> , 2022)
Biotecnología farmacéutica	Genómica funcional en el desarrollo de nuevos fármacos.	(PURANIK <i>et al.</i> , 2022; BARBERI <i>et al.</i> , 2022)
Ómicas en la biorremediación	Investiga cómo la genómica se utiliza para el diseño de microorganismos modificados genéticamente que pueden degradar contaminantes ambientales, contribuyendo a la biorremediación.	(MASSON <i>et al.</i> , 2023)
Biología sintética	Investiga cómo las tecnologías ómicas se aplican en la construcción y diseño de sistemas biológicos sintéticos con aplicaciones en la producción de compuestos valiosos y en la medicina.	(ZHENG <i>et al.</i> , 2019)
Biotecnología espacial	Examina cómo las tecnologías ómicas se aplican para estudiar cómo los organismos se adaptan a condiciones espaciales y cómo se pueden desarrollar soluciones para la exploración espacial.	(MASSON <i>et al.</i> , 2023)
Biotecnología microbiana	Examina cómo la transcriptómica se utiliza para mejorar la producción de metabolitos de interés industrial en microorganismos, como bacterias y hongos.	(Ko <i>et al.</i> , 2022)

Las metodologías de secuenciación de alto rendimiento y las ómicas en general, tienen un enorme potencial para desentrañar estas contingencias y mejorar la comprensión, pero recién ahora están comenzando a materializarse en la investigación. El aumento de la globalización, la intensificación de la agricultura, la urbanización y los cambios climáticos han dado como resultado un aumento significativo reciente de enfermedades zoonóticas infecciosas emergentes. Las enfermedades zoonóticas son cada vez más comunes, por lo que se requiere una investigación innovadora, eficaz e integradora para comprender mejor su transmisión, las implicaciones ecológicas y la dinámica en las interfaces entre la vida silvestre y los humanos y también en la ganadería.

7.5. CIENCIAS ÓMICAS EN LA BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

Las ómicas ha revolucionado la agricultura al permitir el desarrollo de cultivos resistentes a enfermedades de manera más precisa y eficiente. A través del estudio detallado del genoma de plantas y patógenos, los científicos pueden identificar genes responsables de la resistencia a enfermedades. Esta información se utiliza para criar variedades de cultivos que son naturalmente resistentes a ciertas enfermedades, reduciendo así la necesidad de pesticidas y aumentando la productividad agrícola. Las ómicas en la biotecnología vegetal explora cómo la proteómica se utiliza para entender las respuestas de las plantas a factores de estrés y cómo se pueden desarrollar variedades vegetales más resistentes y productivas (**tabla 24**).

Tabla 24. *Biotecnología vegetal utilizando ómicas*

Aplicación	Descripción
Identificación de genes de resistencia	Se utilizan técnicas genómicas para identificar genes en las plantas que confieren resistencia a enfermedades específicas.
Edición genética	La edición genética, especialmente con tecnologías como CRISPR-Cas9, se emplea para modificar genes y crear cultivos resistentes a enfermedades sin necesidad de introducir genes de otras especies.
Secuenciación de patógenos	Los patógenos también se someten a secuenciación genómica para entender sus variaciones y evolución, lo que ayuda a desarrollar estrategias para combatirlos.
Mejora de vacunas vegetales	La genómica se utiliza para desarrollar vacunas vegetales, que son proteínas producidas por las plantas para resistir patógenos específicos.

Cultivos personalizados	Los agricultores pueden seleccionar variedades de cultivos diseñadas genómicamente para resistir las enfermedades más comunes en su área específica.
Reducción del uso de químicos	Al tener cultivos naturalmente resistentes, se reduce la necesidad de utilizar pesticidas y fungicidas, lo que beneficia tanto al medio ambiente como a la salud humana.

La proteómica, ha emergido como una herramienta poderosa en la investigación agrícola. En el contexto de la biotecnología vegetal, la proteómica se utiliza para analizar las respuestas de las plantas a diversos factores de estrés, como sequías, salinidad y enfermedades, proporcionando así una visión detallada de los cambios en las proteínas involucradas en estas respuestas. Comprender estas respuestas a nivel proteómico es fundamental para el desarrollo de variedades vegetales más resistentes y productivas, lo que es esencial para garantizar la seguridad alimentaria en un mundo afectado por el cambio climático y las crecientes demandas de alimentos. Numerosos estudios han respaldado esta afirmación, incluyendo investigaciones como la de KHATOON *et al.* (2023), quienes utilizaron técnicas de proteómica para identificar proteínas clave en las respuestas del arroz a la sequía y la salinidad, lo que proporciona información valiosa para la mejora genética de las plantas (KHATOON *et al.*, 2013).

7.6. ÓMICAS EN VETERINARIA

Las tecnologías de secuenciación de alto rendimiento han revolucionado el campo de la salud animal, especialmente en la detección de patógenos del ganado, el diagnóstico y la vigilancia zoonótica. Estas herramientas permiten analizar genomas de patógenos con una precisión sin precedentes, identificar nuevas variantes y comprender mejor la epidemiología de enfermedades zoonóticas. La secuenciación de próxima generación (NGS, por sus siglas en inglés) ha sido especialmente invaluable en la identificación temprana y el seguimiento de brotes de enfermedades, lo que es fundamental para la toma de decisiones informada en la gestión de la salud animal y la salud pública. Investigaciones como las de GUELBEZU-GONZALO *et al.* (2019) demuestran cómo la secuenciación de alto rendimiento se ha utilizado para analizar patógenos, como el virus de la fiebre aftosa, permitiendo una vigilancia más efectiva y una respuesta rápida a los brotes, lo que es esencial para prevenir la propagación de enfermedades zoonóticas.

Uno de los estudios realizado en la investigación ganadera mostró el estado actual del uso de tecnologías de secuenciación en la detección de patógenos en ganado bovino, canino (*Canis lupus familiaris*), ovino (*Ovis aries*), cerdos (*Sus scrofa*), caballos (*Equus caballus*), pollos (*Gallus gallus domesticus*)

y patos (*Anatidae*) y cómo puede mejorar el seguimiento y la detección de infecciones zoonóticas. También presenta varios enfoques de secuenciación de alto rendimiento para mejorar la detección de agentes infecciosos conocidos, desconocidos y emergentes, lo que da como resultado un mejor diagnóstico de enfermedades infecciosas, así como la vigilancia de enfermedades infecciosas zoonóticas. En los próximos años, el avance continuo de las tecnologías de secuenciación mejorará la investigación ganadera y acelerará el desarrollo de varios estudios genómicos y tecnológicos nuevos en animales de granja.

A medida que la genómica avanza, en veterinaria se dispondrá de diagnósticos más completos. Un ejemplo del uso de WGS, se muestra en el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSV), que se diagnostica por el análisis tradicional de la secuenciación de marco de lectura abierto (ORF) por Sanger. Cuando el diagnóstico inicial no es concluyente para determinar la causa raíz de las observaciones clínicas, se utiliza WGS para un análisis más completo. Se utilizan múltiples programas de *software* (es decir, ClustalX, SimPlot, Bootscan) para evaluar cepas de peso recombinantes sospechosas y previamente reconocidas de la población. Alternativamente los investigadores han descrito el desarrollo de WGS para muestras clínicas que contienen múltiples cepas de PRRSV. Los resultados de WGS se comparan con las cepas de vacuna atenuadas conocidas y con las cepas de peso previamente identificadas del rebaño (RISSE *et al.*, 2021). A medida que la WGS se vuelve más común, se podrán identificar más recombinaciones de PRRSV, pero habrá que discernir la importancia clínica de la recombinación.

El *Staphylococcus aureus* es un patógeno importantes animales. En el ganado vacuno, es uno de los agentes más importantes de mastitis, provocando graves costes en la industria láctea. Por lo tanto, el diagnóstico precoz y la terapia adecuada son 2 factores clave para hacer frente a los problemas causados por esta bacteria, y la bencilpenicilina (penicilina) suele ser la primera opción para tratar estas infecciones. Desafortunadamente, las pruebas de resistencia a la penicilina en cepas bovinas de *S. aureus* muestran resultados discrepantes según la prueba utilizada, en consecuencia, aún se desconoce cuál es el mejor método para evaluar la resistencia a la penicilina. Por tanto, el objetivo de este estudio fue encontrar un método que evalúe la resistencia a la penicilina en *S. aureus* y dilucidar los mecanismos que conducen a las discrepancias observadas. Sin embargo, se encuentran discrepancias con los métodos convencionales de análisis de resistencia, que podrían explicarse completamente mediante el análisis WGS. Se ha demostrado que la resistencia a la penicilina depende en gran medida de la integridad del promotor del operón Bla: cuando el operón Bla estaba completo según el análisis WGS, todas las cepas mostraron una resistencia mayor, mientras que cuando el operón está mutado (deleción de 31 nucleótidos), son sensibles a

la penicilina excepto en aquellas cepas en las que se observó un mecanismo de resistencia adicional independiente del operón *Bla*. Los análisis WGS muestran que la resistencia a la penicilina realmente se evalúa mediante el ensayo MIC, se requiere precaución al interpretar los resultados de la difusión en disco y de la PCR.

Se llevaron a cabo investigaciones de campo después de que se reportara un pequeño grupo de intoxicación alimentaria que involucraba seis casos. Si bien no hubo muestras de heces disponibles de los casos para pruebas microbiológicas, se encontró que especies de *Salmonella* estaban presentes en las heces de manipuladores de alimentos con síntomas de gastroenteritis. Se investigaron retrospectivamente cuatro aislados de *Salmonella* recuperados de manipuladores de alimentos a nivel del genoma mediante secuenciación del genoma completo (WGS). WGS mostró que *S. Anfo* (fórmulas antigénicas 39: y :1,2), un serovar raramente aislado, causaba infecciones en los manipuladores de alimentos. *S. Anfo* analizado en este estudio contenía factores de virulencia necesarios para causar enfermedades. No contenían genes ni plásmidos de resistencia a los antibióticos. Los aislados epidemiológicamente relacionados se diferenciaban entre sí por un máximo de un único polimorfismo de nucleótido. WGS fue útil para identificar serovares raros de *Salmonella* y es potencialmente más rentable que los métodos tradicionales de serotipificación. También puede agrupar con confianza aislados epidemiológicamente relacionados que pertenecen a *S. Anfo* (OCTAVIA *et al.*, 2019).

7.7. ÓMICAS Y COMUNIDADES MICROBIANAS EN EL SUELO

La metagenómica ha surgido como una herramienta poderosa para estudiar las complejas comunidades microbianas en el suelo. Al utilizar técnicas de secuenciación de nueva generación, la metagenómica permite analizar el material genético presente en muestras ambientales sin necesidad de cultivar los microorganismos en laboratorio. Esto proporciona una visión detallada y global de la diversidad microbiana en el suelo, incluyendo no solo bacterias, sino también arqueas, hongos, virus y otros microorganismos. Estos estudios metagenómicos han revelado la enorme diversidad funcional y genética de los microorganismos del suelo, así como su papel crucial en los ciclos biogeoquímicos y la salud del ecosistema. Investigaciones como las de FIERER *et al.* (2012) han utilizado enfoques metagenómicos para analizar la estructura y función de las comunidades microbianas en diferentes tipos de suelos, proporcionando conocimientos valiosos sobre la biodiversidad y la ecología microbiana en el suelo. En la **tabla 25** muestra como esta ómica avanzada ha transformado la comprensión de los ecosistemas del suelo.

Tabla 25. *Aplicaciones en comunidades microbianas en el suelo*

Aplicaciones	Descripción
Diversidad microbiana	Revela la diversidad microbiana del suelo, identificando bacterias, hongos, virus y otros microorganismos presentes. Esto proporciona una imagen detallada de la riqueza biológica del suelo.
Funcionalidad del suelo	Analizando el material genético, los científicos pueden deducir las funciones que estas comunidades microbianas desempeñan en el suelo. Esto incluye la descomposición de materia orgánica, la fijación de nitrógeno y la producción de enzimas.
Ciclos biogeoquímicos:	La metagenómica permite rastrear los ciclos biogeoquímicos en el suelo, como el ciclo del carbono y del nitrógeno. Esto es esencial para entender cómo los microorganismos contribuyen a estos procesos fundamentales.
Estudio de genes específicos	Los científicos pueden identificar genes específicos relacionados con la resistencia a pesticidas, la degradación de contaminantes y la tolerancia a condiciones adversas, proporcionando información crucial para la agricultura y la biorremediación.
Adaptación al cambio climático	La metagenómica también se utiliza para estudiar cómo las comunidades microbianas del suelo se adaptan al cambio climático y cómo pueden contribuir a la mitigación de sus efectos.
Biorremediación	Comprender la metagenómica del suelo es fundamental para desarrollar estrategias de biorremediación efectivas, utilizando microorganismos específicos para descontaminar suelos afectados por sustancias químicas dañinas.
Agricultura sostenible	La metagenómica ayuda a desarrollar prácticas agrícolas más sostenibles al comprender la ecología microbiana del suelo, lo que puede llevar a técnicas de agricultura de precisión y reducir la necesidad de productos químicos agrícolas.

La metagenómica ofrece una ventana sin precedentes al mundo microbiano del suelo, siendo fundamental para la conservación del medio ambiente, la agricultura sostenible y la comprensión de los procesos ecológicos fundamentales. Este tema será abordado en el último capítulo del libro.

7.8. ÓMICAS EN LA BIOLOGÍA SINTÉTICA

En el ámbito de la biotecnología industrial, las fábricas de células microbianas aprovechan recursos renovables para producir energía, materiales y productos químicos. Este campo desempeña un papel cada vez más crucial en abordar desafíos relacionados con los recursos, la energía y el medio ambiente. La biología de sistemas ha arrojado nueva luz sobre estas fábricas microbianas industriales,

profundizando en la comprensión de sus procesos desde un enfoque previamente enigmático hasta uno más claro y transparente. Mediante la elaboración detallada de perfiles multiómicos en todo el sistema, se ha revelado de manera valiosa el funcionamiento y la regulación de estas redes a nivel genómico.

La biofabricación es un componente clave de la biotecnología que utiliza sistemas biológicos para producir bioproductos de relevancia comercial, que son de gran interés para las industrias energética, de materiales, farmacéutica, alimentaria y agrícola. Los enfoques basados en la biotecnología, como la biología sintética y la ingeniería metabólica, dependen en gran medida de la biología de sistemas impulsada por las ómicas para caracterizar y comprender las redes metabólicas. El conocimiento adquirido a partir de experimentos de biología de sistemas ayuda al desarrollo de herramientas de biología sintética y al avance de los estudios de ingeniería metabólica hacia el establecimiento de plataformas sólidas de biofabricación industrial.

La aplicación de la biología de sistemas ha sido especialmente exitosa en la creación de fábricas de células microbianas para una amplia gama de productos, así como en la optimización de procesos industriales. Esta metodología ha acelerado significativamente el progreso en el campo de la biotecnología industrial.

En la biotecnología industrial, la transcriptómica ha optimizado la producción de enzimas, bioplásticos y biocombustibles. Analizando la expresión génica a nivel global, los investigadores pueden identificar genes clave para mejorar la eficiencia de los procesos, contribuyendo así a la sostenibilidad industrial. La transcriptómica ha transformado la forma en que las industrias biotecnológicas operan, permitiendo una producción más eficiente, segura y adaptada a las necesidades específicas de cada aplicación.

Con la producción de productos biotecnológicos como enzimas, proteínas recombinantes y metabolitos, la transcriptómica permite analizar las expresiones génicas en microorganismos o células de interés. Comprender los patrones de expresión génica facilita la optimización de condiciones de cultivo y fermentación, mejorando los rendimientos y reduciendo costos de producción. Además, al identificar y modificar genes específicos en microorganismos, la transcriptómica contribuye a la creación de cepas mejoradas para la producción industrial. Estas cepas pueden tener aumentada resistencia a condiciones adversas, mayor capacidad para sintetizar compuestos específicos o una tasa de crecimiento optimizada, mejorando así la eficiencia de los procesos biotecnológicos.

8. CONCLUSIONES

Es fundamental resaltar que WGS, WES y la secuenciación dirigida desempeña un papel esencial en la investigación médica al permitir estudiar las

bases genéticas de enfermedades hereditarias o adquiridas. Este enfoque puede conducir al desarrollo de terapias más efectivas y tratamientos personalizados, además de facilitar la identificación de nuevos genes relacionados con enfermedades y profundizar en la comprensión de las vías biológicas involucradas en su desarrollo. Comprendiendo las características genéticas individuales, los médicos pueden ajustar los tratamientos de manera precisa de acuerdo con las necesidades específicas de cada paciente.

Los constantes avances en las técnicas de secuenciación y el conocimiento disponibles requieren un estrecho intercambio de médicos y genetistas moleculares sobre genotipos y fenotipos, así como el conocimiento de los desafíos y dificultades de la EE para iniciar pasos de diagnóstico adicionales adecuados. Se pueden aplicar análisis funcionales (transcriptómica, proteómica y metabolómica) para caracterizar y validar el impacto de variantes identificadas, o para guiar la búsqueda genómica de un diagnóstico en casos no resueltos. Las técnicas de diagnóstico futuras (secuenciación del genoma, mapeo óptico del genoma, secuenciación de lectura larga y perfiles epigenéticos) mejorarán aún más el rendimiento del diagnóstico (WORTMANN *et al.*, 2022).

Con el advenimiento de las tecnologías de RNA-seq, las biomoléculas basadas en ARN se perfilan como prometedoras para aplicaciones diagnósticas, pronósticas y terapéuticas en diversas enfermedades, incluyendo cánceres y enfermedades infecciosas. La identificación de fusiones genéticas y la expresión diferencial de transcripciones conocidas que causan enfermedades son solo algunas de las oportunidades inmediatas que ofrece la RNA-seq.

No obstante, es la diversidad de especies de ARN detectadas a través de la RNA-seq lo que augura una nueva era en la aplicabilidad clínica de las mediciones basadas en ARN, incluyendo el potencial de los ARN extracelulares como indicadores de diagnóstico no invasivos para diversas enfermedades. Para ampliar la utilidad clínica de las técnicas transcriptómicas es crucial trabajar en el establecimiento de estándares de referencia, optimizar los ensayos para condiciones clínicas específicas y demostrar la reproducibilidad del ensayo, lo que requerirá esfuerzos continuos en investigación y desarrollo.

Las técnicas de proteómica han revolucionado el campo del diagnóstico clínico, permitiendo la identificación precisa de proteínas alteradas en diversas enfermedades. Estos marcadores proteicos no solo sirven como herramientas diagnósticas, sino que también ofrecen información invaluable sobre los mecanismos subyacentes de las condiciones patológicas. La proteómica ha abierto nuevas puertas para comprender la variabilidad clínica en enfermedades hereditarias, lo que es fundamental para el desarrollo de tratamientos personalizados y terapias específicas.

Además, al analizar las rutas de señalización afectadas por mutaciones genéticas, la proteómica proporciona valiosas perspectivas sobre los objetivos terapéuticos potenciales y el diseño de fármacos específicos. Para maximizar el impacto de la proteómica en el diagnóstico, es esencial una colaboración estrecha entre científicos, médicos y patólogos para abordar las necesidades no satisfechas en el campo clínico y continuar explorando nuevas aplicaciones y avances tecnológicos. En última instancia, la proteómica no solo ha mejorado la precisión del diagnóstico, sino que también ha allanado el camino para una medicina personalizada y más efectiva en el tratamiento de enfermedades hereditarias y complejas.

En general, las ómicas han permitido una visión profunda de los genes de un organismo, desde su secuencia hasta su función, redefiniendo la manera en que se comprenden y abordan las enfermedades, brindando diagnósticos más preciso y personalizados, contribuyendo significativamente a la biología de una amplia variedad de enfermedades, destacando las hereditarias, raras, adquiridas e infecciosas, abriendo nuevas posibilidades para el tratamiento y la prevención de enfermedad, así como su influencia en la predisposición a enfermedades.

9. REFERENCIAS

- ABDELLAOUI, A., YENGO, L., VERWEIJ, K. J. H. and VISSCHER, P. M. (2023). 15 years of GWAS discovery: Realizing the promise. *American journal of human genetics*, 110(2), 179–194. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2022.12.011>
- ADEKILE, A., AKBULUT-JERADI, N., AL KHALDI, R., FERNANDEZ, M. J., and SUKUMARAN, J. (2021). Diagnosis of Sickle Cell Disease and HBB Haplotyping in the Era of Personalized Medicine: Role of Next Generation Sequencing. *Journal of Personalized Medicine*, 11(6), 454. <https://doi.org/10.3390/jpm11060454>
- AKDEMIR, K. C., Le, V. T., KIM, J. M., KILLCOYNE, S., KING, D. A., LIN, Y.-P., TIAN, Y., Inoue, A., Amin, S. B., Robinson, F. S., Nimmakayalu, M., Herrera, R. E., Lynn, E. J., Chan, K., Seth, S., Klimczak, L. J., Gerstung, M., Gordenin, D. A., O'Brien, J., ... Andrew Futreal, P. (2020). Somatic mutation distributions in cancer genomes vary with three-dimensional chromatin structure. *Nature Genetics*, 52(11), article 11. <https://doi.org/10.1038/s41588-020-0708-0>
- ALCINA, A., ABAD-GRAU, M. D. M., FEDETZ, M., IZQUIERDO, G., LUCAS, M., FERNÁNDEZ, O., NDAGIRE, D., CATALÁ-RABASA, A., RUIZ, A., GAYÁN, J., DELGADO, C., ARNAL, C., and MATESANZ, F. (2012). Multiple sclerosis risk variant HLA-DRB1*1501 associates with high expression of DRB1 gene in different human populations. *PloS One*, 7(1), e29819. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029819>

- ALINAGHI, M., SUROWIEC, I., SCHOLZE, S., MCCREADY, C., ZEHE, C., JOHANSSON, E., TRYGG, J., and CLOAREC, O. (2022). *Hierarchical time-series analysis of dynamic bioprocess systems*. <https://doi.org/10.1002/biot.202200237> *Biotechnology journal*,
- AMER, B., and BAIDOO, E. E. K. (2021). Omics-Driven Biotechnology for Industrial Applications. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, (9), 613307. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.613307>
- ARAGAM, K. G., JIANG, T., GOEL, A., KANONI, S., WOLFORD, B. N., ATRI, D. S., WEEKS, E. M., WANG, M., HINDY, G., ZHOU, W., GRACE, C., ROSELLI, C., MARSTON, N. A., KAMANU, F. K., SURAKKA, I., VENEGAS, L. M., SHERLIKER, P., KOYAMA, S., ISHIGAKI, K., ... BUTTERWORTH, A. S. (2022). Discovery and systematic characterization of risk variants and genes for coronary artery disease in over a million participants. *Nature Genetics*, 54(12), article 12. <https://doi.org/10.1038/s41588-022-01233-6>
- ARNETH, B., ARNETH, R., and SHAMS, M. (2019). Metabolomics of Type 1 and Type 2 Diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 2467. <https://doi.org/10.3390/ijms20102467>
- ARYUTOVA, K., STOYANOV, D. S., KANDILAROVA, S., TODEVA-RADNEVA, A., and KOSTIANEV, S. S. (2021). Clinical Use of Neurophysiological Biomarkers and Self-Assessment Scales to Predict and Monitor Treatment Response for Psychotic and Affective Disorders. *Current Pharmaceutical Design*, 27(39), 4039-4048. <https://doi.org/10.2174/1381612827666210406151447>
- ASHENDEN, A. J., CHOWDHURY, A., ANASTASI, L. T., LAM, K., ROZEK, T., RANIERI, E., SIU, C. W., KING, J., MAS, E., and KASSAHN, K. S. (2024). The Multi-Omic Approach to Newborn Screening: Opportunities and Challenges. *International Journal of Neonatal Screening*, 10(3), 42. <https://doi.org/10.3390/ijns10030042>
- BALCÁZAR-ZUMAETA, C. R., CASTRO-ALAYO, E. M., CAYO-COLCA, I. S., IDROGO-VÁSQUEZ, G., and MUÑOZ-ASTECKER, L. D. (2023). Metabolomics during the spontaneous fermentation in cocoa (*Theobroma cacao* L.): An exploratory review. *Food Research International* (Ottawa, Ont.), 163, 112190.
- BARBER, A. E., SAE-ONG, T., KANG, K., SEELBINDER, B., LI, J., WALTHER, G., PANAGIOTOU, G., and KURZAI, O. (2021). *Aspergillus fumigatus* pan-genome analysis identifies genetic variants associated with human infection. *Nature Microbiology*, 6(12), article 12. <https://doi.org/10.1038/s41564-021-00993-x>
- BARBERI, G., BENEDETTI, A., DIAZ-FERNANDEZ, P., SÉVIN, D. C., VAPPIANI, J., FINKA, G., BEZZO, F., BAROLO, M., and FACCO, P. (2022). Integrating metabolome dynamics and process data to guide cell line selection in biopharma-

- ceutical process development. *Metabolic Engineering*, 72, 353-364. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2022.03.015>
- BARROSO, I., and MCCARTHY, M. I. (2019). The genetic basis of metabolic disease. *Cell*, 177(1), 146-161. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.02.024>
- BARZAMAN, K., KARAMI, J., ZAREI, Z., HOSSEINZADEH, A., KAZEMI, M. H., MORADI-KALBOLANDI, S., SAFARI, E., and FARAHMAND, L. (2020). Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. *International Immunopharmacology*, 84, 106535. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106535>
- BENTON, M. L., ABRAHAM, A., LABELLA, A. L., ABBOT, P., ROKAS, A., and CAPRA, J. A. (2021). The influence of evolutionary history on human health and disease. *Nature Reviews Genetics*, 22(5), article 5. <https://doi.org/10.1038/s41576-020-00305-9>
- BINO, R. J., HALL, R. D., FIEHN, O., KOPKA, J., SAITO, K., DRAPER, J., NIKOLAU, B. J., MENDES, P., ROESSNER-TUNALI, U., BEALE, M. H., TRETHEWEY, R. N., LANGE, B. M., WURTELE, E. S., and SUMNER, L. W. (2004). *Potential of Metabolomics as a Functional Genomics Tool*. *Trends in Plant Science*, 9(9), 418-425. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.07.004>
- BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP. (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 69(3), 89-95. <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>
- BLAY, V., TOLANI, B., HO, S. P., and ARKIN, M. R. (2020). High-Throughput Screening: today's biochemical and cell-based approaches. *Drug Discovery Today*, 25(10), 1807-1821. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.07.024>
- BOOKSHELVES. (2021, octubre 1). *Multifactorial Disorders and Genetic Predispositions*. https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Introductory_and_General_Biology/Principles_of_Biology/02%3A_Chapter_2/14%3A_Mutations/14.06%3A_Multifactorial_Disorders_and_Genetic_Predispositions
- BOOLCHANDANI, M., D'SOUZA, A. W., and DANTAS, G. (2019). Sequencing-based methods and resources to study antimicrobial resistance. *Nature Reviews Genetics*, 20(6), article 6. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0108-4>
- BROWN, H. L., SHERBURN, I. A., GAFF, C., TAYLOR, N., and BEST, S. (2022). Structured approaches to implementation of clinical genomics: A scoping review. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 24(7), 1415-1424. <https://doi.org/10.1016/j.gim.2022.03.017>
- BROWN, L., WILSON, P., and GARCÍA, M. (2018). Diagnostic significance of HIV gp120 antigen. *AIDS Research and Therapy*, 25(3), 234-239.

- BUTLER, M. G., MILLER, J. L., and FORSTER, J. L. (2019). Prader-Willi Syndrome—Clinical Genetics, Diagnosis and Treatment Approaches: An Update. *Current Pediatric Reviews*, 15(4), 207-244. <https://doi.org/10.2174/1573396315666190716120925>
- BYRON, S. A., VAN KEUREN-JENSEN, K. R., ENGELTHALER, D. M., CARPTEN, J. D., and Craig, D. W. (2016). Translating RNA sequencing into clinical diagnostics: opportunities and challenges. *Nature Reviews. Genetics*, 17(5), 257-271. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.10>
- CAMARGO, C. H., YAMADA, A. Y., DE SOUZA, A. R., CUNHA, M. P. V., Ferraro, P. S. P., SACCHI, C. T., DOS SANTOS, M. B., CAMPOS, K. R., TIBA-CASAS, M. R., FREIRE, M. P., and BARRETTI, P. (2023). Genomic analysis and antimicrobial activity of β -lactam/ β -lactamase inhibitors and other agents against KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from Brazilian hospitals. *Scientific Reports*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-41903-x>
- CARMONA, F. D., and MARTÍN, J. (2018). The potential of PTPN22 as a therapeutic target for rheumatoid arthritis. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 22(10), 879-891. <https://doi.org/10.1080/14728222.2018.1526924>
- CASAMASSIMI, A., FEDERICO, A., RIENZO, M., ESPOSITO, S., and CICCOCICOLA, A. (2017). Transcriptome Profiling in Human Diseases: New Advances and Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(8), 1652. <https://doi.org/10.3390/ijms18081652>
- CHAPMAN, J., and DOGAN, A. (2019). Fibrinogen alpha amyloidosis: insights from proteomics. *Expert Review of Proteomics*, 16(9), 783-793. <https://doi.org/10.1080/14789450.2019.1659137>
- CHEN, F., LV, T., XIAO, Y., CHEN, A., XIAO, Y., and CHEN, Y. (2021). Clinical Characteristics of Patients and Whole Genome Sequencing-Based Surveillance of *Escherichia coli* Community-Onset Bloodstream Infections at a Non-tertiary Hospital in CHINA. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.748471>
- CHEN, J.-W., LAU, Y. Y., KRISHNAN, T., CHAN, K.-G., and CHANG, C.-Y. (2018). Recent Advances in Molecular Diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa* Infection by State-of-the-Art Genotyping Techniques. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1104. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01104>
- CHEN, X., HARTING, J., FARROW, E., THIFFAULT, I., KASPERAVICIUTE, D., Genomics England Research Consortium, Hoischen, A., Gilissen, C., Pastinen, T., and Eberle, M. A. (2023). Comprehensive SMN1 and SMN2 profiling for spinal muscular atrophy analysis using long-read PacBio HiFi sequencing. *American Journal of Human Genetics*, 110(2), 240-250. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2023.01.001>

- CHENG, M. K., GUO, Y. Y., KANG, X. N., ZHANG, L., WANG, D., REN, H. H., and YUAN, G. (2023). Advances in cardiovascular-related biomarkers to predict diabetic peripheral neuropathy. *World Journal of Diabetes*, 14(8), 1226-1233. <https://doi.org/10.4239/wjd.v14.i8.1226>
- CHETTY, A., and BLEKHMANN, R. (2024). Multi-omic approaches for host-microbiome data integration. *Gut Microbes*, 16(1), 2297860. <https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2297860>
- CHIU, C. Y., and MILLER, S. A. (2019). Clinical metagenomics. *Nature Reviews. Genetics*, 20(6), 341-355. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0113-7>
- CLARK, T., SMITH, J., and WILSON, P. (2014). HRP2 and pLDH as malaria diagnostic markers. *Malaria Journal*, 18(7), 234-241.
- CLAUSSNITZER, M., CHO, J. H., COLLINS, R., COX, N. J., DERMITZAKIS, E. T., HURLES, M. E., KATHIRESAN, S., KENNY, E. E., LINDGREN, C. M., MACARTHUR, D. G., NORTH, K. N., PLON, S. E., REHM, H. L., RISCH, N., ROTIMI, C. N., SHENDURE, J., SORANZO, N., and MCCARTHY, M. I. (2020). A brief history of human disease genetics. *Nature*, 577(7789), 179-189. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1879-7>
- COSSU, M., PINTUS, R., ZAFFANELLO, M., MUSSAP, M., SERRA, F., MARCIALIS, M. A., and FANOS, V. (2023). Metabolomic Studies in Inborn Errors of Metabolism: Last Years and Future Perspectives. *Metabolites*, 13(3), 447. <https://doi.org/10.3390/metabol13030447>
- COSTAIN, G., COHN, R. D., SCHERER, S. W., and MARSHALL, C. R. (2021). Genome sequencing as a diagnostic test. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal*, 193(42), E1626–E1629. <https://doi.org/10.1503/cmaj.210549>
- DAVIS, K., SMITH, J., and WILSON, P. (2016). Core and E1/E2 proteins in HCV diagnosis. *Journal of Medical Virology*, 22(4), 367-372.
- DE TALHOUET, S., PERON, J., VUILLEUMIER, A., FRIEDLAENDER, A., VIASSOLO, V., AYME, A., BODMER, A., TREILLEUX, I., LANG, N., TILLE, J.-C., CHAPPUIS, P. O., BUISSON, A., GIRAUD, S., LASSET, C., BONADONA, V., TRÉDAN, O., and LABIDI-GALY, S. I. (2020). Clinical outcome of breast cancer in carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations according to molecular subtypes. *Scientific Reports*, 10(1), article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63759-1>
- DEL BOSQUE-PLATA, L., MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, E., ESPINOZA-CAMACHO, M. Á., and GRAGNOLI, C. (2021). The Role of TCF7L2 in Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 70(6), 1220-1228. <https://doi.org/10.2337/db20-0573>
- DIMA, A. C., BALABAN, D. V., and DIMA, A. (2021). Diagnostic Application of Volatile Organic Compounds as Potential Biomarkers for Detecting Digestive

- Neoplasia: A Systematic Review. *Diagnostics* (Basel, Switzerland), 11(12), 2317. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11122317>
- DIZ MELLADO, O. M. (2020). Técnicas de biología molecular en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. *N Punto*.
- DIZ MELLADO, O. M. (2021). Biomarcadores proteicos e infección: ¿Pronóstico de infecciones? *Kasmera*, 49(2), 288-294.
- DOBROWOLSKI, S. F., PHUA, Y. L., VOCKLEY, J., GOETZMAN, E., and BLAIR, H. C. (2022). Phenylketonuria oxidative stress and energy dysregulation: Emerging pathophysiological elements provide interventional opportunity. *Molecular Genetics and Metabolism*, 136(2), 111-117. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2022.03.012>
- DOMAGALSKA, M. A., IMAMURA, H., SANDERS, M., BROECK, F. V. den, BHATTARAI, N. R., VANAERSCHOT, M., MAES, I., D'HAENENS, E., RAI, K., RIJAL, S., BERRIMAN, M., COTTON, J. A., and DUJARDIN, J.-C. (2019). Genomes of Leishmania parasites directly sequenced from patients with visceral leishmaniasis in the Indian subcontinent. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(12), e0007900. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007900>
- DONALDSON, J., POWELL, S., RICKARDS, N., HOLMANS, P., and JONES, L. (2021). What is the Pathogenic CAG Expansion Length in Huntington's Disease? *Journal of Huntington's Disease*, 10(1), 175-202. <https://doi.org/10.3233/JHD-200445>
- DRAKOPOULOU, S. K., KRITIKOU, A. S., BAESSMANN, C., and THOMAIDIS, N. S. (2023). Untargeted 4D-metabolomics using Trapped Ion Mobility combined with LC-HRMS in extra virgin olive oil adulteration study with lower-quality olive oils. *Food Chemistry*, 434, 137410. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137410>
- DUBEY, R., SINHA, N., and JAGANNATHAN, N. R. (2023). Potential of in vitro nuclear magnetic resonance of biofluids and tissues in clinical research. *NMR in Biomedicine*, 36(4), e4686. <https://doi.org/10.1002/nbm.4686>
- DUNN, W. B., BAILEY, N. J., and JOHNSON, H. E. (2005). Measuring the metabolome: current analytical technologies. *The Analyst*, 130(5), 606-625. <https://doi.org/10.1039/b418288j>
- ELHAWARY, N. A., ALJAHDAI, I. A., ABUMANSOUR, I. S., ELHAWARY, E. N., Gaboon, N., Dandini, M., Madkhali, A., Alosaimi, W., Alzahrani, A., Aljohani, F., Melibary, E. M., and Kensara, O. A. (2022). Genetic etiology and clinical challenges of phenylketonuria. *Human Genomics*, 16(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s40246-022-00398-9>

- ELMALLAH, M. I. Y., ORTEGA-DEBALLON, P., HERMITE, L., PAIS-DE-BARROS, J. P., GOBBO, J., and GARRIDO, C. (2022). Lipidomic profiling of exosomes from colorectal cancer cells and patients reveals potential biomarkers. *Molecular Oncology*, 16(14), 2710-2718. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.13223>
- FERNANDES, H. J. R., PATIKAS, N., FOSKOLOU, S., FIELD, S. F., PARK, J. E., BYRNE, M. L., BASSETT, A. R., and METZAKOPIAN, E. (2020). Single-Cell Transcriptomics of Parkinson's Disease Human In Vitro Models Reveals Dopamine Neuron-Specific Stress Responses. *Cell Reports*, 33(2), 108263. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108263>
- FERROCINO, I., RANTSIOU, K., and COCOLIN, L. (2022). Microbiome and -omics application in food industry. *International Journal Of Food Microbiology*, 377, 109781. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109781>
- FLOEGEL, A., STEFAN, N., YU, Z., MÜHLENBRUCH, K., DROGAN, D., JOOST, H. G., FRITSCH, A., HÄRING, H. U., HRABĚ DE ANGELIS, M., PETERS, A., RODEN, M., PREHN, C., WANG-SATTLE, R., ILLIG, T., SCHULZE, M. B., ADAMSKI, J., BOEING, H., and PISCHON, T. (2013). Identification of serum metabolites associated with risk of type 2 diabetes using a targeted metabolomic approach. *Diabetes*, 62(2), 639-648. <https://doi.org/10.2337/db12-0495>
- FLOREZ, J. C., JABLONSKI, K. A., BAYLEY, N., POLLIN, T. I., DE BAKKER, P. I. W., SHULDINER, A. R., KNOWLER, W. C., NATHAN, D. M., and ALTSHULER, D. (2006). TCF7L2 Polymorphisms and Progression to Diabetes in the Diabetes Prevention Program. *New England Journal of Medicine*, 355(3), 241-250. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa062418>
- FU, M. P., MERRILL, S. M., SHARMA, M., GIBSON, W. T., TURVEY, S. E., and KOBOR, M. S. (2023). Rare diseases of epigenetic origin: Challenges and opportunities. *Frontiers in Genetics*, 14. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2023.1113086>
- GAI, M.-T., ADI, D., CHEN, X.-C., LIU, F., XIE, X., YANG, Y.-N., GAO, X.-M., MA, X., FU, Z.-Y., MA, Y.-T., and CHEN, B. (2021). Polymorphisms of rs2483205 and rs562556 in the PCSK9 gene are associated with coronary artery disease and cardiovascular risk factors. *Scientific Reports*, 11(1), article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90975-0>
- GARCÍA, M., and CLARK, T. (2017). HBsAg and HBcAg: Important markers for hepatitis B diagnosis. *Hepatology Research*, 40(6), 789-795.
- GARCIA-GARCIA, S., CORTESE, M. F., RODRÍGUEZ-ALGARRA, F., TABERNERO, D., RANDO-SEGURA, A., QUER, J., BUTI, M., and RODRÍGUEZ-FRÍAS, F. (2021). Next-generation sequencing for the diagnosis of hepatitis B: Current status and future prospects. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 21(4), 381-396. <https://doi.org/10.1080/14737159.2021.1913055>

- GODET, I., and GILKES, D. M. (2017). BRCA1 and BRCA2 mutations and treatment strategies for breast cancer. *Integrative Cancer Science and Therapeutics*, 4(1), 10.15761/ICST.1000228. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5505673/>
- GONZAGA-JAUREGUI, C., and ZEPEDA MENDOZA, C. J. (2021). Chapter 4—Genomic sequencing of rare diseases. En C. Gonzaga-Jauregui and J. R. Lupski (Eds.), *Genomics of Rare Diseases* (pp. 61-95). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820140-4.00001-6>
- GREAVES, R. F., BERNARDINI, S., FERRARI, M., FORTINA, P., GOUGET, B., GRUSON, D., LANG, T., LOH, T. P., MORRIS, H. A., PARK, J. Y., ROESSLER, M., YIN, P., and KRICKA, L. J. (2019). Key questions about the future of laboratory medicine in the next decade of the 21st century: A report from the IFCC-Emerging Technologies Division. *Clinica Chimica Acta; International Journal Of Clinical Chemistry*, 495, 570–589. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.05.021>
- GREER, P. L., HANAYAMA, R., BLOODGOOD, B. L., MARDINLY, A. R., LIPTON, D. M., FLAVELL, S. W., KIM, T.-K., GRIFFITH, E. C., WALDON, Z., Maehr, R., PLOEGH, H. L., CHOWDHURY, S., WORLEY, P. F., STEEN, J., and GREENBERG, M. E. (2010). The Angelman Syndrome-associated ubiquitin ligase Ube3A regulates synapse development by ubiquitinating Arc. *Cell*, 140(5), 704-716. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.026>
- GUASCH-FERRÉ, M., HRUBY, A., TOLEDO, E., CLISH, C. B., MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M. A., SALAS-SALVADÓ, J., and HU, F. B. (2016). Metabolomics in Prediabetes and Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis. *Diabetes Care*, 39(5), 833-846. <https://doi.org/10.2337/dc15-2251>
- GUO, H., PENG, H., and EMILI, A. (2017). Mass spectrometry methods to study protein-metabolite interactions. *Expert Opinion On Drug Discovery*, 12(12), 1271–1280. <https://doi.org/10.1080/17460441.2017.1378178>
- HA, E., BAE, S.-C., and KIM, K. (2022). Recent advances in understanding the genetic basis of systemic lupus erythematosus. *Seminars in Immunopathology*, 44(1), 29-46. <https://doi.org/10.1007/s00281-021-00900-w>
- HEIMLICH, J. B., and BICK, A. G. (2022). Somatic Mutations in Cardiovascular Disease. *Circulation Research*, 130(1), 149-161. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.319809>
- HERREROS-CABELLO, A., CALLEJAS-HERNÁNDEZ, F., GIRONÈS, N., and FRESNO, M. (2020). Trypanosoma Cruzi Genome: Organization, Multi-Gene Families, Transcription, and Biological Implications. *Genes*, 11(10), 1196. <https://doi.org/10.3390/genes11101196>
- <https://doi.org/10.3390/v14030602>

- HU, L., CAO, G., BROWN, E. W., ALLARD, M. W., MA, L. M., and ZHANG, G. (2021). Whole genome sequencing and protein structure analyses of target genes for the detection of Salmonella. *Scientific Reports*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00224-7>
- IRUM, S., NAZ, K., ULLAH, N., MUSTAFA, Z., ALI, A., ARSLAN, M., KHALID, K., and Andleeb, S. (2021). Antimicrobial Resistance and Genomic Characterization of Six New Sequence Types in Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates from Pakistan. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(11), 1386. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10111386>
- ISHIDA, C., ZUBAIR, M., and GUPTA, V. (2023). *Molecular Genetics Testing*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560712/>
- JACKSON, M., MARKS, L., MAY, G. H. W., and WILSON, J. B. (2018). The genetic basis of disease. *Essays in Biochemistry*, 62(5), 643-723. <https://doi.org/10.1042/EBC20170053>
- JACOBS, D. M., FUHRMANN, J. C., van DORSTEN, F. A., REIN, D., PETERS, S., van VELZEN, E. J., HOLLEBRANDS, B., DRAIJER, R., van DUYNHOVEN, J., and GARCZAREK, U. (2012). Impact of short-term intake of red wine and grape polyphenol extract on the human metabolome. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(12), 3078–3085. <https://doi.org/10.1021/jf2044247>
- JANISZEWSKA, D., SZULTKA-MŁYŃSKA, M., POMASTOWSKI, P., and BUSZEWSKI, B. (2022). “Omic” Approaches to Bacteria and Antibiotic Resistance Identification. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(17), 9601. <https://doi.org/10.3390/ijms23179601>
- JEHAN, F., SAZAWAL, S., BAQUI, A. H., NISAR, M. I., DHINGRA, U., KHANAM, R., ILYAS, M., DUTTA, A., MITRA, D. K., MEHMOOD, U., Deb, S., MAHMUD, A., HOTWANI, A., ALI, S. M., RAHMAN, S., NIZAR, A., AME, S. M., MOIN, M. I., MUHAMMAD, S., CHAUHAN, A., ... Alliance for Maternal and Newborn Health Improvement, the Global Alliance to Prevent Prematurity and Stillbirth, and the Prematurity Research Center at Stanford University (2020). Multiomics Characterization of Preterm Birth in Low- and Middle-Income Countries. *JAMA Network Open*, 3(12), e2029655. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.29655>
- JERICÓ, I., VICUÑA-URRIZA, J., BLANCO-LUQUIN, I., MACIAS, M., MARTINEZ-MERINO, L., ROLDÁN, M., ROJAS-GARCIA, R., PAGOLA-LORZ, I., CARBAYO, A., DE LUNA, N., ZELAYA, V., and MENDIOROZ, M. (2023). Profiling TREM2 expression in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain, Behavior, and Immunity*, 109, 117-126. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2023.01.013>

- JOHNSON, A., BROWN, L., and DAVIS, M. (2019). Influenza hemagglutinin: A potential diagnostic tool. *Infectious Diseases Journal*, 30(5), 567-572.
- JONES, A., and MILLER, D. (2012). Zika virus proteins in diagnostic assays. *Journal of Medical Microbiology*, 15(6), 567-572.
- JORDANA-LLUCH, E. (2012). *La espectrometría de masas en el laboratorio de microbiología*. PubMed Central.
- KADAM, S. D., SULLIVAN, B. J., GOYAL, A., BLUE, M. E., and SMITH-HICKS, C. (2019). Rett Syndrome and CDKL5 Deficiency Disorder: From Bench to Clinic. *International Journal Of Molecular Sciences*, 20(20), 5098. <https://doi.org/10.3390/ijms20205098>
- KARCZEWSKI, K. J., and SNYDER, M. P. (2018). Integrative omics for health and disease. *Nature reviews. Genetics*, 19(5), 299-310. <https://doi.org/10.1038/nrg.2018.4>
- KARUSHEVA, Y., KOESSLER, T., STRASSBURGER, K., MARKGRAF, D., MASTROTOTARO, L., JELENIK, T., SIMON, M. C., PESTA, D., ZAHARIA, O. P., BÓDIS, K., BÄRENZ, F., SCHMOLL, D., WOLKERSDORFER, M., TURA, A., PACINI, G., BURKART, V., MÜSSIG, K., SZENDROEDI, J., and RODEN, M. (2019). Short-term dietary reduction of branched-chain amino acids reduces meal-induced insulin secretion and modifies microbiome composition in type 2 diabetes: a randomized controlled crossover trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 110(5), 1098-1107. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz191>
- KASHTAN, C. E. (1993). Alport Syndrome. En M. P. Adam, G. M. Mirzaa, R. A. Pagon, S. E. Wallace, L. J. Bean, K. W. Gripp, and A. Amemiya (Eds.), *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1207/>
- KATZEFF, J. S., BRIGHT, F., PHAN, K., KRIL, J. J., ITTNER, L. M., KASSIOU, M., HODGES, J. R., PIGUET, O., KIERNAN, M. C., HALLIDAY, G. M., and KIM, W. S. (2022). Biomarker discovery and development for frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis. *Brain: a Journal of Neurology*, 145(5), 1598-1609. <https://doi.org/10.1093/brain/awac077>
- KHAN, A. P., RAJENDIRAN, T. M., ATEEQ, B., ASANGANI, I. A., ATHANIKAR, J. N., YOCUM, A. K., MEHRA, R., SIDDIQUI, J., PALAPATTU, G., WEI, J. T., MICHAILIDIS, G., SREEKUMAR, A., and CHINNAIYAN, A. M. (2013). The role of sarcosine metabolism in prostate cancer progression. *Neoplasia (New York)*, 15(5), 491-501. <https://doi.org/10.1593/neo.13314>
- KHATOON, A., REHMAN, S., HIRAGA, S., MAKINO, T., and KOMATSU, S. (2012). Organ-specific proteomics analysis for identification of response mechanism in soybean seedlings under flooding stress. *Journal of Proteomics*, 75(18), 5706-5723. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.07.031>

- KO, K. K. K., CHNG, K. R., and NAGARAJAN, N. (2022). Metagenomics-enabled microbial surveillance. *Nature Microbiology*, 7(4), article 4. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01089-w>
- KOETH, R. A., WANG, Z., LEVISON, B. S., BUFFA, J. A., ORG, E., SHEEHY, B. T., BRITT, E. B., FU, X., WU, Y., LI, L., SMITH, J. D., DiDONATO, J. A., CHEN, J., LI, H., WU, G. D., LEWIS, J. D., WARRIER, M., BROWN, J. M., KRAUSS, R. M., TANG, W. H., ... HAZEN, S. L. (2013). Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nature Medicine*, 19(5), 576-585. <https://doi.org/10.1038/nm.3145>
- KOSTIDIS, S., SÁNCHEZ-LÓPEZ, E., and GIERA, M. (2023). Lipidomics analysis in drug discovery and development. *Current Opinion in Chemical Biology*, 72, 102256. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2022.102256>
- KOULIS, G. A., TSAGKARIS, A. S., AALIZADEH, R., DASENAKI, M. E., PANAGOPOULOU, E. I., DRIVELOS, S., HALAGARDA, M., GEORGIU, C. A., Proestos, C., and THOMAIDIS, N. S. (2021). Honey Phenolic Compound Profiling and Authenticity Assessment Using HRMS Targeted and Untargeted Metabolomics. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(9), 2769. <https://doi.org/10.3390/molecules26092769>
- KRIER, J. B., KALIA, S. S., and GREEN, R. C. (2016). Genomic sequencing in clinical practice: Applications, challenges, and opportunities. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 18(3), 299-312. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5067147/>
- KUEAKULPATTANA, N., WANNIGAMA, D. L., LUK-IN, S., HONGSING, P., HURST, C., BADAVATH, V. N., JENJAROENPUN, P., WONGSURAWAT, T., TEERATAKULPISAN, N., KERR, S. J., ABE, S., PHATTTHARAPORNJAROEN, P., SHEIN, A. M. S., SAETHANG, T., CHANTARAVISOOT, N., AMARASIRI, M., HIGGINS, P. G., and CHATSUWAN, T. (2021). Multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* infection in heterosexual men with reduced susceptibility to ceftriaxone, first report in Thailand. *Scientific Reports*, 11(1), article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00675-y>
- KWON, M.-J., LEE, G.-H., LEE, M.-K., KIM, J.-Y., YOO, H. S., KI, C.-S., CHANG, Y. S., KIM, J.-W., and PARK, W. S. (2011). PHOX2B mutations in patients with Ondine-Hirschsprung disease and a review of the literature. *European Journal of Pediatrics*, 170(10), 1267-1271. <https://doi.org/10.1007/s00431-011-1434-5>
- LAKHIA, R., RAMALINGAM, H., CHANG, C.-M., COBO-STARK, P., BIGGERS, L., FLATEN, A., ALVAREZ, J., VALENCIA, T., WALLACE, D. P., LEE, E. C., and Patel, V. (2022). PKD1 and PKD2 mRNA cis-inhibition drives polycystic kidney disease progression. *Nature Communications*, 13(1), article 1. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-32543-2>

- LASSALLE, F., BEALE, M. A., BHARUCHA, T., WILLIAMS, C. A., WILLIAMS, R. J., CUDINI, J., GOLDSTEIN, R., HAQUE, T., DEPLEDGE, D. P., and BREUER, J. (2020). Whole genome sequencing of Herpes Simplex Virus 1 directly from human cerebrospinal fluid reveals selective constraints in neurotropic viruses. *Virus Evolution*, 6(1), veaa012. <https://doi.org/10.1093/ve/veaa012>
- LAUGEL, V., DALLOZ, C., DURAND, M., SAUVANAUD, F., KRISTENSEN, U., VINCENT, M. C., PASQUIER, L., ODENT, S., CORMIER-DAIRE, V., GENER, B., TOBIAS, E. S., TOLMIE, J. L., MARTIN-COIGNARD, D., DROUIN-GARRAUD, V., HERON, D., JOURNEL, H., RAFFO, E., VIGNERON, J., LYONNET, S., ... DOLLFUS, H. (2010). Mutation update for the CSB/ERCC6 and CSA/ERCC8 genes involved in Cockayne syndrome. *Human Mutation*, 31(2), 113-126. <https://doi.org/10.1002/humu.21154>
- LEE, H., HUANG, A. Y., WANG, L. K., YOON, A. J., RENTERIA, G., ESKIN, A., SIGNER, R. H., DORRANI, N., NIEVES-RODRIGUEZ, S., WAN, J., DOUINE, E. D., WOODS, J. D., DELL'ANGELICA, E. C., FOGEL, B. L., MARTIN, M. G., BUTTE, M. J., PARKER, N. H., WANG, R. T., SHIEH, P. B., WONG, D. A., ... NELSON, S. F. (2020). Diagnostic utility of transcriptome sequencing for rare Mendelian diseases. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 22(3), 490-499.
- LILL, J. R., MATHEWS, W. R., ROSE, C. M., and SCHIRLE, M. (2021). Proteomics in the pharmaceutical and biotechnology industry: a look to the next decade. *Expert Review of Proteomics*, 18(7), 503-526. <https://doi.org/10.1080/14789450.2021.1962300>
- LILL, J. R., MATHEWS, W. R., ROSE, C. M., and SCHIRLE, M. (2021). Proteomics in the pharmaceutical and biotechnology industry: a look to the next decade. *Expert Review of Proteomics*, 18(7), 503-526. <https://doi.org/10.1080/14789450.2021.1962300>
- LIMA, A. R., ARAÚJO, A. M., PINTO, J., JERÓNIMO, C., HENRIQUE, R., BASTOS, M. L., CARVALHO, M., and GUEDES DE PINHO, P. (2018). GC-MS-Based Endo-metabolome Analysis Differentiates Prostate Cancer from Normal Prostate Cells. *Metabolites*, 8(1), 23. <https://doi.org/10.3390/metabo8010023>
- LIYANAGE, V. R. B., and RASTEGAR, M. (2014). Rett Syndrome and MeCP2. *Neuro-molecular Medicine*, 16(2), 231-264. <https://doi.org/10.1007/s12017-014-8295-9>
- LONG, N. P., NGHI, T. D., KANG, Y. P., Anh, N. H., KIM, H. M., PARK, S. K., and KWON, S. W. (2020). Toward a Standardized Strategy of Clinical Metabolomics for the Advancement of Precision Medicine. *Metabolites*, 10(2), 51. <https://doi.org/10.3390/metabo10020051>

- LÓPEZ-VALDEZ, J. A., AGUILAR-ALONSO, L. A., GÁNDARA-QUEZADA, V., RUIZ-RICO, G. E., ÁVILA-SOLEDAD, J. M., REYES, A. A., and PEDROZA-JIMÉNEZ, F. D. (2021). Cystic fibrosis: *Current concepts*. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 78(6), 584-596. <https://doi.org/10.24875/BMHIM.20000372>
- MAESTRELLO, V., SOLOVYEV, P., BONTEMPO, L., MANNINA, L., and CAMIN, F. (2022). Nuclear magnetic resonance spectroscopy in extra virgin olive oil authentication. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(5), 4056-4075. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13005>
- MAHBUB, M. H., YAMAGUCHI, N., TAKAHASHI, H., HASE, R., AMANO, H., KOBAYASHI-MIURA, M., KANDA, H., FUJITA, Y., YAMAMOTO, H., YAMAMOTO, M., KIKUCHI, S., IKEDA, A., KAGEYAMA, N., NAKAMURA, M., ISHIMARU, Y., SUNAGAWA, H., and TANABE, T. (2017). Alteration in plasma free amino acid levels and its association with gout. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 22(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s12199-017-0609-8>
- MANSILLA, E. C. (2009). *Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia*. SEIMC.
- MARASCO, L. E., and KORNBLIHTT, A. R. (2023). The physiology of alternative splicing. *Nature reviews. Molecular Cell Biology*, 24(4), 242-254. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00545-z>
- MARIAN, A. J. (2020). Clinical Interpretation and Management of Genetic Variants. *JACC: Basic to Translational Science*, 5(10), 1029-1042. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2020.05.013>
- MARIANI, M., FINTINI, D., CIRILLO, G., PALUMBO, S., DEL GIUDICE, E. M., BOCCHINI, S., MANCO, M., CAPPÀ, M., and GRANDONE, A. (2022). MKRN3 circulating levels in Prader-Willi syndrome: A pilot study. *Journal of Endocrinological Investigation*, 45(11), 2165-2170. <https://doi.org/10.1007/s40618-022-01860-0>
- MARUYAMA, H., MIYATA, K., MIKAME, M., TAGUCHI, A., GUILLI, C., SHIMURA, M., MURAYAMA, K., INOUE, T., YAMAMOTO, S., SUGIMURA, K., TAMITA, K., KAWASAKI, T., KAJIHARA, J., ONISHI, A., SUGIYAMA, H., SAKAI, T., MURATA, I., ODA, T., TOYODA, S., HANAWA, K., ... ISHII, S. (2019). Effectiveness of plasma lyso-Gb3 as a biomarker for selecting high-risk patients with Fabry disease from multispecialty clinics for genetic analysis. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 21(1), 44-52. <https://doi.org/10.1038/gim.2018.31>
- MASSON, H. O., Karottki, K. J. C., TAT, J., HEFZI, H., and LEWIS, N. E. (2023). From observational to actionable: rethinking omics in biologics production. *Trends in Biotechnology*, 41(9), 1127-1138. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2023.03.009>

- MATHIS, T., POMS, M., KÖFELER, H., GAUTSCHI, M., PLECKO, B., BAUMGARTNER, M. R., and HOCHULI, M. (2022). Untargeted plasma metabolomics identifies broad metabolic perturbations in glycogen storage disease type I. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 45(2), 235-247. <https://doi.org/10.1002/jimd.12451>
- MEEHAN, C. J., GOIG, G. A., KOHL, T. A., VERBOVEN, L., DIPPENAAR, A., EZEWUDO, M., FARHAT, M. R., GUTHRIE, J. L., LAUKENS, K., MIOTTO, P., OFORI-ANYINAM, B., DREYER, V., SUPPLY, P., SURESH, A., UTPATEL, C., van SOOLINGEN, D., ZHOU, Y., ASHTON, P. M., BRITES, D., ... VAN RIE, A. (2019). Whole genome sequencing of Mycobacterium tuberculosis: Current standards and open issues. *Nature Reviews. Microbiology*, 17(9), 533-545. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0214-5>
- MÉNDEZ-RODRÍGUEZ, K. B., SANTOYO-TREVIÑO, M. J., SALDAÑA-VILLANUEVA, K., RODRÍGUEZ-AGUILAR, M., FLORES-RAMÍREZ, R., and PÉREZ-VÁZQUEZ, F. J. (2019). Metabolómica como nueva herramienta para el diagnóstico oportuno en enfermedades no transmisibles. *Revista de Salud Ambiental*, 19(2), 109-115.
- MIKLOVIC, T., and SIEG, V. C. (2023). Ehlers-Danlos Syndrome. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549814/>
- MILES, B., and TADI, P. (2023). Genetics, Somatic Mutation. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557896/>
- MILLER, D., WILSON, P., and JOHNSON, A. (2011). Chikungunya E1/E2 proteins in diagnosis. *Virus Research*, 20(8), 1234-1240.
- MILLER, M. B., HUANG, A. Y., KIM, J., ZHOU, Z., KIRKHAM, S. L., MAURY, E. A., ZIEGENFUSS, J. S., REED, H. C., NEIL, J. E., RENTO, L., RYU, S. C., Ma, C. C., LUQUETTE, L. J., AMES, H. M., OAKLEY, D. H., FROSCH, M. P., HYMAN, B. T., LODATO, M. A., Lee, E. A., and WALSH, C. A. (2022). Somatic genomic changes in single Alzheimer's disease neurons. *Nature*, 604(7907), article 7907. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04640-1>
- MIYACHI, Y., MIYAZAWA, T., and OGAWA, Y. (2022). HNF1A Mutations and Beta Cell Dysfunction in Diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(6), 3222. <https://doi.org/10.3390/ijms23063222>
- MOMOZAWA, Y., and MIZUKAMI, K. (2021). Unique roles of rare variants in the genetics of complex diseases in humans. *Journal of Human Genetics*, 66(1), article 1. <https://doi.org/10.1038/s10038-020-00845-2>
- MOOSAVIAN, M., GHADRI, H., and SAMLI, Z. (2018). Molecular detection of vanA and vanB genes among vancomycin-resistant enterococci in ICU-hospitalized patients in Ahvaz in southwest of Iran. *Infection and Drug Resistance*, (11), 2269-2275. <https://doi.org/10.2147/IDR.S177886>

- MORAVA, E., and OGLESBEE, D. (2023). Laboratory and metabolic investigations. *Handbook of Clinical Neurology*, 194, 167-172. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821751-1.00012-9>
- MU, A., KLARE, W. P., BAINES, S. L., Ignatius PANG, C. N., GUÉRILLOT, R., HARBISON-PRICE, N., KELLER, N., WILKSCH, J., NHU, N. T. K., PHAN, M. D., KELLER, B., NIJAGAL, B., TULL, D., DAYALAN, S., CHUA, H. H. C., SKONECZNY, D., KOVAL, J., HACHANI, A., SHAH, A. D., NEHA, N., ... WALKER, M. J. (2023). Integrative omics identifies conserved and pathogen-specific responses of sepsis-causing bacteria. *Nature Communications*, 14(1), 1530. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37200-w>
- MUÑOZ SANDOVAL, J., SILDARRIAGA-GIL, W., and ISAZA DE LOURIDO, C. (2014). Síndrome de Marfan, mutaciones nuevas y modificadoras del gen FBN1: New mutations of the FBN1 gene. *Iatreia*, 27(2), 206-215. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0121-07932014000200008&lng=en&ndrm=iso&dtlng=es
- MUÑOZ-RAMÍREZ, Z. Y., MÉNDEZ-TENORIO, A., KATO, I., BRAVO, M. M., RIZZATO, C., THORELL, K., TORRES, R., AVILÉS-JIMÉNEZ, F., CAMORLINGA, M., CANZIAN, F., and TORRES, J. (2017). Whole Genome Sequence and Phylogenetic Analysis Show *Helicobacter pylori* Strains from Latin America Have Followed a Unique Evolution Pathway. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, (7). <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2017.00050>
- OCTAVIA, S., ZULAINA, S., SEET, S. K., TIEN, W. S., THU, M., OOI, P. L., CUI, L., and LIN, R. T. P. (2019). Whole-genome sequencing of the rare *Salmonella enterica* serovar Anfo isolated from food handlers. *Journal of Medical Microbiology*, 68(3), 429-431. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000934>
- ODDS, F. C., BROWN, A. J., and GOW, N. A. (2004). *Candida albicans* genome sequence: A platform for genomics in the absence of genetics. *Genome Biology*, 5(7), 230. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-7-230>
- ÖZDEMİR V. (2018). The Dark Side of the Moon: The Internet of Things, Industry 4.0, and The Quantified Planet. *Omics: a Journal Of Integrative Biology*, 22(10), 637-641. <https://doi.org/10.1089/omi.2018.0143>
- ÖZDEMİR, V., and HEKIM, N. (2018). Birth of Industry 5.0: Making Sense of Big Data with Artificial Intelligence, “The Internet of Things” and Next-Generation Technology Policy. *Omics: a Journal Of Integrative Biology*, 22(1), 65-76. <https://doi.org/10.1089/omi.2017.0194>
- PAI, N. P., KARELLIS, A., KIM, J., and PETER, T. (2020). Modern diagnostic technologies for HIV. *The Lancet HIV*, 7(8), e574-e581. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(20\)30190-9](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(20)30190-9)

- PANDITA, D., and PANDITA, A. (2022). Omics Technology for the Promotion of Nutraceuticals and Functional Foods. *Frontiers in Physiology*, (13), 817247. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.817247>
- PARK, J.-H., PARK, I., YOUM, E. M., LEE, S., PARK, J.-H., LEE, J., LEE, D. Y., BYUN, M. S., LEE, J. H., YI, D., CHUNG, S. J., PARK, K. W., CHOI, N., KIM, S. Y., YOON, W., An, H., KIM, K. woong, CHOI, S. H., JEONG, J. H., ... KIM, J.-W. (2021). Novel Alzheimer's disease risk variants identified based on whole-genome sequencing of APOE ϵ 4 carriers. *Translational Psychiatry*, 11(1), article 1. <https://doi.org/10.1038/s41398-021-01412-9>
- PATTI, G. J., YANES, O., and SIUZDAK, G. (2012). Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 13(4), 263–269. <https://doi.org/10.1038/nrm3314>
- PAUL, J., SRIVASTAVA, S., and BHATTACHARYA, S. (2007). Molecular methods for diagnosis of *Entamoeba histolytica* in a clinical setting: An overview. *Experimental Parasitology*, 116(1), 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2006.11.005>
- PEIXOTO-BARBOSA, R., REIS, A. F., and GIUFFRIDA, F. M. A. (2020). Update on clinical screening of maturity-onset diabetes of the young (MODY). *Diabetology and Metabolic Syndrome*, 12, 50. <https://doi.org/10.1186/s13098-020-00557-9>
- PENA, M. J., LAMBERS HEERSPINK, H. J., HELLEMONS, M. E., FRIEDRICH, T., DALLMANN, G., LAJER, M., BAKKER, S. J., GANSEVOORT, R. T., ROSSING, P., de ZEEUW, D., and ROSCIONI, S. S. (2014). Urine and plasma metabolites predict the development of diabetic nephropathy in individuals with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine: a Journal of the British Diabetic Association*, 31(9), 1138–1147. <https://doi.org/10.1111/dme.12447>
- PENG, Y., HONG, J., RAFTERY, D., XIA, Q., and DU, D. (2021). Metabolomic-based clinical studies and murine models for acute pancreatitis disease: A review. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease*, 1867(7), 166123. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2021.166123>
- PEREIRA, G. L., MALHEIROS, J. M., OSPINA, A. M. T., CHARDULO, L. A. L., and CURI, R. A. (2019). Exome sequencing in genomic regions related to racing performance of Quarter Horses. *Journal of Applied Genetics*, 60(1), 79–86. <https://doi.org/10.1007/s13353-019-00483-1>
- PETERSEN, B.-S., FREDRICH, B., HOEPFNER, M. P., ELLINGHAUS, D., and FRANKE, A. (2017). Opportunities and challenges of whole-genome and exome sequencing. *BMC Genetics*, (18), 14. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0479-5>
- PICCINELLI, G., CARLENTINI, G., GARGIULO, F., CARUSO, A., and DE FRANCESCO, M. A. (2017). Analysis of Point Mutations in the pbp2x, pbp2b, and pbp1a Genes of *Streptococcus agalactiae* and Their Relationship with a Reduced

- Susceptibility to Cephalosporins. *Microbial Drug Resistance* (Larchmont, N.Y.), 23(8), 1019-1024. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0013>
- PIPPA, R., and ODERO, M. D. (2014). Papel de la genética en la leucemia mieloide aguda. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 37(3), 429-434. <https://doi.org/10.4321/S1137-66272014000300011>
- PROUKAKIS, C. (2020). Somatic mutations in neurodegeneration: An update. *Neurobiology of Disease*, (144), 105021. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2020.105021>
- PURANIK, A., SALDANHA, M., CHIRMULE, N., DANDEKAR, P., and JAIN, R. (2022). Advanced strategies in glycosylation prediction and control during biopharmaceutical development: Avenues toward industry 4.0. *Biotechnology Progress*, 38(5), e3283. <https://doi.org/10.1002/btpr.3283>
- QIU, X., LU, R., HE, Q., CHEN, S., HUANG, C., and LIN, D. (2023). Metabolic signatures and potential biomarkers for the diagnosis and treatment of colon cancer cachexia. *Acta biochimica et biophysica Sinica*, 10.3724/abbs.2023151. <https://doi.org/10.3724/abbs.2023151>
- RAMOS, P. S., SHEDLOCK, A. M., and LANGEFELD, C. D. (2015). Genetics of autoimmune diseases: Insights from population genetics. *Journal of Human Genetics*, 60(11), Article 11. <https://doi.org/10.1038/jhg.2015.94>
- RAMOS-FUENTES, F., GONZÁLEZ-MENESES, A., ARS, E., and HERNÁNDEZ-JARAS, J. (2020). Genetic Diagnosis of Rare Diseases: Past and Present. *Advances in Therapy*, 37(Suppl 2), 29-37. <https://doi.org/10.1007/s12325-019-01176-1>
- RAVINA, MANJEET, Mohan, H., NARANG, J., PUNDIR, S., and PUNDIR, C. S. (2021). A changing trend in diagnostic methods of Influenza A (H3N2) virus in human: A review. *Biotech*, 11(2), 87. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02642-w>
- RAI, M. F., COLLINS, K. H., LANG, A., MAERZ, T., GEURTS, J., RUIZ-ROMERO, C., JUNE, R. K., RAMOS, Y., RICE, S. J., ALI, S. A., PASTRELLO, C., JURISICA, I., Thomas Appleton, C., Rockel, J. S., and Kapoor, M. (2024). Three decades of advancements in osteoarthritis research: insights from transcriptomic, proteomic, and metabolomic studies. *Osteoarthritis and Cartilage*, 32(4), 385-397. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2023.11.019>
- RESLANE, I., SLADEK, M., FEY, P. D., and ABDALHAMID, B. (2021). Whole-Genome Sequences of Staphylococcus aureus Isolates from Positive Blood Cultures. *Microbiology Resource Announcements*, 10(43), e00898-21. <https://doi.org/10.1128/MRA.00898-21>
- RISSER, J., ACKERMAN, M., EVELSIZER, R., WU, S., KWON, B., and HAMMER, J. M. (2021). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus genetic variability a management and diagnostic dilemma. *Virology Journal*, 18(1), 206. <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01675-0>

- SÁEZ, M. E. (2022). Omics in Clinical Practice: How Far Are We? *Diagnostics*, 12(7), 1692. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12071692>
- SAKAI, A., NISHIUMI, S., SHIOMI, Y., KOBAYASHI, T., IZUMI, Y., KUTSUMI, H., HAYAKUMO, T., AZUMA, T., and YOSHIDA, M. (2012). Metabolomic analysis to discover candidate therapeutic agents against acute pancreatitis. *Archives of biochemistry and biophysics*, 522(2), 107-120. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.03.025>
- SAKURABA, H., TOGAWA, T., TSUKIMURA, T., and KATO, H. (2018). Plasma lyso-Gb3: a biomarker for monitoring fabry patients during enzyme replacement therapy. *Clinical and Experimental Nephrology*, 22(4), 843-849. <https://doi.org/10.1007/s10157-017-1525-3>
- SALAZAR, J., and LE, A. (2021). The Heterogeneity of Liver Cancer Metabolism. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1311, 127–136. https://doi.org/10.1007/978-3-030-65768-0_9
- SATAM H, JOSHI K, MANGROLIA U, Waghoo S, ZAIDI G, RAWOOL S, THAKARE RP, BANDAY S, MISHRA AK, DAS G, MALONIA SK. Next-Generation Sequencing Technology: *Current Trends and Advancements*. *Biology* (Basel), 13-12(7), 997. doi: 10.3390/biology12070997. PMID: 37508427; PMCID: PMC10376292.
- SAVIGE, J., and HARRAKA, P. (2021). Pathogenic Variants in the Genes Affected in Alport Syndrome (COL4A3-COL4A5) and Their Association with Other Kidney Conditions: A Review. *American Journal of Kidney Diseases: the Official Journal of the National Kidney Foundation*, 78(6), 857-864. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2021.04.017>
- SCHWARZ, U. I., WOLDANSKI-TRAVAGLINI, M., SWANSTON, V., MIKHAIL, M., CACCIOTTI, C., CAIRNEY, E., PATEL, S., SEELISCH, J., TOLE, S., WILEJTO, M., TIRONA, R. G., KIM, R. B., and ZORZI, A. P. (2023). Thiopurine Methyltransferase Intermediate Metabolizer Status and Thiopurine-Associated Toxicity During Maintenance Therapy in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 113(6), 1326–1336. <https://doi.org/10.1002/cpt.2894>
- SÉBÉDIO, J.-L., and MALPUECH-BRUGÈRE, C. (2022). Implementation of foodomics in the food industry. En C. M. Galanakis (Ed.), *Innovation Strategies in the Food Industry* (pp. 239-251). *Academic Press*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85203-6.00008-6>
- SHARMA, R., REINSTADLER, B., ENGELSTAD, K., SKINNER, O. S., STACKOWITZ, E., HALLER, R. G., CLISH, C. B., PIERCE, K., WALKER, M. A., FRYER, R., OGLESBEE, D., MAO, X., SHUNGU, D. C., KHATRI, A., HIRANO, M., DE VIVO, D. C., and MOOTHA, V. K. (2021). Circulating markers of NADH-reductive

- stress correlate with mitochondrial disease severity. *The Journal of Clinical Investigation*, 131(2), e136055. <https://doi.org/10.1172/JCI136055>
- SMITH, J., DAVIS, M., and GARCÍA, M. (2013). Dengue E protein: Implications for diagnosis. *Virology Reports*, 28(9), 1234-1240.
- SMITH, J., JOHNSON, A., and WILLIAMS, R. (2020). Spike protein as a diagnostic biomarker for COVID-19. *Journal of Virological Research*, 45(8), 1234-1242.
- SOBIEH, S. S., MOHAMED, S. A. H., EL-SAYED, M. A., and ABDALLAH, S. A. (2023). Molecular Assessment of MCR-1 Gene among Pandrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microbiology Research*, 14(3), article 3. <https://doi.org/10.3390/microbiolres14030083>
- SPITZER, A. R., and CHACE, D. (2008). Proteomics- and metabolomics-based neonatal diagnostics in assessing and managing the critically ill neonate. *Clinics in Perinatology*, 35(4), 695-vi. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2008.07.019>
- STERNER, R. C., and STERNER, R. M. (2021). CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer Journal*, 11(4), 69. <https://doi.org/10.1038/s41408-021-00459-7>
- STEWART, C. L., WARNER, S., ITO, K., RAOOF, M., WU, G. X., KESSLER, J., KIM, J. Y., and FONG, Y. (2018). Cytorreduction for colorectal metastases: liver, lung, peritoneum, lymph nodes, bone, brain. When does it palliate, prolong survival, and potentially cure? *Current Problems in Surgery*, 55(9), 330–379. <https://doi.org/10.1067/j.cpsurg.2018.08.004>
- STICHT, J., ÁLVARO-BENITO, M., and KONIGORSKI, S. (2021). Type 1 Diabetes and the HLA Region: Genetic Association Besides Classical HLA Class II Genes. *Frontiers in Genetics*, 12. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2021.683946>
- SUH J. H. (2022). Critical review: Metabolomics in dairy science–Evaluation of milk and milk product quality. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 154, 110984. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.110984>
- SURI, G. S., KAUR, G., CARBONE, G. M., and SHINDE, D. (2023). *Metabolomics in oncology*. *Cancer Reports (Hoboken, N.J.)*, 6(3), e1795. <https://doi.org/10.1002/cnr2.1795>
- TALBOT, J., HØJSGAARD CHOW, H., MAHLER, M., BUHELT, S., HOLM HANSEN, R., LUNDELL, H., VINTHER-JENSEN, T., HELLEM, M. N. N., NIELSEN, J. E., SIEBNER, H. R., von ESSEN, M. R., and SELLEBJERG, F. (2022). Relationship between cerebrospinal fluid biomarkers of inflammation and tissue damage in primary progressive multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 68, 104209. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2022.104209>

- TAXT, A. M., AVERSHINA, E., FRYE, S. A., NASEER, U., and AHMAD, R. (2020). Rapid identification of pathogens, antibiotic resistance genes and plasmids in blood cultures by nanopore sequencing. *Scientific Reports*, 10(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64616-x>
- TÉLESSY IG, SINGH RAM. B., ROSS WATSON RONALD., TAKAHASHI TORU. (2019). “Nutraceuticals”, en *The Role of Functional Food Security in Global Health* (Cambridge, Estados Unidos: Academic Press;), 409-421. 10.1016/B978-0-12-813148-0.00024-4
- TEYSSIER, N. B., CHEN, A., DUARTE, E. M., Sit, R., GREENHOUSE, B., and TESSEMA, S. K. (2021). Optimization of whole-genome sequencing of *Plasmodium falciparum* from low-density dried blood spot samples. *Malaria Journal*, 20(1), 116. <https://doi.org/10.1186/s12936-021-03630-4>
- THISTLETHWAITE, L. R., LI, X., BURRAGE, L. C., RIEHLE, K., Hacia, J. G., Braverman, N., Wangler, M. F., Miller, M. J., Elsea, S. H., and Milosavljevic, A. (2022). Clinical diagnosis of metabolic disorders using untargated metabolomic profiling and disease-specific networks learned from profiling data. *Scientific Reports*, 12(1), 6556. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10415-5>
- Tseng, S.-T., Tai, C.-H., Li, C.-R., Lin, C.-F., and Shi, Z.-Y. (2015). The mutations of *katG* and *inhA* genes of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 48(3), 249-255. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2013.08.018>
- ULMER, C. Z., MAUS, A., HINES, J., and SINGH, R. (2021). Challenges in Translating Clinical Metabolomics Data Sets from the Bench to the Bedside. *Clinical Chemistry*, 67(12), 1581–1583. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvab210>
- VAN DER KLOET, F. M., TEMPELS, F. W., ISMAIL, N., van der Heijden, R., KASPER, P. T., ROJAS-CHERTO, M., van DOORN, R., SPIJKSMA, G., KOEK, M., van der GREEF, J., MÄKINEN, V. P., FORSBLOM, C., HOLTHÖFER, H., GROOP, P. H., REIJMERS, T. H., and HANKEMEIER, T. (2012). Discovery of early-stage biomarkers for diabetic kidney disease using ms-based metabolomics (FinDiane study). *Metabolomics : Official journal of the Metabolomic Society*, 8(1), 109-119. <https://doi.org/10.1007/s11306-011-0291-6>
- VAN DER WEELE, P., MEIJER, C. J. L. M., and KING, A. J. (2017). Whole-Genome Sequencing and Variant Analysis of Human Papillomavirus 16 Infections. *Journal of Virology*, 91(19), e00844-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00844-17>
- VANSTOKSTRAETEN, R., PIÉRARD, D., CROMBÉ, F., DE GEYTER, D., WYBO, I., MUYLDERMANS, A., SEYLER, L., CALJON, B., JANSSEN, T., and DEMUYSER, T. (2023). Genotypic resistance determined by whole genome sequencing versus phenotypic resistance in 234 *Escherichia coli* isolates. *Scientific Reports*, 13(1), article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-27723-z>

- VELEZ, G., and MAHAJAN, V. B. (2020). Molecular Surgery: Proteomics of a Rare Genetic Disease Gives Insight into Common Causes of Blindness. *Science*, 23(11), 101667. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101667>
- VENUGOPAL, V., and PAVLAKIS, S. (2023). *Duchenne Muscular Dystrophy*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482346/>
- VIJAY, P., MCINTYRE, A. B. R., MASON, C. E., GREENFIELD, J. P., and LI, S. (2016). Clinical Genomics: Challenges and Opportunities. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 26(2), 97-113. <https://doi.org/10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2016015724>
- VILLANUEVA, B., CERDÀ, P., TORRES-IGLESIAS, R., ROCAMORA, J. L., FIGUERAS, A., VIÑALS, F., and RIERA-MESTRE, A. (2023). Potential angiogenic biomarkers in hereditary hemorrhagic telangiectasia and other vascular diseases. *European Journal of Internal Medicine*, 115, 10-17. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2023.05.020>
- VOGESER, M., and BENDT, A. K. (2023). From research cohorts to the patient – a role for “omics” in diagnostics and laboratory medicine? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 61(6), 974-980. <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-1147>
- WAGNER, J., DEGENHARDT, K., VEIT, M., LOUROS, N., KONSTANTOULEA, K., SKODRAS, A., WILD, K., LIU, P., OBERMÜLLER, U., BANSAL, V., DALMIA, A., HÄSLER, L. M., LAMBERT, M., De VLEESCHOUWER, M., DAVIES, H. A., MADINE, J., KRONENBERG-VERSTEEG, D., FEEDERLE, R., DEL TURCO, D., NILSSON, K. P. R., ... NEHER, J. J. (2022). Medin co-aggregates with vascular amyloid- β in Alzheimer's disease. *Nature*, 612(7938), 123-131. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05440-3>
- WANG, D., GAO, Y., LI, Y., ZHAO, Y., DU, X., LI, X., ZHANG, Y., LIU, S., and XU, Y. (2023). Plasma metabolomics and network pharmacology identified glutamate, glutamine, and arginine as biomarkers of depression under Shuganjiayu capsule treatment. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 232, 115419. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2023.115419>
- WANG, T. J., LARSON, M. G., VASAN, R. S., CHENG, S., RHEE, E. P., MCCABE, E., LEWIS, G. D., FOX, C. S., JACQUES, P. F., FERNANDEZ, C., O'DONNELL, C. J., CARR, S. A., MOOTHA, V. K., FLOREZ, J. C., SOUZA, A., MELANDER, O., CLISH, C. B., and GERSZTEN, R. E. (2011). Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nature Medicine*, 17(4), 448-453. <https://doi.org/10.1038/nm.2307>
- WANG, Z., KLIPFELL, E., BENNETT, B. J., KOETH, R., LEVISON, B. S., DUGAR, B., FELDSTEIN, A. E., BRITT, E. B., FU, X., CHUNG, Y. M., WU, Y., SCHAUER, P., SMITH, J. D., ALLAYEE, H., TANG, W. H., DiDONATO, J. A., LUSIS, A. J., and HAZEN, S. L. (2011). Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes

- cardiovascular disease. *Nature*, 472(7341), 57-63. <https://doi.org/10.1038/nature09922>
- WILLIAMS, J. W., WINKELS, H., DURANT, C. P., ZAITSEV, K., GHOSHEH, Y., and LEY, K. (2020). Single Cell RNA Sequencing in Atherosclerosis Research. *Circulation Research*, 126(9), 1112-1126. <https://doi.org/10.1161/CIRCRES-AHA.119.315940>
- WILSON, P., JOHNSON, A., and GARCÍA, M. (2015). TB antigenic proteins for diagnosis. *Tuberculosis Research*, 35(2), 145-152.
- WONGJARIT, K., THAMMACHAROENRACH, N., DITYEN, K., KAEWOPAS, Y., KOSITPESAT, N., UKRITCHON, S., OSIRI, M., and WONGPIYABOVORN, J. (2023). Determination of specific autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus by Line immunoassay, ELISA and CLIF assay. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*, 41(1), 73-79. <https://doi.org/10.12932/AP-301019-0681>
- WONG-ROLLE, A., DONG, Q., ZHU, Y., DIVAKAR, P., HOR, J. L., KEDEI, N., WONG, M., TILLO, D., CONNER, E. A., RAJAN, A., SCHRUMP, D. S., JIN, C., GERMAIN, R. N., and ZHAO, C. (2022). Spatial meta-transcriptomics reveal associations of intratumor bacteria burden with lung cancer cells showing a distinct oncogenic signature. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 10(7), e004698. <https://doi.org/10.1136/jitc-2022-004698>
- WONGSUK, T., HOMKAEW, A., FAKSRI, K., and THONGNAK, C. (2020). Multi-locus Sequence Typing and Whole Genome Sequence Analysis of *Cryptococcus neoformans* Isolated from Clinical Specimens in Vajira Hospital, Bangkok, Thailand. *Mycopathologia*, 185(3), 503-514. <https://doi.org/10.1007/s11046-020-00456-7>
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). (2020). *Genomics*. <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/genomics>
- WORTMANN, S. B., OUD, M. M., ALDERS, M., COENE, K. L. M., van der Crabben, S. N., FEICHTINGER, R. G., GARANTO, A., HOISCHEN, A., LANGEVELD, M., LEFEBER, D., MAYR, J. A., OCKELOEN, C. W., PROKISCH, H., RODENBURG, R., WATERHAM, H. R., WEVERS, R. A., VAN DE WARRENBURG, B. P. C., WILLEMSSEN, M. A. A. P., WOLF, N. I., VISSERS, L. E. L. M., ... van Karnebeek, C. D. M. (2022). How to proceed after “negative” exome: A review on genetic diagnostics, limitations, challenges, and emerging new multiomics techniques. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 45(4), 663-681. <https://doi.org/10.1002/jimd.12507>
- WU, X., and YOU, C. (2023). The biomarkers discovery of hyperuricemia and gout: proteomics and metabolomics. *PeerJ*, 11, e14554. <https://doi.org/10.7717/peerj.14554>

- XIAO, Q., and LAUSCHKE, V. M. (2021). The prevalence, genetic complexity and population-specific founder effects of human autosomal recessive disorders. *Npj Genomic Medicine*, 6(1), article 1. <https://doi.org/10.1038/s41525-021-00203-x>
- XU, L., CHANG, C., JIANG, P., WEI, K., ZHANG, R., Jin, Y., Zhao, J., Xu, L., Shi, Y., Guo, S., and He, D. (2022). Metabolomics in rheumatoid arthritis: Advances and review. *Frontiers in Immunology*, 13, 961708. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.961708>
- YUCESAN, B., GULDEMIR, D., BABUR, C., Kilic, S., and Cakmak, A. (2021). Whole-genome sequencing of a *Toxoplasma gondii* strain from a Turkish isolate using next-generation sequencing technology. *Acta Tropica*, 218, 105907. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.105907>
- ZHANG, D., HUANG, J., and HU, J. (2022). Improved diagnosis of type-1 diabetes mellitus using multiplexed autoantibodies ELISA array. *Analytical Biochemistry*, 649, 114722. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2022.114722>
- ZHAO, L.-P., SÉBERT, M., MÉKINIAN, A., FAIN, O., ESPÉLI, M., BALABANIAN, K., DULPHY, N., ADÈS, L., and FENAUX, P. (2023). What role for somatic mutations in systemic inflammatory and autoimmune diseases associated with myelodysplastic neoplasms and chronic myelomonocytic leukemias? *Leukemia*, 37(6), article 6. <https://doi.org/10.1038/s41375-023-01890-4>
- ZHAO, X., HAN, Q., LIU, Y., SUN, C., GANG, X., and WANG, G. (2016). The Relationship between Branched-Chain Amino Acid Related Metabolomic Signature and Insulin Resistance: A Systematic Review. *Journal of Diabetes Research*, 2016, 2794591. <https://doi.org/10.1155/2016/2794591>
- ZHENG, H., BLECHERT, O., MEI, H., GE, L., LIU, J., TAO, Y., LI, D., DE HOOG, G. S., and LIU, W. (2020). Whole-genome resequencing of *Trichophyton rubrum* provides insights into population differentiation and drug resistance. *Mycopathologia*, 185(1), 103-112. <https://doi.org/10.1007/s11046-019-00384-1>
- ZHENG, X., ZHENG, P., and SUN, J. (2019). Systems biology for industrial biotechnology Sheng wu gong cheng xue bao. *Chinese Journal of Biotechnology*, 35(10), 1955-1973. <https://doi.org/10.13345/j.cjb.190217>
- ZUBAIR, M., WANG, S., and ALI, N. (2021). Advanced Approaches to Breast Cancer Classification and Diagnosis. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 632079. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.63207>

CAPÍTULO 2. IMPACTO DE LA METAGENÓMICA EN LA MICROBIOLOGÍA

1. INTRODUCCIÓN

La metagenómica, la metatranscriptómica, la metaproteómica y la metabolómica son disciplinas que se sitúan en la intersección de la genética, la biología molecular, la bioinformática y otras áreas, lo que permite un análisis integral de las comunidades microbianas y su interacción con el entorno. La metagenómica aborda el material genético colectivo, la metatranscriptómica se centra en los ARN funcionales, la metaproteómica estudia las proteínas expresadas, y la metabolómica analiza los metabolitos presentes en las muestras biológicas. Estas disciplinas combinadas brindan una visión holística de la función microbiana en entornos diversos, desde el cuerpo humano hasta ecosistemas acuáticos y terrestres, permitiendo comprender mejor las complejas interacciones entre los microorganismos y su entorno. Tales conocimientos son esenciales para el avance en microbiología y su impacto en la salud y el medio ambiente.

La metagenómica, un campo en expansión dentro de la genómica, se centra en el estudio de los genomas de comunidades microbianas presentes en muestras ambientales. Permite explorar una variedad de fuentes, ya sean naturales o artificiales (hábitats acuáticos y suelos agrícolas o de relevancia ambiental). También evalúa la flora en otros organismos, como por ejemplo el sistema gastrointestinal en animales domésticos y el humano. Cabe resalta que el avance en herramientas y técnicas moleculares ha ampliado significativamente las fuentes de muestras para los análisis metagenómicos (HANDELSMAN *et al.*, 1998).

La metagenómica desempeña un papel crucial en la comprensión de la diversidad microbiana en diversos ecosistemas. Al permitir el análisis directo del ADN de las comunidades microbianas en su ambiente natural, esta técnica proporciona una visión sin precedentes de la estructura genética y la funcionalidad de estos microorganismos (HOZZEIN, 2020; YANG *et al.*, 2021). Esta información es vital para entender los roles ecológicos de las comunidades microbianas en los ecosistemas, incluyendo su influencia en la salud del suelo, la calidad del agua y la biodiversidad en los océanos (FENCHEL *et al.*, 1995; RIESENFELD *et al.*, 2004). Además, la metagenómica es esencial en investigaciones relacionadas con

la salud humana, ya que permite explorar y comprender la microbiota presente en el cuerpo humano, con implicaciones directas en áreas como la nutrición, la inmunología y las enfermedades.

2. GENERALIDADES DE LA METAGENÓMICA

La metagenómica, según DANIEL (2005), abarca un conjunto de técnicas y procedimientos destinados a analizar el material genómico completo de microorganismos que coexisten en entornos específicos, prescindiendo de su cultivo en laboratorio. Esta disciplina científica se centra en estudiar el material genético colectivo presente en diversas muestras ambientales, como suelos, aguas, y muestras clínicas complejas, como el tracto digestivo humano (HOZZEIN, 2020). A diferencia de la genómica convencional, que se enfoca en analizar los genomas de organismos individuales, la metagenómica permite examinar el ADN/ARN de comunidades microbianas en su conjunto, revelando cómo interactúan y qué funciones desempeñan en sus respectivos ecosistemas.

La metagenómica constituye un campo de estudio científico sumamente adaptable, el cual se divide en dos enfoques fundamentales: el enfoque taxonómico, que se basa en el análisis de secuencias, y el enfoque funcional, centrado en las funciones, además, se puede optar por una fusión de ambos enfoques, dependiendo de los objetivos específicos que se busquen alcanzar (NAVIGIRE *et al.*, 2022).

El enfoque taxonómico se utiliza para establecer las relaciones filogenéticas entre el gen secuenciado y los grupos taxonómicos de microorganismos reconocidos en las bases de datos. En este contexto, se pone atención en conjuntos filogenéticos basados en la secuencia del gen 16S ARNr, donde se comparan las unidades taxonómicas operativas (OTU) y las variantes de secuencia de amplicón (ASV), para describir y clasificar la diversidad genética de los microorganismos presentes en un ambiente, permiten determinar la presencia y calcular la abundancia de especies microbianas en un entorno específico (EDGAR, 2018). El análisis metagenómico abarca el perfilado taxonómico y la identificación de patógenos mediante la secuenciación de nueva generación (NGS). Estos resultados fortalecen diversas áreas del conocimiento, como el diagnóstico de enfermedades, el seguimiento de brotes y el análisis del microbioma en distintos hábitats.

El enfoque funcional se utiliza para identificar secuencias genéticas con una actividad específica o, en el caso de genes nuevos, para determinar su función específica en una vía funcional. Esta labor se realiza mediante la metagenómica *shotgun* o escopeta, que abarca la secuenciación completa de genomas e implica la anotación funcional de genes. El término *shotgun* se refiere a una estrategia de secuenciación de ADN que implica la fragmentación aleatoria del genoma en

pequeños fragmentos, que luego se secuencian y se ensamblan para reconstruir el genoma completo. Esta técnica es utilizada principalmente por la tecnología de secuenciación de Illumina y algunas plataformas chinas. Aunque ha sido ampliamente adoptada, tiene limitaciones en la generación de fragmentos cortos (NAVIGIRE *et al.*, 2022).

Por otro lado, la secuenciación de lectura larga, ofrecida por plataformas como PacBio y Oxford Nanopore, proporciona fragmentos de ADN mucho más largos. Esto permite abordar regiones complejas del genoma, como repeticiones largas y regiones de baja complejidad. Aunque estas tecnologías ofrecen ventajas en la resolución de regiones genómicas difíciles de abordar con la secuenciación *shotgun*, también presentan desafíos técnicos y económicos que cada vez se han ido abordando progresivamente (UDAONDO *et al.*, 2021)

La anotación funcional se basa en la predicción y anotación de genes, donde la predicción de genes facilita la identificación de secuencias potenciales de proteínas. Estas secuencias, que codifican las proteínas, se comparan con familias de proteínas en bases de datos para ser funcionalmente anotadas al coincidir con las funciones de la familia correspondiente. La metagenómica funcional tiene como objetivo identificar ampliamente proteínas o genes novedosos que contribuyen a las funciones de la población microbiana y que impactan en el entorno (NAVIGIRE *et al.*, 2022).

Los microbiólogos medioambientales señalan que, en laboratorios de diversos entornos ecológicos, es posible cultivar menos del 2 % de las bacterias. Este porcentaje de cultivabilidad, que representa el número de bacterias cultivables en relación con el recuento total de células, varía según los diferentes hábitats. Por ejemplo, oscila entre un 0,001 % y un 15 % en entornos como el agua de mar, el agua dulce, los lagos mesotróficos, las aguas estuarinas no contaminadas, los lodos activados, el suelo y los sedimentos (HOZZEIN, 2020). En contraste, en hábitats como la cavidad bucal humana, puede cultivarse hasta el 50 % de la microflora.

Sin embargo, los enfoques metagenómicos, basados en la secuencia del gen 16S ARNr y ampliamente utilizados en el pasado reciente, han mejorado significativamente nuestra comprensión de la diversidad microbiana en estos lugares. Además de 16S, la metagenómica también utiliza otros marcadores genéticos como ITS (secuencia interna transcrita), 18S (ARN ribosomal 18S), entre otros, para caracterizar la diversidad microbiana. Estos estudios de análisis de la diversidad microbiana han conducido a un mayor descubrimiento de nuevos linajes bacterianos.

2.1. HISTORIA DE LA METAGENÓMICA

La historia de la metagenómica encuentra sus raíces en los descubrimientos pioneros en el mundo microbiano. Leeuwenhoek, con su invención revolucionaria, el microscopio, fue el primero en vislumbrar este mundo invisible (ROBERTSON, 2015). Su hallazgo desencadenó una intensa investigación para desarrollar métodos de cultivo de microorganismos. Robert Koch, por ejemplo, creó el método de medios de cultivo sólidos, un hito fundamental en la historia de la microbiología (BLEVINS *et al.*, 2009). A partir de entonces, se ha llevado a cabo un extenso trabajo para identificar, estudiar y clasificar diversas bacterias, explorando sus aplicaciones biológicas y su evolución. Estos avances sentaron las bases para el posterior desarrollo de la metagenómica, disciplina que exploraría la diversidad microbiana de manera integral.

La metagenómica, un campo relativamente joven en la genómica, ha revolucionado la comprensión de la diversidad microbiana y su funcionamiento en distintos entornos. Aunque sus raíces se remontan al final del siglo XX y principios del XXI, los primeros indicios de la metagenómica surgieron con el advenimiento de la microbiología y la biología molecular (HOZZEIN, 2020; YANG *et al.*, 2021). El desarrollo de técnicas para cultivar bacterias en entornos selectivos amplió significativamente nuestro conocimiento del metabolismo microbiano, explorando aspectos como la resistencia a antibióticos, la producción de metabolitos para degradar compuestos extraños y el análisis de las rutas metabólicas (FENCHEL *et al.*, 1995).

Sin embargo, estas técnicas iniciales apenas investigaron alrededor del 1 % de la diversidad presente en muestras ambientales, dejando un vasto 99 % de los microorganismos sin explorar (RIESENFELD *et al.*, 2004). Este vacío en el conocimiento impulsó el desarrollo de la metagenómica como una herramienta integral para explorar y comprender la inmensa diversidad microbiana (**figura 19**).

Figura 19. Contribuciones históricas al avance de la metagenómica

Nota. La imagen presenta una línea de tiempo de la historia de la metagenómica, desde las primeras observaciones de microbiota en 1679 por Leeuwenhoek, hasta los avances recientes en medicina de precisión y análisis de microbioma humano. Destaca hitos como el desarrollo de la secuenciación por Sanger y PCR en los años 70 y 80, el primer estudio metagenómico en 1990, y estudios recientes sobre el microbioma en salud humana y medio ambiente.

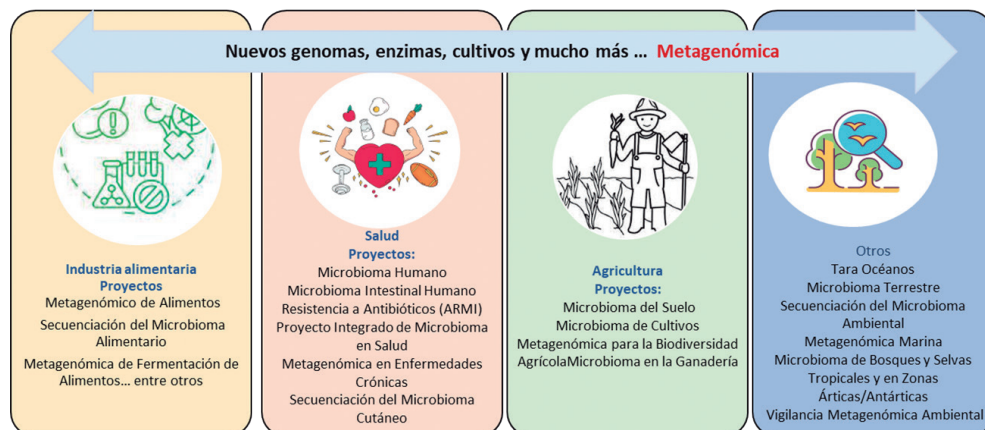
En la década de 1990 HANDELSMAN, junto con otros científicos, inició la exploración del ADN ambiental prescindiendo del cultivo de microorganismos. Esta innovadora aproximación llevó al desarrollo de técnicas fundamentales como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y la secuenciación de alto rendimiento. Estos avances posibilitaron el análisis y la secuenciación del ADN presente en muestras ambientales completas, evitando la necesidad de cultivar individualmente los microorganismos (HANDELSMAN *et al.*, 1998; HANDELSMAN *et al.*, 2004).

A principios de los años 2000, surgió el término *metagenómica* para referirse al estudio del material genético colectivo presente en comunidades microbianas en muestras ambientales. Esta metodología permitió explorar y caracterizar la diversidad genética microbiana sin necesidad de cultivar cada especie por separado. El interés por investigar estos microorganismos desconocidos impulsó el análisis detallado de marcadores moleculares, marcando así el inicio de una nueva fase en la ecología microbiana.

Los primeros análisis se centraron en la secuenciación del ARN ribosomal 5S para construir bibliotecas de ADN complementario a partir de comunidades sintéticas (RIESENFELD *et al.*, 2004). Variantes de esta técnica dieron paso a nuevas metodologías, como la reconstrucción de filogenias, la comparación de distribuciones microbióticas mediante secuencias de nucleótidos o fragmentos de longitud polimórfica de restricción (RFLPs), y el desarrollo de la cuantificación de la abundancia relativa de grupos taxonómicos mediante FISH (hibridación fluorescente *in situ*) (GELLMAN, 2023; RIESENFELD *et al.*, 2004).

El creciente interés en la metagenómica ha impulsado numerosos proyectos a nivel global enfocados en el estudio del microbioma, con el objetivo primordial de caracterizar y comprender la diversidad y función de los microorganismos en su entorno natural (**figura 19**). Estos proyectos han recibido financiamiento de diversas agencias, entre las que se incluyen la Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (CSIRO) en Australia, los Canadian Institutes of Health Research (CIHR) en Canadá y el proyecto colaborativo MetaHIT (METAgenomics of the Human Intestinal Tract), respaldado por la Comisión Europea, que involucra a 15 institutos de 8 países. Estas instituciones representan solo una parte del amplio apoyo financiero recibido por los proyectos en metagenómica (NAVIGIRE *et al.*, 2022).

Uno de los proyectos más reconocidos es el Proyecto del Microbioma Humano (HMP), iniciado por los Institutos Nacionales de Salud (NIH) en 2008. Este proyecto busca identificar el microbioma humano saludable, investigando la diversidad y complejidad de las comunidades microbianas en distintas áreas del cuerpo para arrojar luz sobre su composición y su relación con la salud y las enfermedades (BRÜSSOW, 2023). Estos estudios no solo nos ayudan a comprender la diversidad del microbioma en diferentes órganos del cuerpo humano, sino que también ayudan a comprender la dinámica cambiante de este microbioma en estados de enfermedad y otras condiciones no saludables (**figura 20**) (Integrative HMP Research Network Consortium, 2019).

Figura 20. Áreas de investigación en metagenómica y proyectos emergentes

Nota. Se describen aplicaciones de la metagenómica en diversos sectores: en la industria alimentaria (microbioma de alimentos y fermentación), en salud (microbiomas humano e intestinal, resistencia a antibióticos), en agricultura (microbioma del suelo y cultivos), y en otros entornos ambientales (microbiomas marino, terrestre y de bosques).

A raíz del HMP surgió el Proyecto Microbioma Intestinal Humano, enfocado específicamente en el intrincado mundo del microbioma intestinal humano, su objetivo es cartografiar tanto la diversidad como la función de las comunidades microbianas presentes en el tracto gastrointestinal, profundizando en su impacto en la salud y las enfermedades humanas (NAVIGIRE *et al.*, 2022).

Por otro lado, el Proyecto Tara Océanos se inició en 2009 como una expedición científica con el propósito de investigar y cartografiar la diversidad genética y molecular en los océanos del planeta. Utilizando el barco de investigación Tara, este proyecto tenía como objetivo comprender a fondo los ecosistemas marinos y su biodiversidad a través del análisis de muestras de agua tomadas en distintos puntos del océano mundial. El enfoque principal fue el estudio del microbioma marino y su impacto en los ecosistemas oceánicos, se recolectaron datos genómicos de una amplia gama de microorganismos, incluyendo bacterias, arqueas y virus (PIERELLA *et al.*, 2020).

Por otra parte, el Proyecto Earth Microbiome dio inicio alrededor de 2010, con el propósito de mapear y comprender la diversidad genética de microorganismos en diversos entornos terrestres, abarcando suelos, aguas dulces, aire y el cuerpo humano. Este proyecto se enfocó en comprender la microbiota presente en

diferentes ambientes terrestres y su influencia en la salud y el funcionamiento de los ecosistemas, con el objetivo de obtener una visión global de los microorganismos en la Tierra y su papel fundamental en los ciclos biogeoquímicos (GILBERT *et al.*, 2018).

Estos proyectos representan solo algunos ejemplos de las amplias investigaciones llevadas a cabo en el campo de la metagenómica para comprender la diversidad y función de los microorganismos en diferentes entornos.

2.2. ENFOQUES DE SECUENCIACIÓN Y FUNCIONALES DE LA METAGENÓMICA

La metagenómica puede ser clasificada de diversas maneras según el enfoque de estudio y las técnicas utilizadas, según los objetivos específicos de estudio, ZHANG *et al.* (2021) intentaron clasificarla en dos categorías principales: la metagenómica funcional y la de secuenciación (ZHANG *et al.*, 2021). La metagenómica funcional se enfoca en descubrir nuevos genes funcionales y sustancias bioactivas relacionadas, centrándose en la identificación y caracterización de las funciones genéticas presentes en las comunidades microbianas. Por su lado, la metagenómica de secuenciación se dedica a explorar la diversidad de la comunidad microbiana, buscando describir la composición genética de estas comunidades mediante el análisis de su diversidad genómica (ZHANG *et al.*, 2021).

Sin embargo, otros estudios han propuesto una clasificación basada en los tipos de datos generados según la técnica de secuenciación utilizada: datos de genes dirigidos por amplificación y datos de genes no dirigidos o *shotgun*. En este sentido, BREITWIESER y colaboradores en 2019, introdujeron el término *metataxonómica* para referirse a los datos obtenidos mediante secuenciación de amplicones, mientras que emplearon el término *metagenómica* para los datos generados a través de secuenciación de *shotgun* (BREITWIESER *et al.*, 2019).

El avance de las técnicas de secuenciación ha impulsado el progreso de las investigaciones microbianas basadas en el ARNr 16S y genomas íntegros. Los estudios de metagenómica de amplicones suelen enfocarse en explorar la diversidad microbiana, mientras que la investigación de metagenómica *shotgun* se centra en la identificación de genes funcionales y el metabolismo (KAMBLE *et al.*, 2020). Esta distinción se basa en el tipo de información genómica y taxonómica obtenida mediante estas técnicas de secuenciación, lo que proporciona una visión más precisa de los enfoques utilizados en el análisis de comunidades microbianas.

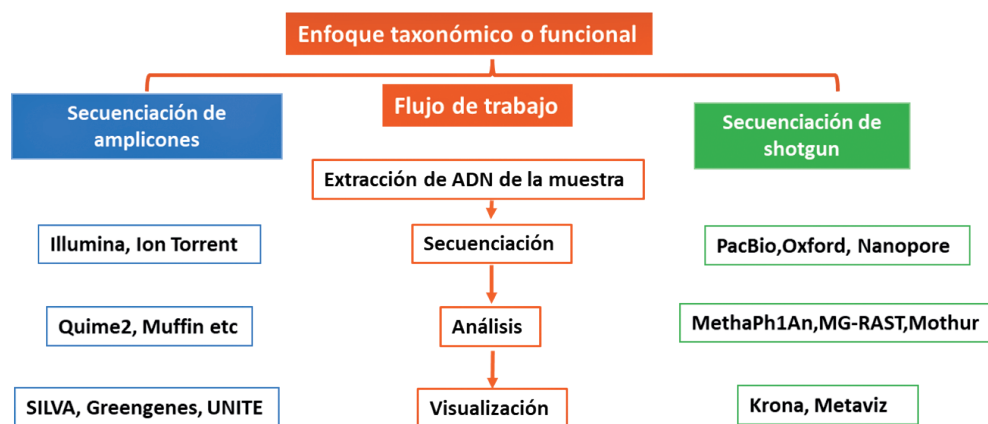
Los datos para estos estudios metagenómicos generalmente se obtienen a partir de secuencias de ADN provenientes de diversos entornos, utilizando técnicas de secuenciación de próxima generación como Illumina, PacBio y Oxford

Nanopore Technologies, entre otras. Mientras que la metagenómica *shotgun* permite la secuenciación directa del ADN con alto rendimiento, la metataxonomía (metagenómica de amplicones) requiere la amplificación de muestras de ADN con cebadores específicos para genes particulares (**figura 21**).

El avance de las tecnologías de secuenciación ha permitido descubrir variantes específicas en la secuencia del ARN ribosomal 16S. En el caso de las bacterias, el gen 16S ARNr, que codifica el ARNr 16S, se utiliza comúnmente para estudios filogenéticos y de identificación taxonómica. Además, las variantes de ARNr 18S y 26S son fundamentales en el análisis genético, especialmente para identificar especies en organismos eucariotas como los hongos. Las regiones ITS (Internal Transcribed Spacer) entre estos genes se emplean como marcadores para estudios taxonómicos debido a su variabilidad entre especies en genomas de hongos (KAMBLE *et al.*, 2020).

Estas variaciones han revelado grupos taxonómicos nuevos que no son accesibles mediante técnicas de cultivo tradicionales. Por ejemplo, se ha observado que más del 50 % de las especies de acidobacterias, el grupo más abundante, se clasifican como no cultivables en la actualidad (RIESENFIELD *et al.*, 2004).

Figura 21. Clasificación y flujo de trabajo en metagenómica con diversas plataformas de secuenciación y herramientas bioinformáticas



Nota. Se muestran dos enfoques en el análisis metagenómico: la secuenciación de amplicones y la secuenciación de shotgun. Incluye plataformas y herramientas asociadas, como Illumina y Ion Torrent para amplicones con bases de datos como SILVA, y PacBio y Nanopore para shotgun con herramientas de análisis como MG-RAST y Krona.

Es así como, la metagenómica se ha convertido en una herramienta indispensable que buscan desentrañar los misterios de la vida microbiana, descubriendo así secretos cruciales para el equilibrio y la sostenibilidad de los ecosistemas terrestres y acuáticos, así como para la salud y bienestar humano, en donde la ecología microbiana juega un papel importante.

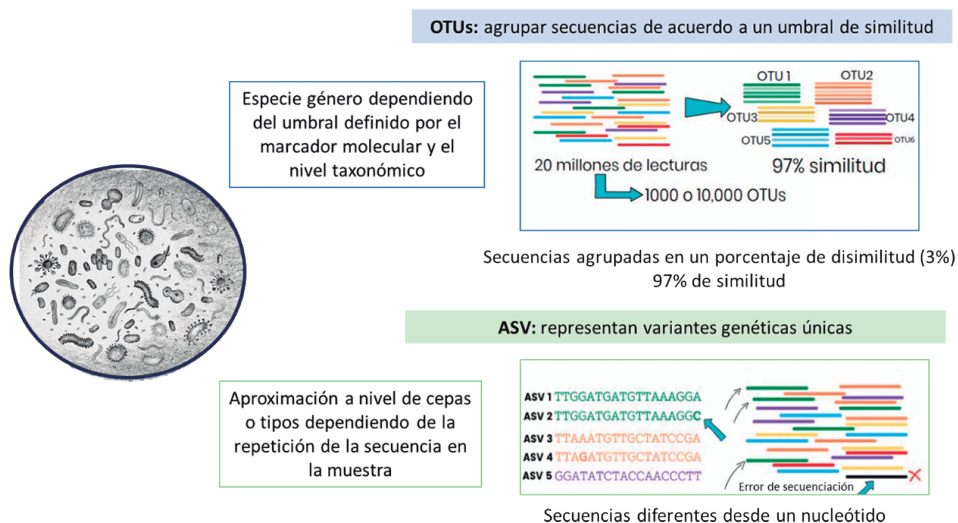
La ecología microbiana, parte integral de la metagenómica, se enfoca en explorar la diversidad de microorganismos presentes en distintos entornos, desde suelos hasta sistemas humanos, y analiza sus interacciones dentro de estos ecosistemas. Esta rama de investigación tiene un impacto directo en la comprensión de la salud humana, los ciclos de nutrientes y presenta aplicaciones significativas en la industria y la conservación del medio ambiente. Además, este campo de estudio posibilita la comprensión de cómo los cambios ambientales afectan la diversidad microbiana, catalizando avances tecnológicos que transforman nuestra comprensión de los microorganismos y su relación con el entorno.

2.3. ENFOQUES DE OTU Y ASV PARA ANALIZAR DATOS DE SECUENCIACIÓN

Los OTU y las ASV son enfoques distintos para analizar datos de secuenciación en estudios de diversidad microbiana.

OTU: estos grupos se forman con base en similitudes de secuencia por encima de un umbral predefinido. Esto puede llevar a agrupar secuencias que pueden tener diferencias pequeñas pero que se consideran lo suficientemente similares como para ser asignadas al mismo grupo. Los OTU son útiles para reducir la complejidad de los datos y pueden ser menos sensibles a errores de secuenciación, pero pueden subestimar la diversidad real al agrupar secuencias diferentes en un solo grupo (GARCÍA-LÓPEZ *et al.*, 2021).

Variantes de secuencia de amplicón (ASV): en metagenómica, se utilizan para describir las secuencias únicas derivadas de datos de secuenciación de alto rendimiento, como la secuenciación de amplicones de genes específicos o la secuenciación de genes completos en muestras ambientales o microbiomas (**figura 22**) (GARCÍA-LÓPEZ *et al.*, 2021).

Figura 22. *Análisis de diversidad y datos generados por NGS: OTU versus ASV*

Nota. Se explica las unidades taxonómicas operacionales (OTU) y las variantes de secuencia amplicón (ASV) en metagenómica. Las OTU agrupan secuencias según un umbral de similitud (por ejemplo 97 %), representando especies o géneros. Las ASV, en cambio, identifican variantes genéticas únicas, permitiendo una resolución a nivel de cepa o tipo y detectando errores de secuenciación.

En los recientes años, se ha implementado la eliminación de interferencias mediante diversos algoritmos reconocidos como una alternativa para agrupar datos, enfocándose en prever y rectificar errores de secuenciación reales antes de establecer los grupos, denominados ASV.

Por consiguiente, la agrupación de ASV se fundamenta en la probabilidad de secuencia, en contraposición a la identidad de secuencia (como en las OTU). Los métodos de eliminación de ruido se valen de modelos estadísticos sólidamente establecidos para identificar qué secuencias de baja prevalencia aparecen de forma inusual y, por ende, se consideran variantes de secuencia auténticas. Esto resulta en grupos personalizados menos numerosos, pero más coherentes, que han sido exhaustivamente validados para asegurar una precisión más aceptable (GARCÍA-LÓPEZ *et al.*, 2021).

En lugar de agrupar secuencias en OTU, basadas en un umbral de similitud predefinido, las ASV representan exactamente cada secuencia única observada en los datos, esto permite una resolución más alta en la identificación de diferentes cepas o variantes genéticas dentro de una muestra.

Las ASV se emplean para explorar la diversidad microbiana, investigar las interacciones entre microorganismos, identificar especies presentes en un entorno específico y comprender la función de la comunidad microbiana en distintos hábitats. A diferencia de las OTU, las ASV representan secuencias genéticas únicas observadas en los datos, lo que proporciona una resolución más alta al capturar las variantes genéticas individuales. Esto facilita una comprensión más precisa de la diversidad microbiana. No obstante, las ASV pueden ser más susceptibles a errores de secuenciación y generar más interferencias en los datos debido a su nivel de detalle.

La elección entre OTU y ASV depende de los objetivos específicos del estudio y la resolución deseada. Algunos estudios pueden beneficiarse de la simplicidad y la reducción de datos que proporcionan los OTU, mientras que otros pueden requerir la precisión y la resolución más alta de las ASV para capturar la diversidad microbiana con mayor detalle. En los últimos años, en el ámbito de la investigación microbiótica, se han empleado con mayor frecuencia los ASV, en adición a los métodos convencionales de OTU. A pesar de que se han examinado las diferencias entre los métodos de identidad y de eliminación de ruido en diversas muestras, como comunidades simuladas, suelos, excrementos de roedores, leche materna y muestras intestinales, aún quedan en gran medida sin explorar muchos otros entornos ecológicos (GARCÍA-LÓPEZ *et al.*, 2021).

2.4. ECOLOGÍA MICROBIANA Y METAGENÓMICA

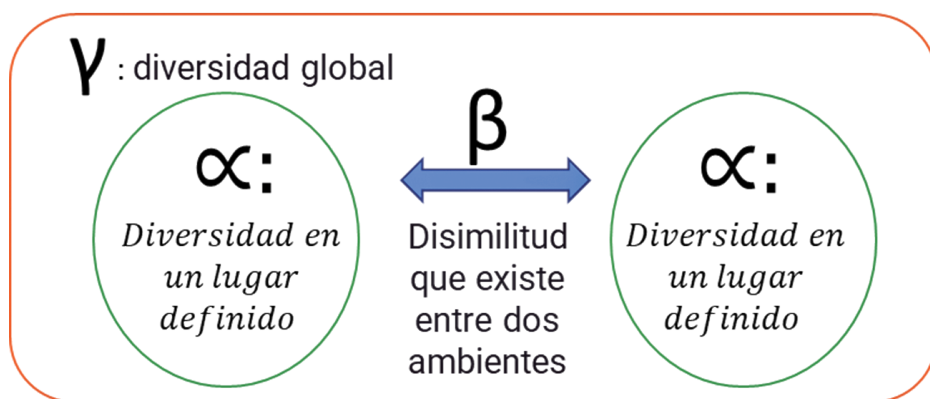
La ecología examina las relaciones entre los organismos y su ambiente, y cómo estas relaciones afectan a los individuos, poblaciones, comunidades y ecosistemas en su conjunto. Estudia los factores que determinan la distribución y abundancia de los seres vivos. La ecología microbiana es una rama de la biología que se enfoca en el estudio de los microorganismos en su entorno natural y en las interacciones que tienen con otros organismos y con el medio ambiente. Esta rama de la ciencia investiga cómo los microbios se relacionan entre sí, con otros seres vivos y con su entorno físico. Examina la diversidad, distribución, función y comportamiento de microorganismos como bacterias, arqueas, hongos, virus y otros microbios unicelulares. La ecología microbiana se centra en comprender cómo los microorganismos influyen en el entorno ambiental y en la salud humana (TIWARI, 2023), su objetivo es responder dos preguntas fundamentales sobre los microbios que ocupan un hábitat específico: *i)* ¿quiénes conforman la comunidad microbiana en ese nicho? y *ii)* ¿qué funciones desempeñan estos microorganismos en ese entorno? Se busca entender el propósito de cada uno de ellos (HILLMAN *et al.*, 2017; Tiwari, 2023). La ecología microbiana es crucial para entender cómo los microorganismos interactúan con su entorno, cómo afectan los ecosistemas

y cómo estas interacciones pueden tener implicaciones significativas en diversos aspectos de la vida en la Tierra.

Para abordar estas preguntas de la ecología microbiana, el análisis filogenético se ha convertido en una herramienta crucial para comprender las relaciones entre diferentes grupos microbianos, lo que permite explorar la diversidad gama (γ), alfa (α) y beta (β), conceptos fundamentales en ecología que se utilizan para medir y comprender la variabilidad y distribución de especies en un conjunto de hábitats o comunidades (**figura 23**) (VECHERSKII *et al.*, 2021).

En conjunto, las medidas estadísticas permiten una comprensión más completa de la biodiversidad en un contexto espacial. Juntas, estas medidas ofrecen una visión más holística de la biodiversidad y la estructura de las comunidades en el espacio y el tiempo (**figura 23**) (VECHERSKII *et al.*, 2021). En ecología microbiana y análisis metagenómico, se emplean varios índices y medidas de diversidad para evaluar la composición y estructura de las comunidades microbianas.

Figura 23. Representación gráfica de la diversidad alfa, beta y gamma



Nota. La diversidad alfa se limita a un ambiente definido. La diversidad beta, es la disimilitud que existe entre dos ambientes. La diversidad gama es la diversidad global.

2.4.1. LA DIVERSIDAD GAMA

Presenta la diversidad total a lo largo de un área geográfica o un gradiente ambiental más amplio. Abarca todas las especies presentes en una región o

a lo largo de un gradiente ambiental completo, incluyendo todos los hábitats, ecosistemas o sitios de estudio dentro de esa área.

2.4.2. LA DIVERSIDAD ALFA

El análisis de la diversidad α se centra en la riqueza y distribución de especies dentro de un área específica, como un suelo, un cuerpo de agua o un hábitat determinado. Describe la cantidad y disposición de diferentes especies en ese entorno. Los índices de diversidad alfa, como la riqueza de especies (número total presente) y la equitabilidad (distribución relativa de abundancias), junto con otros índices, detallan la composición y estructura de la comunidad microbiana en un sitio dado. En ecología microbiana y análisis metagenómico, se emplean varios índices y medidas de diversidad para evaluar la composición y estructura de las comunidades microbianas, la diversidad alfa utiliza:

- *El índice de Faith's Phylogenetic Diversity (PD)*: es una medida utilizada en ecología y biología para evaluar la riqueza evolutiva de una comunidad o muestra. A diferencia de otros índices de diversidad que se enfocan en la cantidad o distribución de especies, este índice considera la diversidad basada en la relación filogenética o evolutiva entre las especies presentes. Faith PD utiliza información sobre las relaciones filogenéticas entre las especies o taxones presentes en una muestra. Cuanto más divergentes sean las especies en una comunidad, mayor será la diversidad medida por Faith PD. Se calcula a partir del árbol filogenético que representa la relación evolutiva entre las especies.

Esta métrica proporciona una medida de la diversidad que considera la historia evolutiva y las relaciones entre especies, lo que lo hace especialmente valioso en estudios que consideran la evolución y la historia filogenética de las comunidades biológicas. En metagenómica, se utiliza para evaluar la diversidad filogenética de las comunidades microbianas en diferentes ambientes, lo que brinda una perspectiva más completa de la composición y la evolución de estas comunidades en su contexto ambiental.

- *El índice de rarefacción*: se emplea para nivelar las diferencias en el número de secuencias entre distintas muestras, permitiendo una comparación equitativa de la diversidad microbiana. Se calcula para analizar la riqueza de especies en un conjunto determinado de muestras individuales mediante la construcción de curvas de rarefacción. Básicamente, la rarefacción estima la diversidad esperada o el número de especies predichas en una muestra, suponiendo que se toman secuencias en una cantidad fija o uniforme. Esto se logra al muestrear repetidamente un

número específico de secuencias de una muestra original más grande. El proceso implica seleccionar aleatoriamente un número determinado de secuencias de cada muestra para crear muestras enrarecidas o igualadas en tamaño. El índice de rarefacción genera curvas que ilustran cómo cambia la riqueza o diversidad observada a medida que se incrementa el número de secuencias analizadas. Estas curvas ayudan a estimar la diversidad microbiana considerando el tamaño de la muestra, permitiendo comparaciones precisas entre diferentes muestras con distintos números de secuencias.

2.4.3. LA DIVERSIDAD BETA

Se refiere a la variación en la composición de especies entre diferentes sitios o muestras. Evalúa cómo cambian las comunidades microbianas de un lugar a otro, midiendo la diferencia o similitud en la composición de especies entre varios hábitats o condiciones ambientales.

Los análisis de diversidad beta pueden utilizar técnicas estadísticas como análisis de similitud, análisis de componentes principales (PCA), índices de disimilitud (por ejemplo, índices de Jaccard o Bray-Curtis o el índice de Morisita-Horn, entre otros) para comparar la composición y estructura de las comunidades microbianas entre diferentes localidades (HILLMAN *et al.*, 2017; TIWARI, 2023).

- *Índice de disimilitud.* Es una medida utilizada para cuantificar la diferencia o disimilitud entre dos conjuntos de datos, muestras o grupos. Este índice proporciona una forma de evaluar la distancia o diferencia entre observaciones, y su cálculo varía según el contexto y el tipo de datos. En metagenómica el índice de disimilitud mide la composición del microbioma junto con el análisis de coordenadas principales pueden calcularse de varias formas, como la distancia euclidiana, la distancia de Jaccard (cualitativa), la distancia de Bray-Curtis (cuantitativa), entre otras, dependiendo de la naturaleza de los datos y los objetivos del análisis (TIWARI, 2023).
- *Índice de Jaccard.* Es una medida utilizada en ecología microbiana y análisis metagenómico para evaluar la similitud entre dos muestras o comunidades microbianas, se utiliza para comparar la similitud entre la presencia/ausencia de especies en diferentes muestras. Este índice se calcula dividiendo el número de especies compartidas entre dos muestras por el número total de especies encontradas en ambas muestras, tanto las compartidas como las no compartidas. Proporciona una medida de la similitud basada en la presencia/ausencia de especies, lo que permite

comprender qué tan similar es la composición taxonómica entre dos muestras microbianas.

- *Coefficiente de Bray-Curtis*. Evalúa la similitud entre dos muestras o comunidades microbianas, se clasifica dentro de la diversidad beta y se utiliza para comparar la similitud entre las abundancias relativas de especies presentes en diferentes muestras. Este coeficiente se calcula considerando la suma de las diferencias absolutas en abundancia de cada especie entre dos muestras, dividida por la suma total de las abundancias en ambas muestras. Proporciona una medida de similitud que toma en cuenta la abundancia relativa de especies, permitiendo entender cómo se parecen las comunidades microbianas en términos de su composición y estructura.
- *Índice de Morisita-Horn*. Este índice evalúa la similitud o la sobreposición entre dos muestras o comunidades microbianas, se emplea para comparar la similitud en la composición de especies entre muestras. El cálculo de este índice implica la comparación de las frecuencias de especies en dos muestras, teniendo en cuenta tanto la abundancia relativa de las especies compartidas como la presencia/ausencia de especies únicas en cada muestra. Proporciona una medida de similitud que considera la proporción de especies compartidas y la proporción de especies exclusivas en ambas muestras, ofreciendo una perspectiva sobre la similitud en la estructura de las comunidades microbianas.
- *El índice Shannon*. También llamado índice de diversidad o entropía de Shannon, es una herramienta esencial en ecología y bioinformática, basada en la teoría de la información. Su principal función consiste en medir la diversidad o variabilidad en una muestra o comunidad (TIWARI, 2023). En el contexto de la diversidad biológica, se utiliza para estimar la variedad de especies, taxones o genotipos presentes en una comunidad específica (TIWARI, 2023). Este índice considera tanto la cantidad de especies como su distribución relativa, lo que se conoce como equidad (HILLMAN *et al.*, 2017). Valores más altos en el Índice de Shannon señalan una mayor diversidad en la comunidad estudiada, considerando tanto la cantidad de especies presentes como su distribución relativa. En análisis de microbiomas o metagenómica, este índice se emplea para evaluar la diversidad de especies microbianas en muestras ambientales. Esto facilita la comparación de la complejidad y heterogeneidad de las comunidades microbianas entre distintos entornos, lo que resulta crucial para comprender la ecología microbiana y su interacción con el ambiente.
- *El índice de Simpson*. Es una medida comúnmente empleada en ecología y biología para evaluar la diversidad presente en una muestra

o comunidad, similar al índice de Shannon. Se utiliza para cuantificar la variedad de especies o tipos en un ecosistema dado. A diferencia del índice de Shannon, el índice de Simpson pondera más a las especies más abundantes en la muestra. En lugar de considerar la información de manera equitativa, este índice se enfoca en la dominancia de especies, otorgando mayor peso a las especies predominantes en lugar de considerar la equidad entre todas las especies presentes (TIWARI, 2023). El resultado del índice de Simpson varía entre 0 y 1, donde 0 indica la máxima diversidad (equidad máxima entre especies) y 1 representa la mínima diversidad (mayor dominancia de una especie). En el ámbito de la diversidad microbiana en metagenómica, el índice de Simpson se utiliza para evaluar la diversidad de especies microbianas en muestras ambientales o biológicas. Proporciona información valiosa sobre la dominancia relativa de ciertas especies dentro de una comunidad microbiana, lo que ayuda a comprender la estructura y la dinámica de dichas comunidades en diferentes entornos. Todas estas herramientas son valiosas en metagenómica para estandarizar y comparar la diversidad microbiana entre muestras, considerando las variaciones en el número de secuencias obtenidas en cada una. Permiten una evaluación más equitativa y precisa de la diversidad en contextos donde el número de secuencias puede variar significativamente entre muestras. Por otro lado, las interacciones entre organismos superiores y microorganismos han despertado gran interés debido al desconocimiento de los factores que las originan (CHOPRA *et al.*, 2020). Estudiar relaciones como el mutualismo, el comensalismo y la simbiosis en órganos específicos revela procesos como el metabolismo del metano, azufre y la regulación de metabolitos, llevados a cabo naturalmente por el huésped, aunque este no tenga la capacidad innata para hacerlo (FENCHEL *et al.*, 1995; GARCÍA-AMADO *et al.*, 2023). Tanto los microorganismos asociados como el hospedero dependen de estas interacciones para mantener un equilibrio metabólico que asegure procesos biológicos básicos en ambos (CHOPRA *et al.*, 2020).

Ejemplos de estas relaciones se ven en la interacción entre la rizosfera y las raíces de las plantas, donde se forman microcosmos que albergan microorganismos capaces de fijar nitrógeno, asociándose específicamente debido a que la planta proporciona azúcares a cambio de exudados, generando una quimiotaxis para reclutar grupos taxonómicos específicos (KUYPERS *et al.*, 2018). La diversidad microbiana en entornos como el suelo, los microbiomas de animales e insectos, e incluso en ambientes extremos como la Antártida o entornos altamente salinos, está atrayendo la atención de los ecólogos microbianos. Buscan aprovechar el potencial de estos grupos taxonómicos y profundizar en las interacciones entre ellos

(GARCÍA-AMADO *et al.*, 2023; GARCÍA-LÓPEZ *et al.*, 2020; HOZZEIN, 2020). Sin embargo, identificar los roles precisos de los microorganismos en sus respectivos entornos sigue siendo un desafío considerable. Por lo tanto, no es suficiente confiar únicamente en la clasificación basada en secuencias amplificadas (metataxonomía) para comprender las interacciones presentes en la comunidad (PADILLA-GARCÍA *et al.*, 2021; VECHERSKII *et al.*, 2021).

3. ESTRATEGIAS DE SECUENCIACIÓN EN METAGENÓMICA

Durante décadas, las estrategias metagenómicas se han empleado para caracterizar diversos entornos, que abarcan desde ambientes marinos hasta suelos tóxicos, así como para analizar vectores de enfermedades y el microbioma humano (CHIU y MILLER, 2019). La secuenciación de ADN es una herramienta fundamental en estudios metagenómicos, permitiendo analizar el material genético presente en muestras complejas de microbiomas. Esta técnica revolucionaria en especial la metagenómica de próxima generación (mNGS), posibilita la identificación y catalogación de la diversidad genética de microorganismos presentes en un entorno sin necesidad de cultivarlos en laboratorio.

Los métodos de mNGS son herramientas que permiten la identificación de una amplia gama de patógenos, tales como virus, bacterias, hongos y parásitos. Estos pueden ser identificados a partir de cultivos o directamente desde muestras clínicas, basándose en secuencias de ADN y/o ARN que son identificables de manera única (CHIU y MILLER, 2019). Cualquier muestra de fluido o tejido corporal que contenga una cantidad suficiente de ácido nucleico puede someterse al análisis mediante mNGS, ya sea de manera dirigida, enfocándose en genes específicos o regiones genómicas, o de manera no dirigida, como en el enfoque metagenómico de *shotgun* (**figura 23**). Esta técnica posibilita la obtención de una gran cantidad de información genómica de diversas especies microbianas de forma simultánea, lo que facilita el estudio completo de comunidades microbianas y su diversidad funcional.

El impacto de la mNGS ha sido fundamental para comprender la composición, función e interacción de los microorganismos en diferentes hábitats, desde el suelo y el agua hasta el tracto gastrointestinal humano, puede revelar información sobre la estructura de las comunidades microbianas, su función metabólica, su diversidad genética y cómo interactúan en su entorno. Además, ha sido crucial en la identificación de infecciones en restos antiguos, el descubrimiento de nuevos patógenos virales y en el estudio del viroma humano tanto en estados de salud como de enfermedad (CHIU y MILLER, 2019), asimismo, de su aplicación en campos forenses, la secuenciación metagenómica también ha encontrado utilidad en diversas áreas de investigación.

Aunque estas herramientas han permitido estudiar la abundancia y diversidad de microorganismos presentes en una gran variedad de muestras, analizar el potencial funcional de la gran cantidad de genes en el microambiente sería imposible solo con los enfoques el metagenómico y el meta taxonómico (VECHERSKII *et al.*, 2021). Entender el papel que desempeñan en la regulación de procesos bioquímicos, ciclos biogeoquímicos y la interacción con el hospedero es fundamental para comprender su presencia en estos ambientes (CHIU y MILLER, 2019). Los resultados ecológicos, al igual que otras técnicas, identifican la riqueza y abundancia de grupos taxonómicos, ubicando a los microorganismos más abundantes, que pueden estar involucrados en la actividad bioquímica dominante en el nicho.

Se pueden examinar diferentes tipos de muestras de pacientes y colonias microbianas cultivadas mediante métodos de secuenciación mNGS, ya sea dirigida o no dirigida. La secuenciación metagenómica, el metacódigo de barras y la metataxonomía, son algunas de las estrategias en metagenómicas que han sido fortalecidas por los avances de las ómicas en especial la secuenciación y la NGS (CHIU y MILLER, 2019). No obstante, la actividad no siempre corresponde a la abundancia, por lo que la metatranscriptómica complementa la interpretación junto con los resultados metagenómicos. Estos métodos se emplean para identificar patógenos, analizar microbiomas o perfiles del transcriptoma del huésped (VECHERSKII *et al.*, 2021).

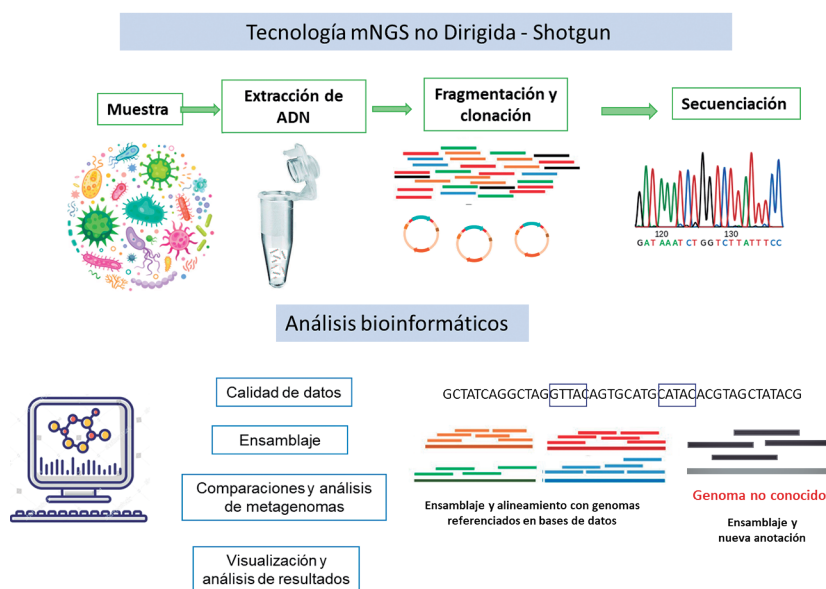
3.1. SECUENCIACIÓN METAGENÓMICA NO DIRIGIDA (SHOTGUN)

La secuenciación metagenómica no dirigida implica la secuenciación sin sesgos de todos los ácidos nucleicos de microorganismos, virus y otros elementos genéticos presentes en diferentes muestras, ambientales complejas, como suelos, agua, el tracto gastrointestinal, etc., se identifican bacterias, hongos, virus de ADN y ARN, así como perfiles del transcriptoma humano. Consiste en la recolección y secuenciación de todo el ADN presente en una muestra, los datos de la metagenómica de *shotgun* incluyen todas las secuencias de ADN de las muestras, se presenta como la mejor opción para estudiar las poblaciones microbianas, la cantidad de genes y sus relaciones.

La secuenciación mNGS implica una serie de etapas. Esto incluye la extracción de ácidos nucleicos, la amplificación de ADN y ARN, la preparación de bibliotecas, la posible amplificación por PCR, el proceso de secuenciación mNGS o la secuenciación de tercera generación y, finalmente, el análisis utilizando *software* y herramientas bioinformáticas para ensamblar los fragmentos, identificar genes, clasificar especies y realizar análisis funcionales.

La secuenciación metagenómica no dirigida utiliza la secuenciación en *shotgun*, en la que se logra una amplia cobertura de secuencias de ADN genómico utilizando secuenciación de próxima generación de alto rendimiento para evaluar toda la taxonómica estructura o potencial funcional de las comunidades microbianas (PADILLA-GARCÍA *et al.*, 2021). La secuenciación *shotgun*, consiste en fragmentar el ADN genómico en pedazos más pequeños y luego secuenciar aleatoriamente estos fragmentos. Esta técnica permite obtener información sobre el genoma completo de un organismo sin la necesidad de ensamblar previamente regiones específicas (figura 24).

Figura 24. Aplicación de la tecnología mNGS no dirigida. *Shotgun*



El término *shotgun* se refiere a la forma en que se obtienen secuencias genéticas de manera indiscriminada y aleatoria, similar al esparramamiento de perdigones de una escopeta. Esta técnica se enfoca en secuenciar fragmentos aleatorios del genoma de un organismo sin previa selección de regiones específicas, lo cual implica la fragmentación del ADN total en trozos de diferentes tamaños (3kb, 8kb y 40kb), luego se integran los fragmentos pequeños en cromosomas bacterianos artificiales (BAC) y los grandes en fósidos, los cuales se clonan en *Escherichia coli* (*E. coli*) para su amplificación (figura 23). Estos fragmentos se extraen, purifican y finalmente se someten a secuenciación. Si las secuencias de los BAC no pueden ser ensambladas, se buscan en los fósidos para una secuenciación completa (BONILLA-ROSSO *et al.*, 2008).

A pesar de producir fragmentos de 600-800 pb de longitud con una precisión del 99,97 %, este método resulta costoso y requiere mucho tiempo para construir y purificar las librerías, además, es posible que regiones completas no puedan ser clonadas debido a la presencia de genes letales. La cantidad de producto obtenido depende del número de clonas seleccionadas para la secuenciación, en términos de cobertura, se logra una cobertura total de aproximadamente 30 veces (30x) (BONILLA-ROSSO *et al.*, 2008).

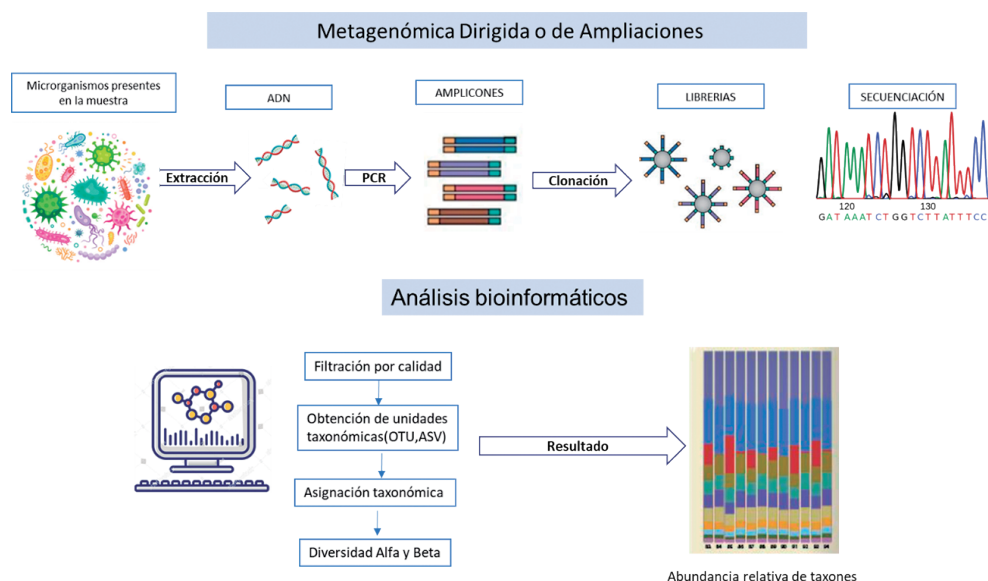
A diferencia del enfoque dirigido, la metagenómica no dirigida secuencia todo el ADN presente y permite la identificación directa de genes en un ambiente. Los resultados funcionales pueden predecir procesos metabólicos, enzimáticos y funcionales cruciales para ecosistemas, microambientes y microbiomas, ayudando a comprender la influencia de los microorganismos en estos entornos.

Aunque la mNGS no dirigida no emplea cebadores, la detección de patógenos en estas bibliotecas puede ser desafiante, el enriquecimiento de la sonda de captura es una opción para la mNGS enfocada desde bibliotecas metagenómicas. Estos métodos son compatibles con diferentes plataformas de secuenciación, desde instrumentos tradicionales como Illumina HiSeq hasta secuenciadores portátiles como Oxford Nanopore Technologies MinION.

3.2. SECUENCIACIÓN METAGENÓMICA DIRIGIDA (METATAXONÓMICA)

El método de secuenciación metagenómica dirigida, también conocido como metagenómica de amplicones, se concentra en la utilización de genes marcadores, como los genes ribosómicos ARNr, para analizar la composición de la comunidad microbiana en un entorno específico. Su objetivo principal es la identificación y clasificación de organismos microbianos presentes en muestras, así como de genes codificadores de proteínas con importancia médica o industrial. La secuenciación por amplicones está dirigida a analizar regiones específicas del genoma para estudios de diversidad genética o funcional.

Este enfoque se fundamenta en amplificaciones, como la PCR universal, que permite detectar taxones en una muestra dada, empleando cebadores diseñados a partir de regiones conservadas de los genes 16S ARNr en bacterias, 18S ARNr en eucariotas, el espaciador transcrito interno (ITS) en hongos, y el gen Citocromo-oxidasa I. Estos cebadores posibilitan la amplificación selectiva de fragmentos de ADN que luego se someten a secuenciación y análisis para identificar la diversidad taxonómica de la comunidad microbiana en el ambiente bajo estudio (**figura 25**).

Figura 25. *Tecnología de metagenómica dirigida o de ampliaciones*

Nota. Se describe el flujo de trabajo de la metagenómica dirigida o de amplicones, que incluye la extracción de ADN, amplificación de regiones específicas (amplicones), creación de librerías y secuenciación. Posteriormente, se realiza un análisis bioinformático que incluye filtración de calidad, obtención de OTUs/ASVs, asignación taxonómica y análisis de diversidad alfa y beta. Elaboración propia.

Esta técnica de metagenómica dirigida ofrece datos de meta taxonomía sobre la diversidad y la proporción relativa de varios grupos microbianos. Al secuenciar estas áreas en muestras ambientales, es posible obtener detalles sobre la composición taxonómica de la comunidad microbiana sin requerir el cultivo individual de cada microorganismo presente.

El análisis de los datos producidos por la metataxonomía se realiza mediante herramientas bioinformáticas que contrastan las secuencias obtenidas con bases de datos de referencia lo que posibilita la identificación y clasificación taxonómica de los microorganismos presentes en la muestra. Esta técnica es esencial para investigar la diversidad microbiana en distintos entornos y comprender la organización de las comunidades microbianas sin requerir cultivos de laboratorio.

El enfoque de metataxonomía se sitúa en el ámbito de la biología molecular, concentrándose en la identificación y clasificación de organismos hallados en muestras ambientales a través de la secuenciación de marcadores genéticos específicos. Este método posibilita el análisis y la categorización de la diversidad

taxonómica de las comunidades microbianas presentes en varios entornos, tales como suelos, aguas y sedimentos, entre otros. A pesar de su utilidad, la metataxonomía ofrece una resolución taxonómica limitada, ya que se enfoca en secuencias genéticas específicas en lugar de abarcar la totalidad del genoma.

La metataxonomía se refiere al nivel más alto de clasificación en la taxonomía, la ciencia que se encarga de clasificar organismos vivos. Este nivel agrupa a los organismos en categorías amplias y generales basadas en características comunes. La metataxonomía ayuda a organizar la diversidad biológica en grupos jerárquicos que incluyen categorías como:

- *Dominio*: es el nivel más alto de la clasificación biológica y actualmente consta de tres dominios: Bacteria, Archaea y Eukarya. Estos dominios agrupan a todos los seres vivos conocidos.
- *Reino*: bajo el dominio Eukarya, se encuentran varios reinos, como Animalia (animales), Plantae (plantas), Fungi (hongos), Protista (organismos unicelulares) y otros.
- *Filum (o phylum)*: En el reino Animalia, por ejemplo, se subdividen los diferentes grupos en filos, como Chordata (animales con notocorda) o Arthropoda (insectos, arañas, crustáceos).
- *Clase, orden, familia, género y especie*: categorías más específicas que se utilizan para clasificar a los organismos en función de sus similitudes y diferencias.

3.2.1. SECUENCIACIÓN DEL GEN 16S RIBOSOMAL RNA

La taxonomía del microbioma ha experimentado cambios significativos gracias al empleo de secuencias de ARN ribosómico 16S (ARNr16S), lo que ha permitido el reconocimiento del grupo *Archaea*, este marcador filogenético, basado en el ARNr 16S, se ha postulado como una herramienta fundamental en los estudios taxonómicos de los microorganismos y continúa siendo una herramienta eficaz en la investigación microbiana actual (JOHNSON *et al.*, 2019).

Comprender la composición microbiana y sus interacciones en un ecosistema es fundamental para desentrañar las implicaciones ecológicas, ambientales y funcionales del mismo y la metagenómica del ARNr 16S se ha convertido en un enfoque crucial para identificar la composición de estos ecosistemas microbianos específicos.

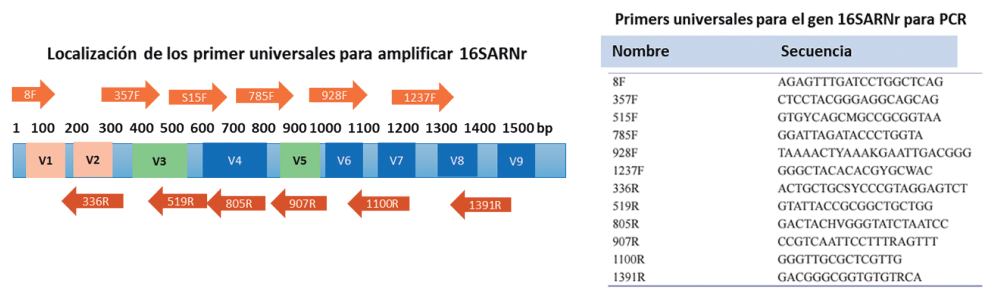
La selección de genes destinados a la amplificación representa un paso crítico en el campo de la metagenómica dirigida, en la mayoría de los estudios, la

secuenciación del gen 16S ARNr ha sido ampliamente empleada para el análisis de la diversidad en poblaciones polimicrobianas (NAM *et al.*, 2023). El uso de la secuencia del gen ARNr y su relevancia para la caracterización y estudio de la evolución bacteriana se remonta a la década de 1970, cuando Carl Woese introdujo el uso de secuencias moleculares para determinar relaciones evolutivas. El gen ARNr se encuentra en todos los sistemas autorreplicantes, puede aislarse con facilidad y su secuencia cambia lentamente con el tiempo, lo que facilita la detección de relaciones entre distintas especies bacterianas (AHMAD y KHAN 2019).

El ARNr 16S, presente universalmente en procariotas, consta de varias subregiones, V1-V9, que permiten identificar diversos tipos de procariotas. Estas regiones tienen zonas altamente variables y también áreas conservadas en todos los procariotas, lo que permite diseñar cebadores universales (como F01, 8F, 357F, 515F, 1237F, 519R, 1100R, 1391R) para amplificar el gen 16S rRNA (KAMBLE *et al.*, 2020; LAN *et al.*, 2016). Estas características hacen del gen 16S rRNA un marcador valioso para la clasificación y taxonomía, lo que ha dado lugar a diversas herramientas de identificación 16S y a bases de datos como el Proyecto de Base de Datos Ribosomal y Greengenes.

Para explorar la diversidad, es viable utilizar regiones variables tanto únicas como combinadas. La elección de una región específica puede variar, y se han realizado investigaciones comparativas que utilizan diversas secciones del ARNr 16S. Generalmente, se emplean las regiones V3-V5 para este propósito, aunque ocasionalmente se ha informado sobre el uso de la región V1-V2 y SILVA (figura 26) (QUAST *et al.*, 2013).

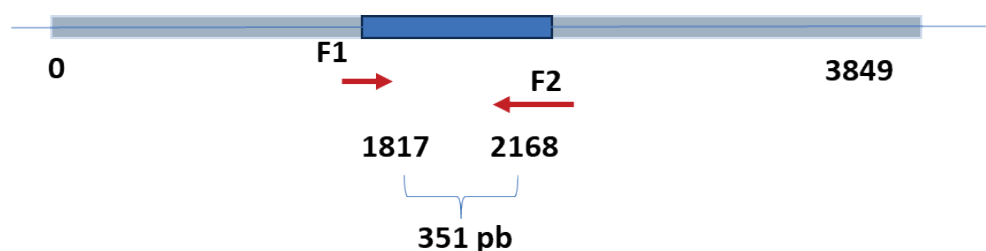
Figura 26. Primer y localización en 16S ARNr



Nota. La imagen muestra la localización de primers universales utilizados para amplificar diferentes regiones del gen 16S ARNr en estudios de microbiota, junto con una tabla de secuencias específicas para cada primer. Cada región (V1-V9) puede ser amplificada usando primers específicos para mejorar la identificación taxonómica en análisis metagenómicos.

Recientemente, los investigadores han recurrido a otro gen universal, el gen *rpoβ* de la subunidad β de la ARN polimerasa, el cual se presenta en una única copia por célula. Esto proporciona una estimación más precisa de las cifras poblacionales (ADÉKAMBI *et al.*, 2009). La secuenciación de *rpoβ* posibilita una estimación eficiente del contenido bacteriano de G+C %, del valor de hibridación ADN-ADN y de la identidad promedio de nucleótidos. Esto se refiere al porcentaje de la secuencia genómica total compartida entre dos cepas una vez que las relaciones taxonómicas han sido establecidas de manera sólida. Además, se han creado nuevas herramientas de identificación enfocadas en un fragmento específico del gen *rpoB* (figura 27). Por lo tanto, incluir la secuencia del gen *rpoB* sería beneficioso para la descripción de nuevas especies bacterianas (ADÉKAMBI *et al.*, 2009).

Figura 27. Gen *rpoβ* subunidad β de la ARN polimerasa de *M. tuberculosis*



Nota. Se aprecian la posición de los primers F1 y F2 y el tamaño del amplicon (351pb).

La elección del método de secuenciación depende de los requisitos específicos y del objetivo de la investigación, dado que la metagenómica implica normalmente la detección de una población heterogénea, la simple secuenciación de Sanger no es suficiente para abordarla completamente y en su lugar, se utilizan principalmente técnicas de secuenciación de próxima generación, tales como la pirosecuenciación, Illumina, nanoporos y PacBio (AHMAD y KHAN, 2019).

Sin embargo, no todas las investigaciones moleculares centradas en microorganismos se han limitado al ARNr 16S. Un ejemplo de esto es el trabajo de Handelsman y sus colegas, quienes emplearon fragmentos de ADN genómico de muestras ambientales para realizar la clonación en *E. coli*, lo que les permitió descubrir nuevos mecanismos y propiedades relacionadas con los antibióticos (HANDELSMAN *et al.*, 1998; AHMAD y KHAN, 2019). Este trabajo marcó la introducción del término *metagenoma*, el cual hace referencia a la recopilación de genomas presentes en las muestras con el fin de llevar a cabo análisis funcionales y de clonación.

3.3. METACÓDIGO DE BARRAS

La técnica de metacódigo de barras es una forma específica de secuenciación por amplicones que se enfoca en identificar secuencias cortas (códigos de barras genéticos o *barcodes*) que son únicos para ciertas especies o grupos taxonómicos. Estos códigos de barras se utilizan para identificar y diferenciar especies en una mezcla de ADN o ARN de múltiples especies, permitiendo la identificación y cuantificación de la diversidad biológica. La metacodificación se basa en la amplificación y secuenciación de fragmentos cortos de ADN (llamados *barcodes* o códigos de barras genéticos) que son específicos de ciertas regiones genómicas, como el genoma mitocondrial o ciertas regiones del ADN ribosomal.

El perfilado taxonómico también se emplea en el metacódigo de barras, el cual posee la capacidad de reconocer todos los microorganismos, incluyendo aquellos taxones poco comunes y abundantes (NAVIRE *et al.*, 2022). El metacódigo de barras, una herramienta poderosa en ecología, biología ambiental, estudios de biodiversidad y aplicaciones médicas, como la investigación del microbioma humano, emplea "códigos de barras" generados a partir de amplificaciones para ampliar la exploración entre distintos dominios, lo que facilita la identificación de dos o más taxones (RIEDER *et al.*, 2023).

El enfoque del metacódigo de barras difiere de la secuenciación de genomas completos al centrarse en regiones específicas que presentan alta variabilidad entre diferentes especies, pero mantienen cierta conservación dentro de cada una de ellas. Estos fragmentos de ADN se amplifican a partir de la muestra y se someten a secuenciación masiva mediante técnicas de alto rendimiento, como la NGS (PADILLA-GARCÍA *et al.*, 2021).

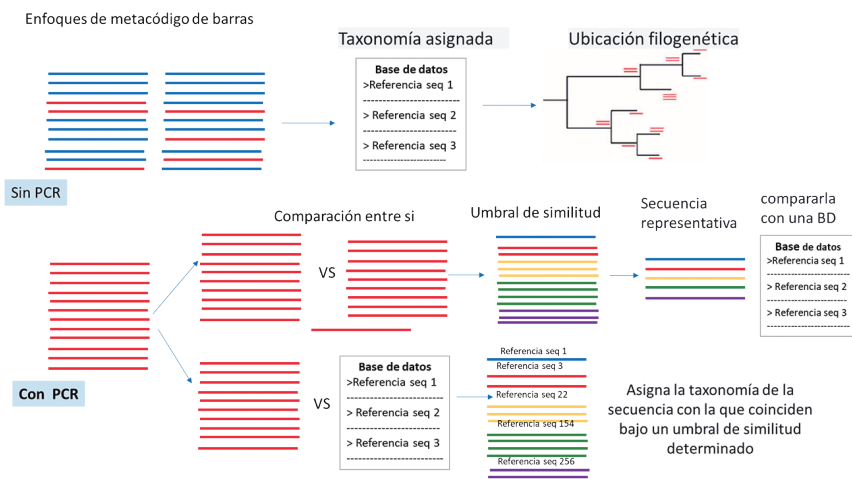
Una vez que se finalizan las secuencias, se contrastan con bancos de datos genéticos con el fin de reconocerlas y asignarlas a clasificaciones taxonómicas conocidas, ello posibilita el análisis de la variedad de especies presentes en la muestra original y permite investigar la estructura de las comunidades microbianas u otros organismos en ambientes particulares, como suelos, cuerpos de agua o el sistema gastrointestinal, por ejemplo (PADILLA-GARCÍA *et al.*, 2021).

La evolución de los códigos de barras de ADN comenzó con la aparición de la secuenciación de alto rendimiento, ofrecía la ventaja de evitar la tediosa tarea de clasificar y aislar a miles de individuos en muestras complejas y diversas de organismos (BRANDON-MONG *et al.*, 2015). A pesar de estas ventajas, las limitaciones inherentes de esta técnica, como las lecturas cortas y las altas tasas de error, han restringido su aplicación en los códigos de barras de ADN para muestras individuales convencionales (HEBERT *et al.*, 2017). Específicamente, se ha visto afectada la construcción de bibliotecas de referencia de códigos de barras de ADN (LIU *et al.*, 2017).

En los métodos de metacódigo de barras, los conjuntos de datos sin PCR generalmente son extensos, y solo una pequeña fracción de las secuencias de lectura se conecta con una base de datos de referencia. Dentro de esta base, cada entrada tiene una taxonomía asociada, lo que facilita el uso de enfoques de ubicación filogenética para la asignación de taxonomías (**figura 27**). Por otro lado, los conjuntos de datos basados en PCR incluyen secuencias de amplicones que se pueden analizar con o sin el respaldo de una base de datos de referencia. En ausencia de una base de datos, las secuencias se comparan entre sí y se agrupan según un nivel de similitud; se selecciona una secuencia representativa de cada grupo para su posterior comparación con una base de datos de referencia. Si se utiliza una base de datos, las secuencias se contrastan con ella y se les asigna una taxonomía similar a la secuencia con la que coinciden, siempre y cuando alcancen un nivel de similitud establecido (**figura 28**).

La persistencia en el uso de la secuenciación Sanger ha obstaculizado la reducción de costos significativos en los códigos de barras de ADN y ha llevado a esfuerzos desiguales en la codificación de ADN a nivel global (LIU *et al.*, 2017). Sin embargo, enfoques más recientes han aprovechado plataformas de secuenciación de alto rendimiento de última generación, como el Pacific Biosciences SEQUEL y el Illumina HiSeq 4000, para generar códigos de barras de ADN con longitudes y calidad comparables a los producidos por la secuenciación Sanger, pero a costos notablemente más bajos, entre 10 y 40 veces menos (HEBERT *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2017).

Figura 28. Técnicas de secuenciación de ADN por códigos de barras: un enfoque metodológico avanzado



Nota. Se muestra el proceso de asignación taxonómica y ubicación filogenética de secuencias, comparando flujos con y sin amplificación por PCR, donde las secuencias se agrupan y comparan con una base de datos para determinar su taxonomía y posición filogenética.

En paralelo, se han desarrollado proyectos bioinformáticos para complementar estos nuevos enfoques. Un ejemplo es el servidor web mBRAVE, creado por el equipo detrás de BOLD (Barcode of Life Data Systems) y con acceso directo a las bibliotecas de referencia BOLD (HEBERT *et al.*, 2017), lo que representa un avance importante y probablemente marque un cambio histórico en los protocolos estándar de códigos de barras de ADN. Es una técnica utilizada en metagenómica para identificar y catalogar la diversidad de organismos presentes en una muestra ambiental (RIEDER *et al.*, 2023).

3.4. SECUENCIACIÓN DE METATRSCRIPTOMA

La secuenciación del metatranscriptoma es una técnica valiosa para explorar la expresión génica de los organismos en un entorno específico y en un momento dado, mientras que la secuenciación genómica y metagenómica se enfocan en el ADN, el metatranscriptoma se centra en el ARN mensajero (ARNm) presente en comunidades microbianas (MUKHERJEE y REDDY, 2020). Este enfoque revela qué genes están activos y funcionales en un entorno particular, brindando perspectivas sobre las actividades biológicas y metabólicas de los microorganismos presentes (OJALA *et al.*, 2023). Es especialmente útil para comprender cómo los microorganismos reaccionan ante cambios ambientales, como variaciones de temperatura, nutrientes o estrés.

El enfoque de la metatranscriptómica conecta estructuras y funciones comunitarias en un solo experimento y va más allá del potencial genómico de la comunidad evaluado con métodos basados en el ADN (MUKHERJEE y REDDY, 2020). El proceso de secuenciación del metatranscriptoma implica etapas específicas:

- *Extracción de ARN*: se recoge la muestra y se extrae todo el ARN presente, representando los mensajes transcritos desde el ADN y reflejando los genes activos en ese momento.
- *Conversión a ADN complementario (cADN)*: el ARN extraído se convierte en ADN complementario (cADN) usando enzimas como la transcriptasa inversa. Esta conversión permite que el ARN sea secuenciado, ya que las técnicas de secuenciación están optimizadas para el ADN.
- *Preparación de la biblioteca*: se generan fragmentos de cADN para crear una biblioteca de secuencias que representen los transcritos activos en la muestra.
- *Secuenciación*: los fragmentos de cADN se secuencian mediante técnicas de NGS o de tercera generación.

- *Análisis bioinformático*: se emplean herramientas bioinformáticas para identificar y caracterizar los genes activos, sus funciones y las rutas metabólicas en las comunidades microbianas estudiadas.

El metatranscriptoma brinda una visión dinámica de la actividad biológica en un entorno específico, crucial para comprender cómo los microorganismos se adaptan a condiciones cambiantes y para explorar sus funciones en ecosistemas naturales, salud humana, agricultura y otros campos científicos (OJALA *et al.*, 2023).

En el ámbito clínico, la caracterización metatranscriptómica del ARN podría ser aplicada para identificar diferentes estados de infección, como la bacteriemia estafilocócica, la enfermedad de Lyme, la candidiasis, la tuberculosis (diferenciando entre infección latente y activa) y la influenza. Además, la secuenciación de ARN (RNA-seq) tiene potencial para distinguir entre causas infecciosas y no infecciosas de enfermedades agudas (MUKHERJEE y REDDY, 2020).

3.5. ENFOQUE DE ANÁLISIS METAGENÓMICOS

A diferencia de la secuenciación genómica tradicional que se enfoca en un organismo individual, la metagenómica estudia el ADN de múltiples organismos presentes en una muestra sin necesidad de aislar y cultivar cada uno de ellos por separado, el enfoque es útil para explorar la diversidad microbiana de un entorno específico, lo que incluye bacterias, virus, hongos y otros microorganismos.

La secuenciación de ADN, que prescinde del cultivo de microorganismos, posibilita la identificación y catalogación del material genético presente en una muestra, lo que ha revolucionado la comprensión de las comunidades microbianas. Es así como el ensamblaje de secuencias reconstruye genomas o identifica genes específicos, mientras que el análisis bioinformático procesa los datos para identificar especies, funciones genéticas y rutas metabólicas.

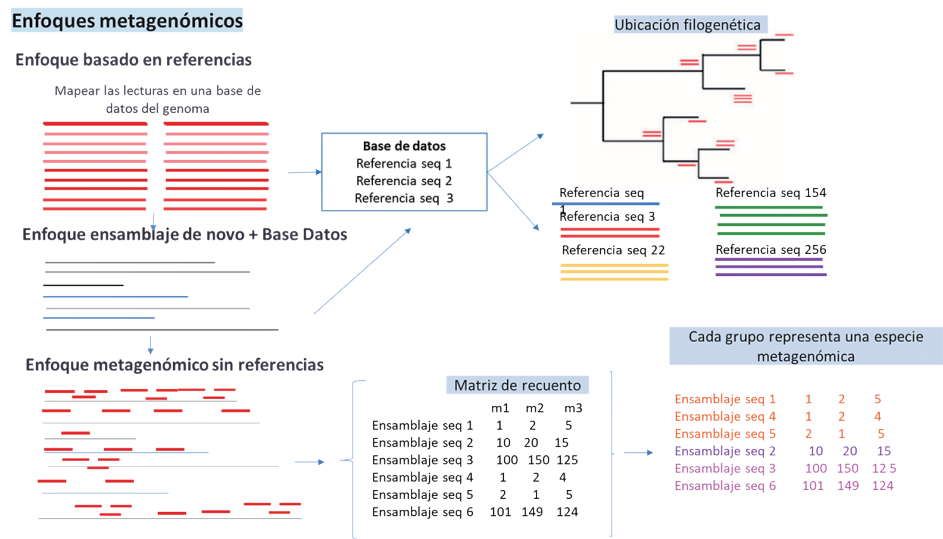
Es así como la NGS ha impulsado el uso de enfoques más avanzados para identificar microorganismos en las diferentes muestras. Las técnicas han proporcionado información detallada sobre la estructura de la comunidad al extraer ADN para buscar organismos procariotas, fúngicos y eucariotas en una sola muestra utilizando marcadores específicos (PADILLA-GARCÍA *et al.*, 2021).

Los enfoques metagenómicos basados en referencias inician mapeando las lecturas en una base de datos genómica. Posteriormente, se aplican diversos algoritmos para asignar taxonomía, ya sea mediante la ubicación filogenética o la identificación de lecturas de mapeo únicas en el genoma de una especie en dicha base de datos. Por otro lado, otro enfoque consiste en el ensamblaje de *novo* de las lecturas; luego, se busca la coincidencia de los andamios o los marcos de

lectura abiertos predichos a partir de ellos en la base de datos, lo que reduce el tiempo de búsqueda (**figura 28**).

En contraste, los enfoques metagenómicos sin referencias inician el proceso ensamblando de las lecturas de *ново*. Luego, el número de lecturas asignadas a las secuencias ensambladas (ya sea a los andamios o a los marcos de lectura abiertos predichos a partir de estos) se utiliza para crear una matriz de recuento (**figura 29**). Esta matriz se puede reunir aún más, formando grupos que representan especies metagenómicas distintas (ZEPEDA MENDOZA *et al.*, 2015).

Figura 29. *Explorando la metagenómica: un enfoque integral*



Nota. Se muestran tres enfoques metagenómicos: basado en referencias, ensamblaje de novo con base de datos, y sin referencias. En el enfoque basado en referencias, las lecturas se comparan con una base de datos genómica. En el ensamblaje de novo, las secuencias se ensamblan y luego se comparan. En el enfoque sin referencias, se generan grupos de secuencias que representan especies metagenómicas y se utiliza una matriz de recuento para el análisis filogenético y cuantitativo. Tomado y modificado de Zepeda Mendoza et al. (2015).

La metagenómica también permite generar genomas metagenómicos (MAG), que se forman al ensamblar secuencias genómicas recolectadas de entornos naturales o microbiomas, prescindiendo de la necesidad de cultivar los microorganismos presentes reconstruyendo los genomas de múltiples microorganismos. Esto amplía la exploración del potencial funcional de los taxones encontrados,

ofreciendo una comprensión más profunda y completa. La metagenómica ofrece una resolución taxonómica más amplia al permitir la identificación de genes y funciones presentes en la muestra, brindando información detallada sobre la diversidad y las capacidades metabólicas de los microorganismos.

Los MAG reflejan la variabilidad genética de las comunidades microbianas en un contexto específico, brindando perspectivas sobre la estructura y función de los ecosistemas microbianos naturales. Su análisis y la obtención posibilitan la exploración de la diversidad microbiana, la detección de nuevas especies y la comprensión de su participación en diversos procesos biológicos y ambientales.

La secuenciación metagenómica ha sido fundamental para entender la diversidad microbiana en diversos entornos, lo que ha llevado a descubrimientos en biotecnología, medicina, ecología y otras áreas. Por ejemplo, ha ayudado a identificar nuevos genes y enzimas con aplicaciones industriales, a comprender mejor las interacciones microbianas en el cuerpo humano y a estudiar los ecosistemas naturales (VECHERSKII *et al.*, 2021). La mNGS utiliza técnicas de secuenciación de alto rendimiento para secuenciar y analizar el ADN total de una muestra, lo que permite estudiar la diversidad genética y funcional de comunidades microbianas sin enfocarse en genes específicos. Esto incluye la identificación de genes, vías metabólicas y la comprensión de las interacciones entre diferentes especies.

3.6. BIOINFORMÁTICA MICROBIANA: ANÁLISIS DE DATOS METAGENÓMICOS

El análisis de datos metagenómicos representa una ventana hacia la compleja red de vida microscópica presente en diversos entornos biológicos. Esta disciplina se adentra en la diversidad genética de comunidades microbianas, desentrañando tanto la estructura taxonómica como la funcionalidad de estos ecosistemas imperceptibles a simple vista (BLANCO-MÍGUEZ *et al.*, 2023).

Desde la secuenciación masiva del ADN ambiental hasta la interpretación de los extensos conjuntos de datos generados, el análisis de datos metagenómicos desafía las investigaciones al ofrecer una visión profunda de la interacción entre los microorganismos y su entorno.

A pesar de que la metagenómica representa una disciplina relativamente nueva para muchos microbiólogos, la comunidad científica ha desarrollado una amplia gama de programas informáticos de código abierto, tales como QIIME, MetaPhlAn, EnteroBase, MEGAN, RAST, GS-RAST, entre otros. Estos programas pueden ser ejecutados desde la terminal y se encuentran disponibles en plataformas como GitHub o SourceForge. En este contexto, los flujos de trabajo o *pipelines* simplifican enormemente el análisis de datos complejos

(BLANCO-MÍGUEZ *et al.*, 2023). Permiten a los investigadores abordar preguntas biológicas específicas y obtener información significativa sobre las comunidades microbianas presentes en diferentes entornos, ofreciendo así una herramienta fundamental para la investigación científica en este campo.

3.6.1. *FLUJO DE TRABAJO O PIPELINES EN METAGENÓMICA.*

Los *pipelines* en metagenómica son flujos de trabajo secuenciales y automatizados que integran una serie de herramientas y pasos analíticos diseñados para procesar y analizar datos metagenómicos de manera sistemática y eficiente, están compuestos por una sucesión de pasos, desde la calidad de los datos hasta la interpretación de los resultados finales. Estos flujos de trabajo son fundamentales en la metagenómica, ya que permiten analizar y comprender la diversidad genética de comunidades microbianas presentes en un entorno específico, como el suelo, el agua, el cuerpo humano, entre otros.

Cada etapa de un *pipeline* en metagenómica puede incluir procesos como la limpieza y preprocesamiento de datos brutos (*raw*), ensamblaje de secuencias, asignación taxonómica, predicción de genes, análisis de diversidad y funcionalidad, entre otros. Estos pasos se organizan de manera coherente para realizar un análisis integral de los datos metagenómicos y obtener información relevante sobre la composición taxonómica, funcionalidad y diversidad de las comunidades microbianas en una muestra, las principales etapas son:

- El primer paso corresponde al preprocesamiento de datos. Incluye la eliminación de secuencias de baja calidad, adaptadores, y la filtración para reducir el ruido de fondo y mejorar la calidad de los datos.
- El segundo paso es el ensamblaje. Las secuencias limpias se ensamblan para reconstruir los genomas o fragmentos genómicos de los microorganismos presentes en la muestra. Esto puede ser desafiante debido a la presencia de múltiples genomas en la misma muestra.
- El tercer paso del análisis de las comunidades microbianas es la anotación. Los fragmentos ensamblados se anotan para identificar genes, funciones y posiblemente rutas metabólicas. Esto implica asignar funciones conocidas a secuencias desconocidas mediante comparación con bases de datos.
- El cuarto paso es el análisis taxonómico y funcional. Se identifican y cuantifican los microorganismos presentes (taxonomía) y sus funciones genéticas (funcionalidad), lo que permite comprender la diversidad y el potencial metabólico de la comunidad.

- Finaliza con la visualización y análisis de resultados, en donde se generan representaciones visuales y se realizan análisis estadísticos para interpretar y presentar los resultados de manera comprensible.

3.6.2. PROGRAMAS INFORMÁTICOS DE CÓDIGO ABIERTO

Algunos flujos de trabajo reconocidos en metagenómica incluyen a QIIME, MetaPhlAn, MEGAN, por mencionar algunos. Existen muchas otras herramientas y *pipelines* disponibles cada uno tiene sus propias características, algoritmos y enfoques de análisis, pero todos buscan proporcionar un flujo de trabajo completo y eficiente para el análisis de datos metagenómicos. La elección de un *pipeline* dependerá de los objetivos específicos del estudio y las preferencias del investigador en términos de análisis, visualización y funcionalidades requeridas. A continuación, se presentan algunas de los programas utilizados.

QIIME 2. *Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME 2)*, destaca como una herramienta líder en el análisis de datos provenientes de comunidades microbianas obtenidos mediante la secuenciación de ADN. Este conjunto de herramientas proporciona un flujo de trabajo integral que abarca desde el procesamiento inicial hasta la visualización de datos. Comenzando con la limpieza y calidad de las secuencias crudas, QIIME elimina ruido, recorta adaptadores y filtra secuencias no deseadas. Luego, identifica y compara la diversidad microbiana, agrupando secuencias similares en unidades operativas de taxonomía (OTU) y realiza análisis de diversidad alfa y beta (BOLYEN *et al.*, 2019; ESTAKI *et al.*, 2020).

Posteriormente, asigna identidades taxonómicas comparando con bases de datos de referencia para comprender la composición taxonómica. Además, investiga y predice funciones biológicas presentes en la comunidad microbiana a través de la información genómica, revelando posibles roles metabólicos y funcionales. Finalmente, QIIME 2 ofrece herramientas de visualización que utilizan gráficos y representaciones visuales para mostrar la diversidad taxonómica, estructura de la comunidad y otros parámetros relevantes de manera comprensible (ESTAKI *et al.*, 2020).

El *pipeline* de QIIME 2 es altamente flexible y configurable, permitiendo a los usuarios adaptar los pasos de análisis según sus necesidades específicas de investigación. Además, su interfaz de línea de comandos ofrece una amplia gama de funciones para automatizar y estandarizar el análisis de datos metagenómicos, lo que lo convierte en una herramienta fundamental para la investigación en ecología microbiana y biología ambiental.

MetaPhlAn. Es una herramienta o *software* específico utilizado en análisis metagenómicos, es un programa bioinformático diseñado para realizar una

tarea particular dentro del análisis de datos metagenómicos. Es un componente de un *pipeline* más amplio en el análisis de comunidades microbianas, ya que MetaPhlAn se utiliza para realizar la caracterización taxonómica de muestras metagenómicas. Esta herramienta específicamente asigna secuencias a taxones microbianos, proporcionando información sobre la composición y abundancia relativa de especies microbianas presentes en una muestra metagenómica (BLANCO-MÍGUEZ *et al.*, 2023).

MetaPhlAn 4 amplía y mejora las capacidades existentes para realizar perfiles taxonómicos de metagenomas mediante la explotación de un marco en el que se integran ensamblajes metagenómicos extensos con genomas de referencia bacterianos y arqueales existentes. Luego, estos se preprocesan conjuntamente para permitir un mapeo metagenoma eficiente contra millones de genes marcadores únicos, y en última instancia cuantifican organismos aislados y ensamblados metagenómicamente en nuevas comunidades (BLANCO-MÍGUEZ *et al.*, 2023).

TORMES. *Tools for Organization of Microbial ESequencing (TORMES)* representa una serie de herramientas para la organización de secuenciación Microbiana o un *pipeline* de análisis de genomas bacterianos desarrollado como proyecto de código abierto. Este *software* abarca una amplia gama de funciones cruciales en el análisis genómico bacteriano, es un sistema fácil de usar para el análisis WGS de bacterias de cualquier origen generado por secuenciación de alto rendimiento (HTS) en plataformas Illumina (QUIJADA *et al.*, 2019). Una vez finalizado el análisis con esta herramienta genera un informe interactivo similar a una web que los investigadores pueden abrir en cualquier navegador web y compartir y revisar de forma sencilla. Esta herramienta se puede ejecutar mediante comandos muy simples y representa una forma rápida y sencilla de realizar análisis WGS.

También facilita el ensamblaje de secuencias fragmentadas de ADN para reconstruir genomas completos, identifica genes y secuencias funcionales mediante la anotación genómica, y permite la identificación y clasificación de cepas bacterianas con el Multilocus Sequence Typing (MLST) y realizar un análisis pangenómico comparativo de los aislados. Los resultados generados son recopilados en un archivo interactivo en formato web, que puede visualizarse en cualquier navegador, y ser compartido y analizado entre los distintos usuarios de una manera sencilla (BLANCO-MÍGUEZ *et al.*, 2023).

Además, destaca al detectar genes asociados con la virulencia y resistencia a antibióticos, y al realizar análisis comparativos de diversidad genómica entre distintas cepas. Este pipeline se configura como una herramienta integral, automatizando y estandarizando el análisis de datos de secuenciación, al tiempo que genera archivos interactivos en formato web para facilitar la visualización y compartición de resultados entre usuarios.

3.6.3. LA MULTIPLEXACIÓN

En el contexto de la secuenciación genómica, la multiplexación se refiere a la técnica que permite secuenciar múltiples muestras de ADN en un solo *run* o ejecución de secuenciación. Esto se logra mediante el uso de etiquetas únicas, también conocidas como índices de *barcodes* que se agregan a cada muestra de ADN antes de la secuenciación (BLANCO-MÍGUEZ *et al.*, 2023).

Estos *barcodes* permiten identificar de manera única cada muestra durante el proceso de secuenciación masiva, lo que posibilita que varias muestras se secuencien simultáneamente en un solo flujo de datos. Una vez secuenciadas, las muestras pueden separarse y analizarse individualmente en función de sus etiquetas únicas, lo que facilita la identificación y clasificación de las secuencias genómicas correspondientes a cada muestra original.

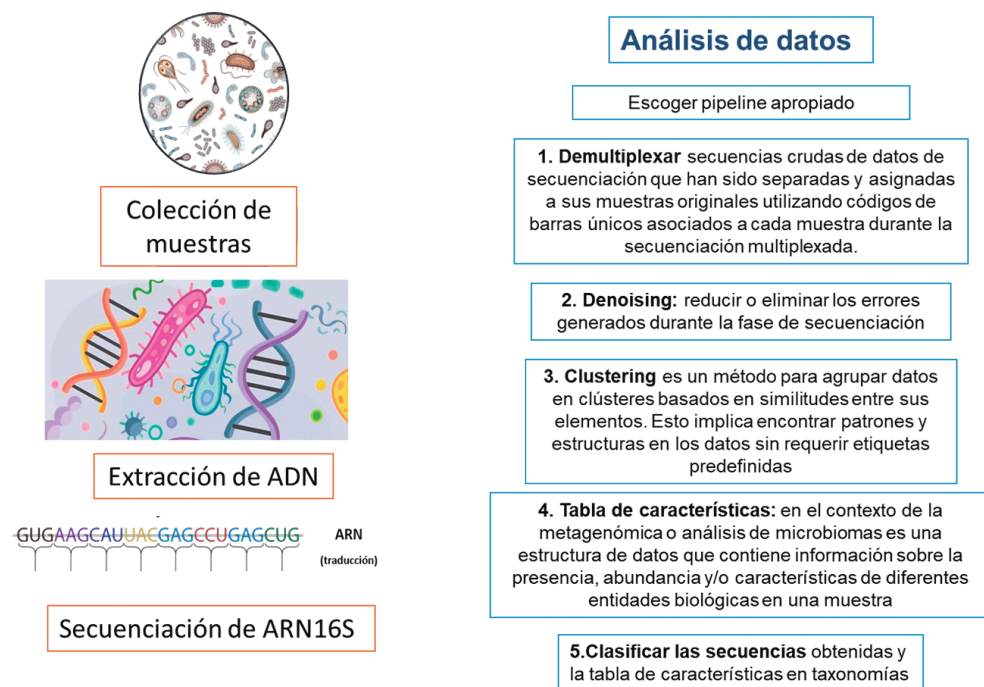
En el contexto de la secuenciación genómica, la demultiplexación implica separar las secuencias de ADN secuenciadas combinadas previamente durante el proceso de multiplexación. Esto se hace utilizando las etiquetas únicas o códigos de barras que se incorporaron a cada muestra antes de la secuenciación (QUIJADA *et al.*, 2019). Las secuencias de ADN generadas en un solo *run* de secuenciación masiva contienen información de múltiples muestras, y la demultiplexación permite asignar cada secuencia a su muestra original basándose en las etiquetas que las identifican. Esto es esencial para analizar y procesar adecuadamente las secuencias genómicas, ya que cada muestra debe ser tratada por separado para obtener resultados precisos en los estudios genómicos (BLANCO-MÍGUEZ *et al.*, 2023).

3.6.4. IDENTIFICACIÓN DE LA DIVERSIDAD BACTERIANA

Para los datos metagenómicos típicos en la identificación de la diversidad bacteriana, los canales comunes como **MG-RAST** y **QIIME2** implican cinco procesos principales que las secuencias deben atravesar antes de la visualización real de los datos (**figura 30**).

Inicialmente, las secuencias crudas se demultiplexan, cada secuenciador de próxima generación puede secuenciar cientos de muestras en una sola ejecución mediante multiplexación, donde se agrega un código de barras único a uno o ambos extremos de cada secuencia. Una vez que se secuencian las muestras, estos códigos de barras únicos ayudan a demultiplexar, es decir, a identificar secuencias de muestras individuales. Las secuencias obtenidas en los datos sin procesar pueden ser de un solo extremo (las secuencias se secuencian solo en una dirección) o de pares (cada secuencia se secuenciaría bidireccionalmente). Después de la demultiplexación, los pares de secuencias de extremos emparejados deben identificarse y unirse entre sí para obtener información precisa.

Figura 30. *Síntesis de ARN 16S en muestras ecológicas desde la extracción al análisis de datos*



Nota. Se muestra el flujo de trabajo en estudios de metagenómica, desde la recolección de muestras, extracción de ADN y secuenciación de ARN 16S, hasta el análisis de datos. Este incluye pasos como demultiplexado, eliminación de errores (denoising), agrupamiento (clustering), creación de una tabla de características y clasificación taxonómica de las secuencias. Tomada y modificada de KAMBLE *et al.* (2020).

El siguiente paso en las tuberías es la eliminación de ruidos. Este paso tiene como objetivo filtrar lecturas ruidosas, eliminar la replicación (reducir la repetición), eliminar secuencias únicas o aquellas que aparecen una sola vez en el conjunto de datos, eliminar secuencias quiméricas y corregir errores en secuencias marginales. Los resultados obtenidos después de la eliminación de ruido son variantes de variante de secuencia (SV), ASV, y OTU en un 100 %. Este paso es un requisito previo para el siguiente paso, es decir, la agrupación.

Se continua con el *clustering* que es un proceso en el que las secuencias genéticas similares se agrupan juntas en grupos o *clusters* basados en su similitud. Estos grupos o *clusters* pueden representar secuencias genéticas que comparten características comunes, lo que facilita el análisis de conjuntos de datos masivos y la identificación de patrones o relaciones entre ellas.

El *clustering* de OTU (*Operational Taxonomic Units*) se refiere a la agrupación de secuencias de genes o marcadores genéticos similares para identificar unidades taxonómicas operativas. Estas unidades se utilizan para representar grupos funcionales o taxonómicos dentro de una comunidad microbiana en lugar de identificar especies específicas, ya que las secuencias pueden variar en función de la similitud genética en lugar de ser idénticas. El proceso de *clustering* de OTU es fundamental en el análisis de datos de secuenciación para entender la diversidad y composición de una comunidad microbiana. La agrupación de OTU se implementa mediante referencia cerrada, referencia abierta o estrategia de *novo*.

En el agrupamiento de referencia cerrado, todas las secuencias se comparan con una colección de secuencias de referencia, y cualquier lectura que no coincida con las secuencias de referencia se descarta del análisis posterior. En el agrupamiento de referencia abierta, las lecturas se agrupan con la referencia y aquellas que no coinciden generalmente coinciden con la referencia se agrupan de *novo*.

Seguido del *clustering*, se realizan tablas de características y secuencias representativas de los datos procesados o resultados intermedios generados durante el análisis. La tabla de características proporciona un resumen de todas las características anotadas en los datos (ARNm, genes y secuencias de ARNr 16S) junto con información como la cantidad de veces que una característica se ha repetido en los datos y en cuántas muestras. Por otro lado, los resultados de las secuencias representativas brindan información sobre la secuencia real de ADN para cada característica anotada que luego se designa como taxonomía después de la clasificación utilizando bases de datos de ARNr 16S como SILVA/RDP/Greengenes.

En el análisis siguiente, se clasifican las secuencias obtenidas y la tabla de características en taxonomías. Estos se utilizan en todos los análisis posteriores y son el registro central de todas las observaciones de una muestra (KIOROGLU *et al.*, 2019). Una serie de programas ayudan aún más a clasificar las secuencias y la tabla de características. A cada secuencia se le asigna su taxonomía, lo que ayuda a realizar el análisis filogenético. Las composiciones taxonómicas también pueden verse como diagramas de barras y mapas de calor.

Finalmente, se realizan análisis detallados que incluyen análisis de diversidad alfa y beta utilizando estos datos; análisis de diversidad, incluidos el índice de Shannon, el índice de Simpson y el Faith PD también se determina utilizando las tuberías. Todo el análisis de datos da como resultado una lista de bacterias identificadas en la muestra que se puede distribuir en listas separadas de filo, clase, orden, familia, género y especie y depende de la base de datos elegida como referencia, por ejemplo, RDP, SILVA, Greengenes, etc. El índice de rarefacción

es otra medida utilizada en metagenómica para comparar y analizar la diversidad microbiana en muestras de diferentes tamaños.

La diversidad se da en forma de recuento absoluto y composición porcentual. La identificación se basa en el hecho de que una secuencia coincide con una similitud mayor o igual al 97 % con una secuencia presente en la base de datos. Esto proporcionará solo las especies de género presentes en la base de datos, y ningún género nuevo no se resaltará en los resultados. Los candidatos no clasificados se agrupan bajo el filo *Saccharibacteria* anteriormente conocido como *Candidate Division TM7*. Este grupo carece de cultivos aislados, por lo que falta el papel práctico o la implicación para ellos y se requiere más investigación para obtener más información. Se distinguen por su pequeño tamaño y su asociación con ambientes diversos, como el suelo, el agua, el tracto gastrointestinal humano y otros ambientes terrestres y acuáticos (BOR *et al.*, 2020).

Estas bacterias son especialmente interesantes debido a su escaso conocimiento y estudio previo, su presencia en muestras ambientales ha sido identificada gracias a avances en tecnologías de secuenciación genómica y análisis metagenómicos, lo que ha ampliado nuestra comprensión de la diversidad bacteriana. Aunque su función exacta y su papel en los ecosistemas aún están siendo investigados, se ha sugerido que algunas especies de *Saccharibacteria* podrían estar asociadas con la salud humana y podrían desempeñar roles importantes en la microbiota del cuerpo humano. La secuenciación del genoma completo puede ser una forma de identificar estos nuevos microbios y su contenido genético, lo que puede ayudar aún más a descifrar su función.

3.7. PLATAFORMAS PARA ESTUDIOS METAGENÓMICOS

En el contexto científico, una plataforma puede ser un entorno en línea que permite el análisis de datos, la ejecución de algoritmos o la colaboración entre investigadores. En metagenómica también se cuenta con una serie de plataformas que se refiere a un conjunto de herramientas, *software*, infraestructura o entorno que proporciona funcionalidades y servicios específicos. Las plataformas suelen ofrecer un marco general para realizar ciertas tareas o actividades. Algunos ejemplos incluyen RAST, MG-RAST, GitHub para desarrollo colaborativo o Google Cloud Platform para servicios de computación en la nube (NAVIGIRE *et al.*, 2022).

3.7.1. PLATAFORMA RAST

Rapid Annotation using Subsystem Technology (RAST), es una plataforma de análisis genómico en línea que se centra en la anotación rápida y automatizada

de secuencias genómicas. Esta herramienta permite la predicción de genes, identificación de funciones y asignación de vías metabólicas en genomas recién secuenciados. RAST utiliza algoritmos de comparación con bases de datos para asignar funciones biológicas a las secuencias, lo que ayuda a los investigadores a comprender la estructura y funcionalidad de los genomas de manera eficiente. Es una herramienta valiosa para la anotación y análisis rápido de genomas, facilitando la comprensión de la información genética contenida en las secuencias (MEYER *et al.*, 2019).

3.7.2. PLATAFORMA MG-RAST

Metagenomic Rapid Annotations using Subsystems Technology (MG-RAST), es una plataforma en línea que ofrece análisis metagenómicos automáticos y herramientas para la interpretación de datos provenientes de secuenciación masiva de ADN ambiental. Esta plataforma permite a los investigadores cargar sus datos metagenómicos y realizar análisis de diversidad taxonómica, funcional y comparativa de manera automatizada. MG-RAST utiliza bases de datos de referencia para asignar funciones metabólicas a las secuencias, facilitando la comprensión de la composición y la función de las comunidades microbianas en diferentes entornos. Es una herramienta valiosa en la investigación de ecología microbiana y en la comprensión de la diversidad genética presente en muestras ambientales (NAVIRE *et al.*, 2022).

A medida que las tecnologías cambian, MG-RAST se adapta. Se incluye *software* recientemente disponible para mejorar la precisión y el rendimiento. Como servicio computacional que ejecuta constantemente flujos de trabajo científicos de gran volumen, MG-RAST es el lugar adecuado para realizar evaluaciones comparativas e implementar mejoras algorítmicas o de plataforma, que en muchos casos implican compensaciones entre especificidad, sensibilidad y costo de tiempo de ejecución (MEYER *et al.*, 2019).

3.7.3. PLACNETw

Es una plataforma especializada en la identificación y análisis de plásmidos, elementos genéticos móviles que se encuentran en bacterias y que pueden transportar genes de importancia clínica, como genes de resistencia a antibióticos. Esta plataforma integra herramientas y algoritmos para buscar, caracterizar y visualizar plásmidos a partir de datos genómicos. Ayuda en la identificación de secuencias de ADN que corresponden a plásmidos, proporciona información sobre sus características, como genes de resistencia y elementos estructurales y ofrece visualizaciones para comprender la distribución y variabilidad de los plásmidos (VIELVA *et al.*, 2017).

Esta plataforma es útil para investigadores en microbiología, biología molecular y salud pública, ya que permite estudiar la diversidad de plásmidos en diferentes contextos, incluyendo ambientes clínicos, agrícolas y ambientales (VIELVA *et al.*, 2017). Además, facilita el análisis y la comprensión de la importancia de los plásmidos en la transferencia de genes y la resistencia a antibióticos, contribuyendo al entendimiento de la evolución y la dinámica de las comunidades bacterianas.

3.8. BASES DE DATOS UTILIZADAS EN ESTUDIOS METAGENÓMICOS

En metagenómica, hay varias bases de datos importantes que se utilizan para realizar asignaciones taxonómicas, funcionales y comparativas de secuencias metagenómicas. Secuenciar el gen del ARN ribosomal (ARNr) es el método preferido para la detección e identificación microbiana basada en ácidos nucleicos, su asignación taxonómica, análisis filogenético y la exploración de la diversidad microbiana (WANG *et al.*, 2023). Para una utilidad óptima, las secuencias deben extraerse y verificarse por calidad, las anotaciones deben actualizarse y ampliarse para reflejar el entendimiento actual y, finalmente, todos los datos deben prepararse de manera coherente y fácilmente accesible. Como resultado, se han acumulado vastas cantidades de datos de secuencias del gen del ARNr, superando los 3,5 millones de secuencias, disponibles públicamente a través de diversas bases de datos.

3.8.1. SILVA

La base de datos SILVA destaca como un recurso esencial en la metagenómica, se enfoca en la identificación taxonómica de microorganismos presentes en entornos ambientales mediante secuencias de ARN ribosomal (ARNr). Ofrece una clasificación precisa de bacterias, arqueas y eucariotas en diferentes niveles taxonómicos basada en estas secuencias. La fortaleza de SILVA radica en la recopilación de datos de alta calidad de diversas fuentes, una amplia representación taxonómica y actualizaciones regulares para mejorar su precisión.

Además, SILVA, proporciona herramientas especializadas de alineamiento y clasificación y versiones adaptadas para diversos propósitos y secuenciadores, lo que lo convierte en un recurso valioso para el estudio de la diversidad microbiana en diversos ambientes. El proyecto SILVA también incluye eucariotas, abarcando así los tres dominios de la vida. Además, SILVA ofrece bases de datos tanto para el gen de la subunidad pequeña del ARNr (SSU), como para el gen de la subunidad grande ARNr (LSU) (QUAST *et al.*, 2013).

3.8.2. PROYECTO DE BASE DE DATOS RIBOSOMALA RDP

Es una base de datos cuidadosamente compilada que ofrece datos sobre ribosomas junto con programas y servicios relacionados. Sus ofertas incluyen alineaciones filogenéticamente ordenadas de secuencias de ARN ribosomal (ARNr), árboles filogenéticos derivados, diagramas de estructura secundaria de ARNr y varios paquetes de *software* para manejar, analizar y mostrar alineaciones y árboles. Los datos están disponibles a través de FTP y correo electrónico (LARSEN *et al.*, 1993). Además, ciertos servicios analíticos se proporcionan también mediante el servidor de correo electrónico (QUAST *et al.*, 2013). El proyecto de Base de Datos Ribosomal (RDP-II) cubre los dominios *Archaea* y *Bacteria* para secuencias del gen del SSU.

3.8.3. GREENGENES

Es una base de datos esencial en la metagenómica y microbiología, especializada en secuencias de genes ribosomales (ARNr) para la clasificación taxonómica de microorganismos en muestras metagenómicas. Destaca por ofrecer una detallada taxonomía basada en ARNr, posibilitando la precisa identificación de bacterias y otros microorganismos, además, su amplia colección de secuencias ribosomales facilita la comparación y asignación taxonómica de secuencias metagenómicas (WANG *et al.*, 2023).

Actualizaciones periódicas mejoran su precisión y nuevas secuencias se integran con regularidad. Greengenes también provee herramientas y algoritmos para analizar e interpretar datos metagenómicos basados en ARNr. Es un recurso fundamental, como otras bases de datos similares, para comprender la diversidad taxonómica de las comunidades microbianas en distintos ambientes, permite a los investigadores identificar y clasificar los microorganismos presentes en muestras ambientales a través de secuencias genómicas específicas. Greengenes también cubren los dominios *Archaea* y *Bacteria* para secuencias del gen del SSU.

3.8.4. METACYC

Es una base de datos enfocada en vías metabólicas y enzimas, proporciona una detallada y curada información sobre rutas bioquímicas, reacciones enzimáticas, metabolitos y genes involucrados en procesos metabólicos. Destaca por su extensa colección de rutas metabólicas y datos específicos sobre enzimas y compuestos químicos en estas vías, ofrece detalles minuciosos sobre reacciones enzimáticas y conexiones en diversas vías, datos curados de múltiples organismos para comparaciones entre especies, herramientas de análisis y consultas, además de actualizaciones periódicas para mantener la precisión de la información

(WANG *et al.*, 2023). Este recurso es esencial para comprender y estudiar los procesos metabólicos en distintas especies, siendo particularmente valioso en la interpretación de datos metagenómicos al identificar funciones metabólicas y rutas biológicas presentes en comunidades microbianas.

3.8.5. KEGG

La Enciclopedia de Genes y Genomas de Kyoto (KEGG) es una base de datos que se destaca por proporcionar una amplia gama de información detallada sobre rutas metabólicas, funciones biológicas y genes asociados. Esta base es valiosa para la asignación funcional de secuencias metagenómicas al ofrecer una perspectiva detallada de cómo los genes y las vías metabólicas se relacionan en diferentes organismos y sistemas biológicos. KEGG ofrece una visión más amplia y comprensiva al abarcar una diversidad de funciones biológicas, rutas metabólicas y genes asociados en diversos organismos (KANEHISA *et al.*, 2023).

La base de datos es curada manualmente que integra objetos biológicos en sistemas, genómica, química y salud. Cada objeto tiene un identificador de KEGG (*Kid*). Ofrece visores para mapas de vías, jerarquías *Brite* y un navegador de genomas. Ha mejorado la asignación de KO (ortología de KEGG) y agregado genomas eucarióticos para una mejor representación taxonómica. Se usan archivos de taxonomía y el visor *Brite* para mapear taxonomías, permitiendo analizar la conservación de vínculos funcionales y físicos entre grupos de organismos (KANEHISA *et al.*, 2023).

3.8.6. IMG/M

Integrated Microbial Genomes with Microbiome Samples (IMG/M), es una base de datos que se especializa en albergar genomas microbianos y datos asociados con muestras metagenómicas. Su enfoque se centra en proporcionar una amplia colección de genomas microbianos, así como datos metagenómicos relacionados, lo que resulta valioso para realizar comparaciones y análisis comparativos entre comunidades microbianas (WANG, 2023).

La distinción principal de IMG/M radica en su capacidad para ofrecer un conjunto diverso de genomas microbianos y datos metagenómicos, permitiendo a los investigadores realizar análisis comparativos detallados de las comunidades microbianas. Esto incluye la capacidad de examinar y comparar las características genómicas de diferentes microorganismos, así como comprender la diversidad y la funcionalidad de las comunidades microbianas presentes en diversos entornos (WANG, 2023). IMG/M se destaca por ser una fuente rica en genomas microbianos y datos metagenómicos específicamente orientada hacia análisis comparativos y estudios de comunidades microbianas.

3.8.7. ENTEROBASE

Es una base de datos y plataforma en línea que contiene información genómica sobre bacterias del género *Enterobacteriaceae* (ACHTMAN *et al.*, 2022). Esta base recopila datos genómicos de cepas de bacterias patógenas y no patógenas, lo que incluye información sobre su secuencia genómica, características fenotípicas, datos epidemiológicos y más. Ofrece herramientas para análisis comparativos y visualización de datos, lo que permite a los investigadores explorar y analizar la diversidad genómica de estas bacterias.

Enterobase es utilizado como una fuente de datos para análisis posteriores, en metagenómica (ACHTMAN *et al.*, 2022). Los investigadores pueden acceder a información genómica detallada y utilizarla en sus propios *pipelines* o flujos de trabajo de análisis para investigar aspectos específicos de las bacterias del género *Enterobacteriaceae*.

3.9. OTROS RECURSOS GENÓMICOS O METAGENÓMICOS

Existen otros recursos y algoritmos que abordan inquietudes específicas al procesar datos genómicos o metagenómicos desde formatos sin procesar, centrándose en la longitud de las secuencias, la organización de datos y la reducción de la redundancia para facilitar el procesamiento posterior y mejorar la autenticidad de los resultados obtenidos (tabla 26).

Tabla 26. Comparación de algunas plataformas y herramientas para análisis filogenético y funcional de metagenomas y microbiomas

Plataforma/ herramienta	Enfoque/uso	Longitud de secuencia recomendada	Funciones principales	Referencia
MG-RAST	Análisis filogenético y funcional automático de metagenomas	ARNr 16S de longitud $\geq$ 100 pb	Ofrece análisis automáticos de metagenomas y análisis filogenéticos y funcionales	(NAVIGIRE <i>et al.</i> , 2022).
QIIME2	Análisis filogenético y funcional automático de metagenomas	ARNr 16S de longitud $\geq$ 100 pb	Proporciona análisis de comunidades microbianas y funcionalidades similares a MG-RAST	(ESTAKI <i>et al.</i> , 2020)

IMG/M	Integración de microbial genomas con muestras de microbioma	Preferencia por <i>contigs</i>	Prefiere datos en forma de <i>contigs</i> , aunque la longitud de la secuencia no está claramente especificada	(WANG, 2023)
UCLUST	Algoritmo para anotar datos, ensambla lecturas similares en contigs y clúster	No especificada	Ensambla lecturas similares en contigs y clúster, facilita el procesamiento posterior de datos sin procesar	(WANG, 2023)
CD-HIT	Algoritmo para anotar datos, ensambla lecturas similares en contigs y clúster	No especificada	Agrupar y reduce la redundancia en secuencias, facilitando el análisis posterior y reduciendo los requisitos de procesamiento	(Wang, 2023)

Nota. Tomada y modificada WANG (2023).

Varios factores son importantes al ensamblar los datos obtenidos de la secuenciación. Dos preocupaciones principales al procesar datos desde el formato sin procesar son la presencia de longitudes de lectura adecuadas y la reducción de los requisitos de procesamiento de datos. Dependiendo de la longitud de lectura de las secuencias, los canales utilizados para la predicción de genes serán diferentes.

Finalmente, UCLUST y CD-HIT son dos herramientas clave en bioinformática para el análisis y procesamiento de datos genómicos, especialmente en la detección de similitudes entre secuencias. Ambas están diseñadas para reducir datos y agrupar secuencias similares, simplificando así la gestión y análisis de conjuntos de información extensos. UCLUST emplea una estrategia heurística para encontrar grupos de secuencias similares basados en umbrales predefinidos de identidad, mientras que CD-HIT también identifica y elimina redundancias en conjuntos de datos mediante el agrupamiento de secuencias similares por similitud de secuencia. Estas herramientas son esenciales para la gestión eficiente de datos genómicos, permitiendo identificar similitudes y reducir la redundancia, facilitando análisis posteriores en estudios de metagenómica y genómica comparativa.

4. APLICACIONES DE LA METAGENÓMICA EN DIAGNÓSTICO CLÍNICO MICROBIOLÓGICO

En el mundo de la microbiología, la metagenómica ha surgido como una herramienta eficaz y revolucionaria que ha transformado la forma en que se

comprende y explora la diversidad microbiana en su totalidad. Este campo de investigación se basa en la secuenciación del ADN/ARN de comunidades microbianas completas en su entorno natural y ha desbloqueado una extensa reserva de información genética, revelando no solo la complejidad de las interacciones microbianas, sino también su impacto en la salud humana, en la ecología y la biotecnología, entre otras áreas de conocimiento.

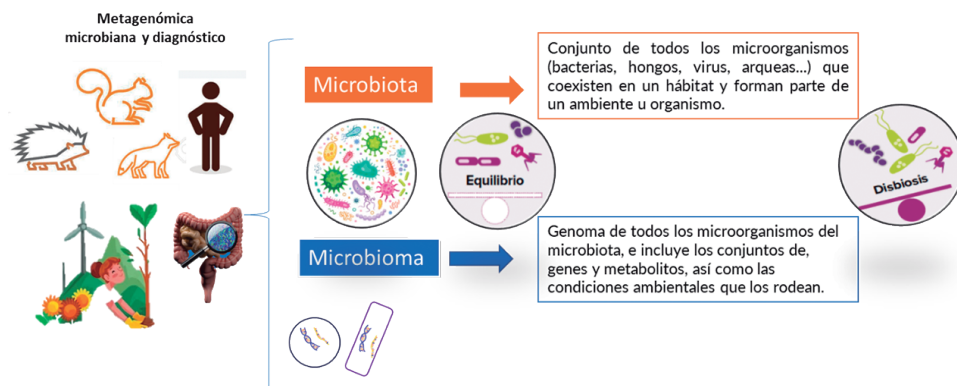
La metagenómica tiene una amplia gama de aplicaciones en diversos campos: en medicina, la metagenómica ha sido fundamental para comprender la microbiota humana y su influencia en la salud, se ha utilizado para identificar microorganismos patógenos, entender enfermedades como el síndrome del intestino irritable y desarrollar tratamientos personalizados.

En este contexto, uno de los aspectos más estudiados de la metagenómica es su aplicación en el diagnóstico. Al analizar el material genético de las comunidades microbianas presentes en muestras clínicas y ambientales, la metagenómica no solo posibilita la identificación de microorganismos específicos, sino que también ofrece un entendimiento de su diversidad y funcionalidad en un entorno dado, demostrando su potencial impacto en la salud humana y la salud pública.

4.1. MICROBIOTA, MICROBIOMA Y DISBIOSIS

La metagenómica se centra en el estudio tanto de la microbiota como del microbioma, permitiendo la secuenciación y el análisis del material genético de todos los microorganismos presentes en las muestras clínicas y ambientales analizadas. Estos términos, aunque relacionados, difieren en el campo de la metagenómica y la biología microbiana. El término microbiota hace referencia a la comunidad de microorganismos (bacterias, virus, hongos, etc.) que coexisten en un hábitat específico, como el intestino, la piel, el suelo u otros entornos, esta comunidad varía ampliamente de un lugar a otro en el cuerpo o en el medio ambiente (**figura 31**).

Por otro lado, el término microbioma se refiere al conjunto completo de genes de los microorganismos que forman parte de la microbiota, en otras palabras, el microbioma representa el material genético colectivo de la comunidad microbiana en un entorno determinado, lo que abarca el ADN de bacterias, virus, hongos y otros microorganismos presentes en esa comunidad.

Figura 31. *Microbiota, microbioma y disbiosis*

Nota. La imagen distingue entre microbiota y microbioma: la microbiota es el conjunto de microorganismos (bacterias, hongos, virus, arqueas) que viven en un ambiente u organismo, mientras que el microbioma abarca el genoma de estos microorganismos, sus genes, metabolitos y las condiciones ambientales que los rodean. Además, muestra el equilibrio y la disbiosis como estados del microbioma.

La caracterización de la microbiota humana ha sido reveladora en la comprensión de funciones fisiológicas fundamentales. Se ha observado que la microbiota tiene una influencia significativa en múltiples sistemas y funciones del cuerpo humano, abarcando desde el sistema cardiovascular hasta la neurología, la reproducción, la inmunología y la carcinogénesis (HSIAO *et al.*, 2013). Estos descubrimientos subrayan la tendencia actual en los estudios de microbiota, que buscan identificar diversas comunidades microbianas en distintas condiciones de salud humana, así como nuevos patógenos asociados al desarrollo de enfermedades (EL-SAYED *et al.*, 2021).

Las bacterias han experimentado cambios a lo largo del tiempo compartiendo información genética entre sí. Existen interacciones complejas entre las bacterias y el huésped, lo que ha llevado al establecimiento de equilibrio, un sistema de homeostasis (VIRGIN, 2007). La flora bacteriana que residen en lugares como la cavidad oral, la nasofaringe, la piel, la mucosa intestinal y la genitourina son poblaciones bacterianas que se conocen como microbiota normal (EL-SAYED *et al.*, 2021). La microbiota normal desempeña un papel protector contra agentes patógenos. El proceso de presencia y desarrollo de estos microorganismos se conoce como colonización, y generalmente no se asocia con expresión clínica patológica ni una respuesta inmune detectable en el huésped que pueda asociarse con enfermedad.

Es interesante cómo esta microbiota normal puede transformarse en un desencadenante de infecciones en circunstancias en las que el sistema inmune

se encuentra debilitado, ya sea por tratamientos inmunomoduladores, el uso de instrumentos invasivos o debido al desequilibrio provocado en la microbiota por tratamientos antibióticos (JARVIS, 1996). Este cambio en la composición microbiana que lleva a una alteración funcional se conoce como **disbiosis**. Término que se refiere a un desequilibrio o alteración en la composición de la microbiota presente en un determinado ambiente, como, por ejemplo, en el cuerpo humano, el suelo o el agua (**figura 31**). Usualmente, la disbiosis conlleva a una disminución en la diversidad microbiana y se asocia con la presencia de un microorganismo o grupo de microorganismos responsables de esta disbiosis (FRAHER *et al.*, 2012).

La dinámica compleja del microbiota ha desafiado durante décadas los métodos tradicionales de identificación bacteriana y la comprensión de la resistencia a los antibióticos. Al aplicar un estudio microbiológico de la microbiota humana, se logra caracterizar los microorganismos en condiciones específicas, como infecciones o enfermedades como el cáncer, la aproximación puede revelar las composiciones microbianas asociadas con ciertas enfermedades, ofreciendo así una comprensión más profunda de su naturaleza y posibles implicaciones.

En este contexto la metagenómica posee una capacidad singular para abordar exhaustivamente tanto la microbiota como el microbioma, lo que ha ampliado de manera significativa nuestra comprensión de las enfermedades, especialmente las infecciosas, permitiendo estudiar y comprender en profundidad estos desequilibrios, ya que analiza la diversidad genética de la microbiota, identificando los cambios en la comunidad microbiana que pueden estar asociados con la disbiosis.

4.2. METAGENÓMICA CLÍNICA Y DIAGNOSTICO MICROBIOLÓGICO

Mediante la metagenómica se pueden revelar patrones de disbiosis en distintos contextos, como en el intestino humano, donde desequilibrios en la composición de la microbiota pueden estar relacionados con diversas enfermedades, incluyendo trastornos gastrointestinales, metabólicos e inmunológicos. Estudiar estos cambios a nivel genómico es fundamental para comprender cómo la disbiosis puede contribuir al desarrollo de enfermedades y para explorar estrategias terapéuticas que puedan restaurar el equilibrio microbiano.

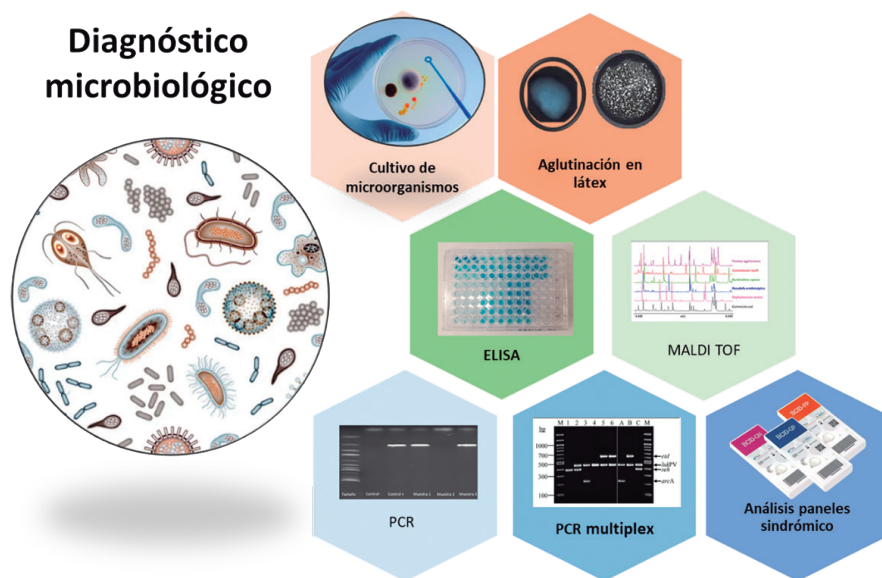
En el campo de la microbiología clínica se incluyen áreas esenciales como el diagnóstico y la identificación de patógenos (bacterias, virus, hongos y parásitos) a partir de muestras clínicas. Esto no solo orienta las estrategias de tratamiento de infecciones, sino que también permite analizar las respuestas del huésped, siendo potencialmente útil en el diagnóstico. Además, la microbiología clínica contribuye a la vigilancia y seguimiento de brotes de enfermedades infecciosas en la comunidad.

El campo de la microbiología clínica abarca la microbiología de diagnóstico en infecciones, que implica identificar patógenos en muestras clínicas para orientar el manejo del paciente y las estrategias de tratamiento para las infecciones, y la microbiología de la salud pública, que se enfoca en monitorear y vigilar brotes de enfermedades infecciosas en la comunidad (CHIU y MILLER, 2019).

4.2.1. MÉTODOS TRADICIONALES Y MOLECULARES EN LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA

Los métodos tradicionales en laboratorios de microbiología infecciosa incluyen el cultivo de microorganismos, la detección de anticuerpos o antígenos específicos (por ejemplo, mediante pruebas de fenotipo bioquímico o espectrometría de masas de tiempo de vuelo con desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI), hasta la detección de biomarcadores específicos de organismos (identificación de antígenos mediante aglutinación de látex, anticuerpos mediante ensayos inmunoenzimáticos (ELISA), pruebas de ácido nucleico mediante PCR para agentes únicos y pruebas de PCR multiplex utilizando paneles sindrómicos (**figura 32**).

Figura 32. *Métodos tradicionales en laboratorios de microbiología infecciosa usados para la identificación de patógenos*



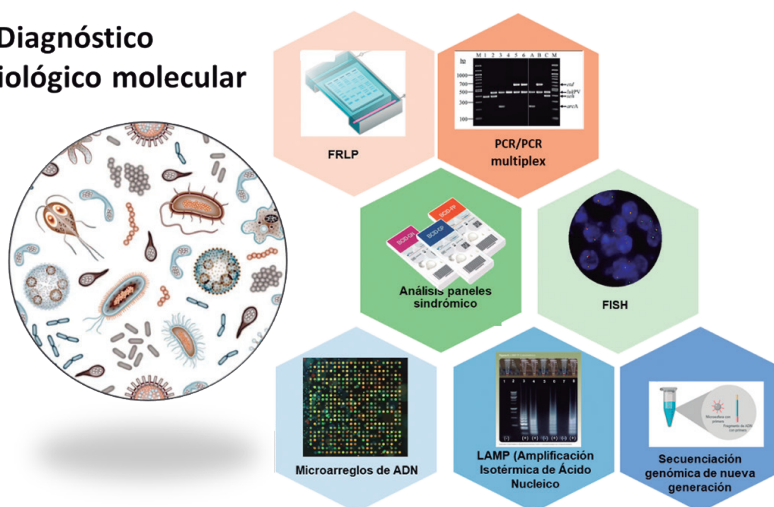
Nota. La imagen presenta diversas técnicas de diagnóstico microbiológico, incluyendo el cultivo de microorganismos, aglutinación en látex, ELISA, MALDI-TOF, PCR, PCR multiplex y análisis de paneles sindrómicos.

Esto implica llevar a cabo pruebas adicionales en muestras de tejido mediante métodos complementarios y demostrar cambios en la respuesta inmunológica, o utilizar cultivos celulares o modelos animales según sea necesario. Estos pasos adicionales son fundamentales para evaluar y confirmar el potencial patógeno real del agente identificado (CHIU y MILLER, 2019).

Es así como en el ámbito del diagnóstico microbiológico se observa una creciente adopción de técnicas moleculares en los laboratorios, estas herramientas se están implementando cada vez más debido a su precisión y capacidad para detectar y caracterizar microorganismos de manera rápida y específica. Técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la secuenciación genómica han revolucionado la identificación de patógenos, permitiendo un diagnóstico más ágil y preciso en comparación con los métodos tradicionales (**figura 33**).

Figura 33. *Técnicas moleculares utilizadas en metagenómica*

Diagnóstico microbiológico molecular



Nota. La imagen muestra varias técnicas de diagnóstico genético y microbiológico, incluyendo RFLP, PCR/PCR multiplex, análisis de paneles sindrómicos, FISH, microarreglos de ADN, LAMP y secuenciación genómica de nueva generación. Estas herramientas permiten la detección precisa de patógenos y variaciones genéticas, mejorando el diagnóstico y tratamiento de enfermedades infecciosas.

Las técnicas moleculares han revolucionado la identificación de patógenos pues permiten un diagnóstico más ágil y preciso en comparación con los métodos tradicionales. La versatilidad y sensibilidad de estas técnicas moleculares están transformando el panorama del diagnóstico microbiológico al proporcionar

resultados más confiables y contribuir significativamente a la toma de decisiones clínicas más informadas.

En la última década los hospitales han incorporado el uso de los paneles sindrómicos a su diagnóstico (**figura 32**). Los paneles sindrómicos son conjuntos de pruebas moleculares que analizan múltiples agentes infecciosos al mismo tiempo que se utilizan para identificar múltiples enfermedades o condiciones de salud, especialmente aquellas que comparten síntomas similares o pertenecen a una misma categoría sindrómica. Estos paneles suelen incluir pruebas de laboratorio, pruebas genéticas o pruebas de imagen que permiten obtener información integral sobre la presencia o ausencia de varias enfermedades o afecciones en un solo análisis.

Un ejemplo es el caso de la meningitis aguda en la que pueden detectar catorce microorganismos en 70 minutos (ASENCIO *et al.*, 20121). Estos paneles generalmente incluyen los patógenos más comunes asociados con un síndrome clínico definido, como meningitis y encefalitis, infección respiratoria aguda, sepsis o enfermedad diarreica (TANG *et al.*, 2006), sin embargo, cuando se identifica un agente infeccioso poco común o desconocido en muestras clínicas, es crucial realizar investigaciones adicionales para confirmar su presencia. En este contexto seleccionar la técnica molecular es importante, la **tabla 27** muestra las principales técnicas moleculares con sus ventajas y desventajas.

Tabla 27. *Técnicas moleculares utilizadas en diagnostico microbiológico*

Técnica	Explicación	Ventajas	Desventajas
Polimorfismo de longitud del fragmento de restricción terminal (T-RFLP)	Se realiza la amplificación de secuencias específicas utilizando cebadores marcados, seguida por la digestión del producto amplificado del ARNr 16S. Posteriormente, estos fragmentos digeridos se separan utilizando la técnica de electroforesis en gel.	Rápido, semicuantitativo, económica.	Baja resolución, sin identificación filogenética, sesgo de PCR.
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	Amplifica y detecta secuencias específicas de ADN, lo que permite identificar microorganismos incluso en cantidades mínimas. Variantes como PCR en tiempo real (qPCR) ofrecen resultados en tiempo real.	Rápido, semicuantitativo, económico.	Baja resolución. Esto puede llevar a la omisión de ciertos tipos de resistencia.

FISH	La sonda marcada con fluorescencia se une al objetivo específico del ARNr 16S, seguido por el proceso de hibridación, y su cantidad se evalúa mediante citometría de flujo.	Identificación filogenética, semicuantitativa, sin sesgo de PCR.	Dependencia de la sonda, incapacidad para identificar especies desconocidas.
Microarreglos de ADN	Las sondas de oligonucleótidos con fluorescencia se unen a secuencias de nucleótidos complementarias, y después, la secuencia marcada se identifica mediante un láser para su detección.	Identificación filogenética, semicuantitativa, rápida.	Hibridación cruzada, sesgo de PCR, menos aplicable para especies de baja abundancia.
LAMP (amplificación isotérmica de ácido nucleico)	Una técnica rápida y sensible que amplifica el ADN a temperaturas constantes y puede ser útil en entornos con recursos limitados.	Identificación filogenética, semicuantitativa, rápida.	Hibridación cruzada, sesgo de PCR, menos aplicable para especies de baja abundancia.
Secuenciación genómica	Proceso de determinar el orden exacto de los nucleótidos en una molécula de ADN.	Precisión en la identificación genética y la capacidad de descubrir mutaciones asociadas a enfermedades.	Complejidad en la interpretación de los grandes volúmenes de datos generados.
Paneles sindrómicos	Pruebas moleculares que analizan múltiples agentes infecciosos al mismo tiempo.	Útiles en entornos clínicos donde se necesita identificar rápidamente la causa de una infección, como en emergencias o situaciones donde se requiere una toma de decisiones rápida y precisa.	Limitación en la detección de ciertos patógenos o variantes genéticas específicas.
NGS	Tecnología revolucionaria que permite secuenciar grandes cantidades de ADN o ARN de manera rápida y a gran escala.	Fundamental en la investigación biomédica y clínica, diagnóstico y tratamiento personalizado. Entendimiento de la variabilidad genética y la biología de diversas enfermedades.	Manejo y análisis de la gran cantidad de datos que genera. Posibilidad de errores en la secuenciación y costos.

4.3. ANÁLISIS METAGENÓMICO EN LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA

La metagenómica tiene diversas aplicaciones, amplía la comprensión de enfermedades infecciosas, investigaciones de microbiomas en distintos estados de salud y enfermedad, análisis de la respuesta del huésped ante infecciones y detecta virus relacionados con tumores, entre otros usos. A diferencia de la mayoría de los ensayos moleculares que se enfocan en un número limitado de patógenos utilizando cebadores o sondas específicas, los enfoques metagenómicos, que tiene sus raíces en el uso de *microarrays* a principios de la década de 2000, analizan todo el ADN o ARN en una muestra (MILLER y TANG, 2009; ZHAO y BAJIC, 2015). Las técnicas metagenómicas permiten examinar todo el microbioma, así como el genoma o transcriptoma del huésped humano en muestras de pacientes (LLOYD-PRICE *et al.*, 2016), lo cual aumenta la capacidad de identificar todos los posibles patógenos (bacterias, virus, hongos y parásitos), en una muestra al mismo tiempo que se analizan las respuestas del huésped. Todos los avances en metagenómica son valiosos para el diagnóstico de enfermedades infecciosas.

Entre los primeros éxitos en los estudios metagenómicos se incluyen el descubrimiento del coronavirus responsable del SARS, la identificación de mutaciones en el cáncer y el análisis detallado del microbioma humano en diferentes sitios del cuerpo (NUTMAN y MARCHAIM, 2019). Sin embargo, fue la llegada de las tecnologías de secuenciación de próxima generación (NGS) en 2005 lo que revolucionó la aplicación clínica de la metagenómica (VOELKERDING *et al.*, 2009). Estas tecnologías permitieron generar desde millones hasta miles de millones de lecturas en una sola ejecución, posibilitando el análisis completo del contenido genético de una muestra clínica o ambiental (CHIU y MILLER, 2019; PALMER *et al.*, 2006). Además, la disponibilidad en constante crecimiento de instrumentos de secuenciación y la marcada reducción en los costos impulsaron la rápida adopción de la secuenciación mNGS en el ámbito clínico (**figura 34**).

La década siguiente vio un aumento significativo en la disponibilidad de herramientas de secuenciación y una reducción considerable en los costos asociados. Este avance aceleró la adopción de la tecnología de mNGS en el ámbito clínico. Esta adopción permitió varios avances, incluyendo la identificación directa de microorganismos a partir de muestras clínicas primarias, la predicción de resistencia a antimicrobianos al caracterizar genes relacionados, la detección de determinantes de virulencia a niveles de especie o cepa, como la producción de endotoxinas o exotoxinas específicas, y la capacidad de prever la resistencia antiviral o antimicrobiana (CHIU *et al.*, 2019).

Figura 34. Usos de la mNGS en el diagnóstico clínico

Nota. Se describen las diversas aplicaciones del análisis metagenómico, incluyendo el desarrollo de vacunas, identificación de genes de resistencia entre otras.

La mNGS es un método avanzado que apoya el diagnóstico clínico, implica el análisis completo del material genético de microorganismos y del huésped (ADN y ARN) en las muestras de pacientes. Las aplicaciones de mNGS en diagnóstico clínico son amplias, abarcan áreas como diagnóstico microbiológico de enfermedades infecciosas, resistencia a antimicrobianos, estudios de microbiomas, expresión genética del huésped (transcriptómica) entre otras (CHIU y MILLER, 2019).

Este enfoque innovador se está trasladando rápidamente de la investigación a los laboratorios clínicos, transformando la manera en que los médicos y el personal de laboratorio clínico diagnostican y tratan enfermedades infecciosas. Sin embargo, implementar la mNGS en el ámbito clínico conlleva desafíos importantes, por lo que explorar posibles soluciones es fundamental para maximizar su impacto en la atención al paciente y la salud pública.

4.4. ESTUDIOS METAGENÓMICOS EN DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

La posibilidad de efectuar estudios metagenómicos de la microbiota y del microbioma de una muestra clínica de manera rápida y a un coste reducido permite avanzar más rápidamente en el diagnóstico de enfermedades, en el conocimiento de la taxonomía y la epidemiología de los agentes involucrados, así como de su virulencia (HERNÁNDEZ *et al.*, 2019), además posibilita la realización de estudios de genómica comparada y el descubrimiento de genes o variantes de interés, lo que puede llevar a que enfermedades tradicionalmente consideradas como de carácter no microbiano sean asociadas a la presencia de microorganismos (HERNÁNDEZ *et al.*, 2019).

Hasta la fecha, varios estudios han permitido vislumbrar la promesa de la mNGS en entornos clínicos y de salud pública. En el año 1995 se completó la secuencia del primer genoma bacteriano, el de *Haemophilus influenzae* (FLEISCHMANN *et al.*, 1995). En la actualidad existen más de 120.000 genomas de especies bacterianas depositados en diversas bases de datos. La **tabla 28** muestra algunas investigaciones realizadas sobre el uso de mNGS en enfermedades infecciosas, las cuales han fortalecido la investigación en salud pública.

Tabla 28. Investigaciones realizadas sobre el uso de mNGS en enfermedades infecciosas

Investigaciones	Diagnóstico	Uso del resultado	Referencia
Clínica neuroleptospirosis	Meningoencefalitis	Tratamiento antibiótico apropiado.	(WILSON <i>et al.</i> , 2014)
Fibrosis quística	Dinámica de las comunidades microbianas en pacientes	Revelo la dinámica de las comunidades microbiana y los genes de resistencia a los antibióticos (ARG).	(MALLA <i>et al.</i> , 2019)
Enfoque metagenómico en microbiología y salud pública	Brotos de la cepa O104:H4 de <i>E. Colioxigénica</i>	La integración de datos epidemiológicos, de laboratorio y genómicos para rastrear patrones de transmisión e inferir el origen y las fechas de infección durante un brote.	(LOMAN <i>et al.</i> , 2013)
Vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos	Resistencia a la ciprofloxacina en <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Yersinia pestis</i> y <i>Francisella tularensis</i> .	Detección de variantes genéticas que se sabe que confieren resistencia a la ciprofloxacina.	(STEFAN <i>et al.</i> , 2016)

Detección de panpatógenos	Diagnóstico de infecciones neurológicas por LCR	Detección de panpatógenos, que se utilizará clínicamente para pacientes con enfermedades agudas de etiología desconocida, meningitis y encefalitis.	(MILLER <i>et al.</i> , 2019)
Secuenciación de amplicones (paneles de cebador multiplexados)	Diagnóstico de fiebre hemorrágica viral	Detección de patógenos multiplexados.	(BRINKMANN <i>et al.</i> , 2017)
Metagenómica de nanoporos	Patógenos de neumonía	Herramienta de diagnóstico rápida y eficaz para patógenos de neumonía.	(YANG <i>et al.</i> , 2019)
Metagenómica de nanoporos	Microbios en las aguas residuales globales de importancia clínica	Detección de patógenos y genes de resistencia a los antimicrobianos de los microbios en las aguas residuales globales.	Ko <i>et al.</i> , 2022)

La metagenómica proporciona información detallada sobre la virulencia de los patógenos, además la metagenómica clínica tiene la capacidad de prever la resistencia antiviral, lo que es fundamental para abordar las infecciones virales y elegir las estrategias de tratamiento adecuadas. Estas aplicaciones demuestran el potencial transformador de la metagenómica clínica en el campo de la medicina y la microbiología. Es así como la utilización de la metagenómica para identificar y caracterizar patógenos microbianos en muestras clínicas, permite diagnósticos rápidos y precisos de enfermedades infecciosas.

4.5. ESTUDIOS METAGENÓMICOS EN EL ANÁLISIS DE MICROBIOMAS

Numerosos investigadores actualmente prefieren mNGS en lugar de enfocarse únicamente en la secuenciación específica del gen 16S rRNA para lograr una descripción más detallada del microbioma. Hay una mayor conciencia pública acerca del microbioma y su probable relación con estados patológicos, tanto agudos como crónicos (YOUNG, 2017). Sin embargo, aún no se han validado clínicamente pruebas basadas en el microbioma para diagnosticar o tratar enfermedades, en parte debido a un conocimiento incompleto de la complejidad del microbioma y su papel en el desarrollo de enfermedades.

Investigaciones sobre el microbioma, que abarca las comunidades microbianas (microbiota) autóctonas y el entorno del huésped que habitan, han transformado las ideas de los clínicos sobre los microbios en la salud y enfermedad humanas.

Uno de los cambios más radicales es la comprensión de que la mayoría de los microbios que residen en el cuerpo ofrecen servicios ecosistémicos vitales que benefician a todo el sistema huésped-microbio. Estos servicios incluyen la producción de recursos importantes, la conversión de nutrientes y la protección contra microbios patógenos, por lo tanto, la enfermedad puede surgir debido a la pérdida de funciones beneficiosas o a la introducción de funciones desadaptativas por parte de microbios invasores (YOUNG, 2017). El microbioma ha modificado la percepción de los microbios en el mantenimiento de la homeostasis y la generación de enfermedades. En la **tabla 29** se muestran algunos de los microorganismos identificados en estudios del microbioma utilizando técnicas de mNGS.

Tabla 29. Estudios de microbioma utilizando mNGS

Microbioma humano	Técnica	Microrganismos identificados	Ref
Piel	Metagenómica de <i>shotgun</i>	Abundancia de especies productoras de porfirina, <i>Cutibacterium cnes</i> , <i>Cutibacterium avidum</i> . <i>Cutibacterium granulosum</i> y <i>Cutibacterium namnetense</i> , bacteriófagos <i>Propionibacterium acnes</i> con el género <i>Cutibacterium</i> .	(WEI et al., 2022)
Cavidad bucal	Estudios de asociación entre metagenoma y todo el genoma	Se encontraron asociaciones <i>Prevotella jejuni</i> , <i>Oribacterium</i> y <i>Solobacterium</i> , <i>Lachnoanaerobaculum umeaense</i> y <i>Eggerthia</i> .	(LIU et al., 2021)
Caries dental	secuenciación metagenómica	<i>Prevotella spp.</i> , <i>Streptococcus mutans</i> y el virus de Epstein-Barr	(BAKER et al., 2021)
Pulmones	mNGS metagenómica de nanoporos	Identificación de virus respiratorios en muestras clínicas mixtas rinovirus y los coronavirus humanos, <i>parainfluenza humana (HPIV)</i> , el <i>parechovirus humano</i> , el virus de la <i>influenza A</i> , el virus respiratorio sincitial (RSV) y <i>metapneumovirus humano</i> .	(GONG et al., 2017)
Intestino	NGS microbiota intestinal	<i>Prevotella copri</i> y <i>Akkermansia muciniphila</i> , <i>Ralstonia pickettii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> entre muchos otros más.	(CANI et al., 2018)

La abundancia de datos metagenómicos generados al comparar sujetos enfermos y sanos puede llevar a la afirmación errónea de que una bacteria está causalmente relacionada con la protección o la aparición de una enfermedad. De hecho, factores ambientales como los hábitos alimentarios, los tratamientos farmacológicos, la motilidad intestinal y la frecuencia y consistencia de las deposiciones son factores que influyen en la composición del microbiota y deben tenerse en cuenta.

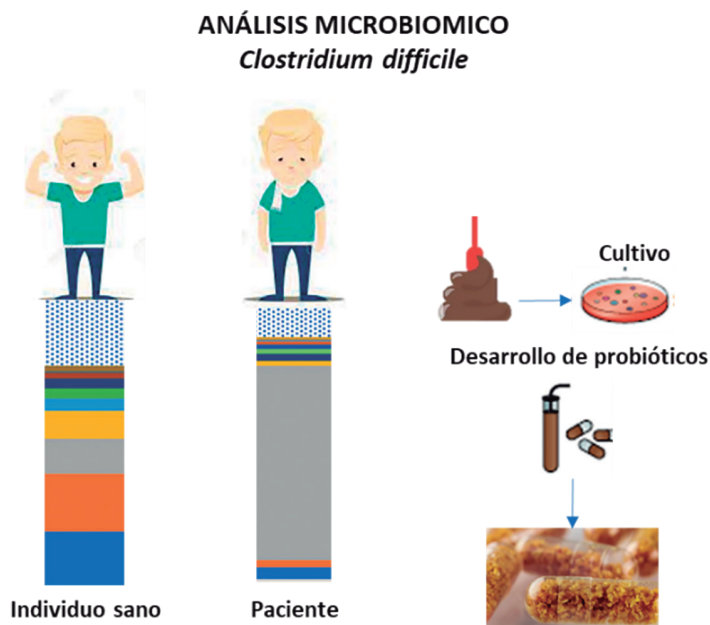
4.6. ESTUDIOS DE METAGENÓMICA EN MICROBIOMAS EN INDIVIDUOS SANOS Y ENFERMOS

La metagenómica clínica posibilita el análisis de microbiomas tanto en individuos sanos como enfermos. Estos análisis pueden brindar información pronóstica sobre enfermedades en estados agudos y crónicos, respaldando además el desarrollo de terapias probióticas. Uno de los sitios del cuerpo más estudiado en este aspecto es el intestino humano, considerado el *segundo cerebro humano* debido a su capacidad para llevar a cabo procesos funcionales complejos en el cuerpo humano de manera similar al cerebro humano (OCHOA-REPÁRAZ Y KASPER, 2016).

En situaciones de disbiosis –como se evidencia en pacientes con enfermedad relacionada con *Clostridium difficile*, una bacteria oportunista que puede infectar el intestino que provoca la producción de toxinas que pueden provocar diarrea, deshidratación, sepsis y la muerte– se observa una reducción en la diversidad de especies el microbioma esta alterado por factores como la exposición a antibióticos de amplio espectro o una cirugía gastrointestinal reciente (SAMARKOS *et al.*, 2018; SHOGBESAN *et al.*, 2018).

En el tratamiento de pacientes con esta infección, es factible recolectar heces de individuos sanos y utilizarlas en trasplantes de heces o en forma de píldoras fecales encapsuladas para administración oral. También se pueden diseñar heces sintéticas mediante especies de microbiota presentes en individuos sanos, las cuales podrían emplearse como probióticos en el tratamiento de pacientes (SHOGBESAN *et al.*, 2018).

Además de la infección por *C. difficile*, condiciones crónicas como la obesidad, la enfermedad inflamatoria intestinal y la diabetes *mellitus* podrían obtener beneficios de la terapia con probióticos (**figura 35**). Estas terapias representan una dirección prometedora en el campo de la medicina, aprovechando la capacidad de la metagenómica clínica para ofrecer un entendimiento más profundo de los microbiomas y su influencia en la salud humana (SHOGBESAN *et al.*, 2018).

Figura 35. *Trasplante fecal microbiano*

Nota. La imagen ilustra la comparación entre un microbioma saludable y uno alterado en individuos. Muestra cómo el microbioma alterado puede restablecerse mediante un trasplante fecal, en el cual se recolectan y cultivan bacterias de una muestra fecal saludable, para luego ser administradas al individuo con disbiosis, promoviendo así el equilibrio del microbioma.

Dado que el determinante de resistencia podría residir en el entorno, la tendencia actual de trasplante fecal microbiano (FMT, por sus siglas en inglés) como un nuevo enfoque terapéutico para varias enfermedades crónicas necesita una atención adecuada para la posibilidad de transferir genes de resistencia a antibióticos (ARG) de los donantes a los receptores. Por lo tanto, se requiere un escrutinio más detallado para la elegibilidad de los donantes. Actualmente, el principal criterio de elegibilidad para los donantes de FMT es la ausencia de consumo de antibióticos por cualquier motivo en los últimos tres meses, sin embargo, no hay criterio para la existencia de ARG en el intestino del donante. Dado el potencial de transferencia de material genético de resistencia a los antibióticos a través del proceso de FMT, la detección de ARG mediante encuestas metagenómicas como uno de los criterios de elegibilidad es una consideración prudente.

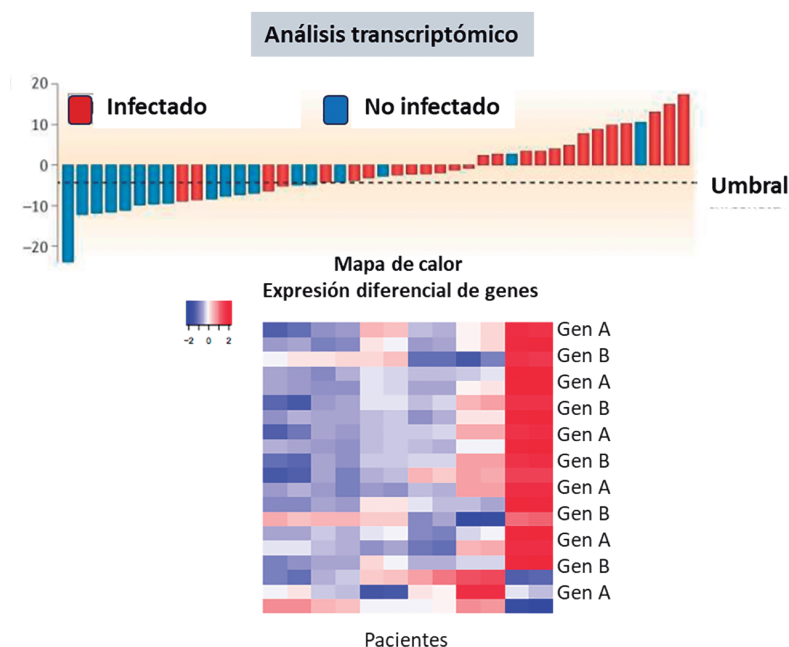
Por otro lado, el análisis de la diversidad bacteriana del microbioma puede revelar la naturaleza infecciosa de una enfermedad. En pacientes con neumonía, se ha encontrado por secuenciación masiva que aquellos con infecciones confirmadas tienen una diversidad bacteriana menor en su microbioma respiratorio. Además, se ha asociado la disbiosis con afecciones como obesidad, diabetes *mellitus* y enfermedad inflamatoria intestinal, abriendo la posibilidad de manipular el microbioma para tratar estas enfermedades (LANGELIER *et al.*, 2018), aquí se destaca un enfoque prometedor en la práctica clínica al utilizar el análisis de la diversidad bacteriana para comprender mejor y tratar diversas condiciones patológicas.

4.7. ESTUDIOS METAGENÓMICOS SOBRE LA RESPUESTA DEL HUÉSPED MEDIANTE ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO

El análisis del transcriptoma humano en respuesta a las infecciones se realiza mediante la técnica de transcriptómica, que se fundamenta en la secuenciación del ARN. Esta técnica tiene el potencial de mejorar los diagnósticos, ya sean de enfermedades infecciosas o no, al examinar la respuesta del huésped ante la infección. Empleando la NGS, es factible desarrollar un indicador clasificador altamente preciso que distinga entre pacientes infectados y no infectados. Este indicador utiliza un umbral, por encima para indicar infección, mientras que las puntuaciones por debajo sugieren su ausencia, logrando una precisión global del 83 %. Además, mediante el análisis del mapa de calor de conglomerados, es posible identificar genes del huésped que se expresan de manera distinta y están asociados con la presencia o ausencia de infección.

La mNGS de bibliotecas de ARN, son utilizadas para detectar patógenos como el virus de ARN en muestras clínicas, incidentalmente proporciona datos de expresión de genes del huésped para análisis de transcriptoma (RNA-seq) (66). Si bien los análisis de RNA-seq se realizan típicamente en muestras de sangre completa o células mononucleares de sangre periférica (PBMC), cualquier tipo de tejido o fluido corporal es susceptible a estos análisis (**figura 35**).

Figura 36. Estudios metagenómicos en respuesta huésped por análisis transcriptómico



Nota. La imagen muestra un análisis transcriptómico para comparar la expresión génica entre individuos infectados y no infectados. En el gráfico superior, los niveles de expresión génica superan o no un umbral, diferenciando claramente ambos grupos. El mapa de calor inferior visualiza los patrones de expresión, donde las variaciones en color indican diferencias significativas entre genes en los estados infectado y no infectado.

La clasificación de genes mediante perfiles de expresión utilizando RNA-seq ha sido empleada para caracterizar diversas infecciones, como la bacteriemia estafilocócica, la enfermedad de Lyme, la candidiasis, la tuberculosis (permitiendo diferenciar entre riesgo de enfermedad latente y activa) e influenza, además, los análisis de datos de RNA-seq basados en aprendizaje automático han sido útiles en la clasificación del cáncer y la aplicación de estos enfoques podría ser prometedora para las enfermedades infecciosas. Se están desarrollando paneles que contienen un número limitado de biomarcadores del huésped como ensayos de diagnóstico para la influenza, la tuberculosis y la sepsis bacteriana (CHIU y MILLER, 2019).

En la **tabla 30** se resumen algunos estudios en donde describen las diferencias en el transcriptoma del huésped empleando técnicas de secuenciación de ARN para investigar las alteraciones en el transcriptoma en diversos contextos relacionados con enfermedades infecciosas. Estos estudios identificaron patrones diferenciales en la expresión génica entre diferentes condiciones de salud y enfermedad, incluyendo la enfermedad de Crohn, el cáncer gástrico y oral. Además, se destacan descubrimientos de nuevos ARN no codificantes largos (lncARN) y su posible implicación en la regulación de la proliferación y migración celular en estos contextos. Estos hallazgos resaltan la importancia de la secuenciación de ARN para comprender mejor las bases moleculares de estas enfermedades.

Tabla 30. *Diferencias en el transcriptoma del huésped empleando técnicas de secuenciación de ARN para investigar las alteraciones en el transcriptoma*

Descripción	Genes afectados	Estudio
Enfermedad de Crohn vs. saludables	15 sobreexpresados, 4 subexpresados	(WASKITO <i>et al.</i> , 2022)
Cáncer gástrico vs. mucosa normal	114 genes con patrones diferenciales	(LANGELIER <i>et al.</i> , 2018).
Cáncer gástrico en pacientes chinos	CDH1 sobreexpresado (36 veces más), DPT y TGFB2 subexpresados	(CHIU y MILLER, 2019)
Cáncer oral	DPT subexpresado, validado por qRT-PCR	(CHIU y MILLER, 2019)
Descubrimiento de lncARN HOXC-AS3	Regulación de proliferación y migración celular	(LANGELIER <i>et al.</i> , 2018).
lncARN THAP9-AS1 en infección con <i>H. pylori</i>	Sobreexpresado en células cancerígenas y tejidos	(ZHANG <i>et al.</i> , 2014; Langelier <i>et al.</i> , 2018)

El RNA-seq demuestra su utilidad en casos clínicos donde el patógeno presente es temporal, de forma similar a las pruebas serológicas, este método permite un diagnóstico indirecto de infecciones basado en respuestas específicas del huésped ante el patógeno (CHIU y MILLER, 2019). También puede ser valioso para diferenciar los patógenos reales en muestras complejas de metagenómica clínica, como abscesos polimicrobianos o líquidos respiratorios (Langelier *et al.*, 2018). Otra aplicación promisorio es su capacidad para distinguir entre causas infecciosas y no infecciosas de enfermedades agudas, al identificar una respuesta no infecciosa en el huésped, como en enfermedades autoinmunes,

se podría considerar la suspensión de antibióticos y optar por tratamientos inmunosupresores (CHIU y MILLER, 2019). Con el continuo aumento de datos de secuenciación, impulsados por pruebas rutinarias de mNGS en la clínica, la integración de lecturas tanto microbianas como humanas puede mejorar la precisión diagnóstica al considerar datos de expresión genética del huésped y del microorganismo.

Además de su uso para describir las diferencias en el transcriptoma del huésped, la técnica de ARN-seq también se emplea para analizar las alteraciones en el transcriptoma de patógenos, como *H. pylori*. En el desafiante entorno natural de alta acidez de *H. pylori*, se identificó una expresión elevada de genes que codifican proteínas antioxidantes, proteínas estructurales del flagelo, particularmente genes de clase 2, T4SS/Cag-PAI, FoF1-ATPasa y proteínas relacionadas con la aclimatación ácida (ZHAO *et al.*, 2014). Asimismo, bajo condiciones de alta concentración salina, varios genes como *sabA*, *hopA* y *hopQ* muestran un aumento, mientras que los niveles de transcripción de *fecA2* y *fecA3* disminuyen, lo que sugiere un aumento significativo en el proceso de unión de *H. pylori* a la mucosa gástrica en entornos con alta salinidad (ZHANG *et al.*, 2014). Estos hallazgos validan la gran versatilidad del ARN-seq en la caracterización detallada del transcriptoma.

4.8. ESTUDIOS METAGENÓMICOS EN APLICACIONES ONCOLÓGICAS

Los marcadores genómicos y microbiómicos en la metagenómica se emplean actualmente para la detección temprana de cáncer y enfermedades crónicas como la diabetes. En el campo de la oncología, se emplean métodos como el secuenciamiento del genoma completo o la NGS selectiva para detectar genes mutados y, al mismo tiempo, identificar virus asociados al cáncer, tales como el herpesvirus, el papilomavirus y el poliomavirus. Además, estos enfoques permiten recopilar información acerca de las interacciones entre virus y huésped (NAKAGAWA y FUJITA 2018).

La Administración de Alimentos y Medicamentos de EE. UU. (FDA) ha aprobado el uso clínico de dos paneles NGS que examinan anomalías genómicas relevantes en muestras tumorales (ALLEGRETTI *et al.*, 2018). La detección de lecturas asociadas a virus integrados y exógenos en estas muestras podría lograrse mediante la incorporación de sondas virales específicas al panel o podría ocurrir incidentalmente mientras se secuencia todo el genoma o exoma del tumor.

En el ámbito oncológico, la identificación de virus asociados a tumores y sus puntos de integración genómica es crucial. Los análisis de tumores virales o biopsias líquidas permiten detectar patógenos y examinar simultáneamente las mutaciones genéticas del huésped. Mediante la secuenciación de próxima

generación (mNGS), se puede identificar el poliomavirus de las células de Merkel, vinculado al desarrollo del carcinoma de células de Merkel. Al secuenciar simultáneamente el ADN del huésped, es posible detectar mutaciones resultantes de la integración del genoma viral que contiene el antígeno T grande completo (LT), seguido de su posterior truncamiento, o el truncamiento del antígeno LT antes de la integración del genoma viral. Ambas mutaciones desencadenan una transformación celular que promueve la proliferación tumoral, a pesar de su potencial, muchas de estas aplicaciones secuenciales aún no forman parte de la práctica clínica habitual (LANGELIER *et al.*, 2018).

El conocimiento adicional sobre las infecciones virales integradas o activas en los cánceres, así como su influencia en las vías de señalización, puede ser útil para orientar intervenciones preventivas y terapéuticas mediante el uso de fármacos antivirales o tratamientos de quimioterapia específicos. Esto se evidencia en la reducción del riesgo de carcinoma hepatocelular asociado al virus de la hepatitis C después del tratamiento con medicamentos antivirales de acción directa (LANGELIER *et al.*, 2018). En el futuro, la aplicación de la secuenciación metagenómica de ADN libre de células, extraído de muestras de biopsias líquidas como el plasma, podría ser aprovechada para la detección simultánea de cánceres en sus etapas tempranas y el diagnóstico de infecciones en pacientes inmunocomprometidos.

4.9. METAGENÓMICA Y PRESENCIA DE VIROMAS

Es difícil exagerar el papel que ha tenido la metagenómica en la comprensión reciente de la diversidad de los virus de ARN. La metagenómica en el siglo XXI ha traído consigo una explosión en el número de especies, géneros y familias de virus de ARN, superando con creces la que siguió al descubrimiento del microscopio en el siglo XVIII para la vida eucariota o los medios de cultivo en el siglo XIX para la bacteriología o la siglo XX para la virología.

Otra aplicación de la metagenómica está en la exploración de la presencia de viromas y su utilización terapéutica para la salud humana. En consecuencia, la presencia de los viromas y su interacción con otros virus en el cuerpo humano ha resultado en el desarrollo de aplicaciones terapéuticas como el trasplante de microbiota fecal, la terapia basada en fagos y la terapia oncolítica. Una revisión previa resumió la detección de varios virus y bacteriófagos del microbioma humano (GRENINGER, 2018). Se encontró que la presencia de virus estaba relacionada con enfermedades inflamatorias intestinales, diarrea, obesidad y diabetes, los hallazgos indican el potencial para desarrollar medidas diagnósticas y terapéuticas para enfermedades relacionadas con virus. Por ejemplo, se ha demostrado que los bacteriófagos son efectivos en el tratamiento de pacientes

infectados con *Clostridium difficile* (SHOGBESAN *et al.*, 2018), aunque se han sugerido y probado aplicaciones del viroma humano, se deben abordar algunas precauciones antes de su aplicación generalizada en seres humanos, como protocolos clínicos, validación de los resultados y detalles de las interacciones mecanicistas (GRENINGER, 2018).

5. METAGENÓMICAS Y RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

Las infecciones microbianas representan la causa más común de prescripción de antibióticos en pacientes ambulatorios. La resistencia antimicrobiana (RAM, por sus siglas en inglés), un fenómeno que abarca la capacidad de varios microorganismos, no solo bacterias, para resistir los efectos de antimicrobianos como antibióticos, antivirales, antifúngicos y antiparasitarios, resalta la importancia de criterios prácticos en su administración (ZHANG y CHENG, 2022), no obstante, si estos tratamientos resultan ineficaces, estas infecciones pueden desencadenar complicaciones graves. La notoria expansión de la AMR en varios patógenos representa un desafío crítico al momento de seleccionar el antibiótico adecuado, dado que los microorganismos han desarrollado diversos mecanismos de resistencia frente a una amplia gama de agentes antimicrobianos.

En este contexto, los enfoques metagenómicos emergen como una herramienta poderosa, capaz de desvelar la diversidad microbiana y los perfiles genéticos presentes en diversos entornos. Estos enfoques se sustentan en el análisis directo del material genético extraído de muestras ambientales, proporcionando una visión integral de las comunidades microbianas y sus posibles capacidades de resistencia. El propósito de esta sección es destacar la utilización de los enfoques metagenómicos, explorando sus aplicaciones, implicaciones y desafíos en la precisa identificación bacteriana, así como en la comprensión de los mecanismos de resistencia a los antibióticos tanto en contextos ambientales como clínicos.

5.1. RESISTENCIA ANTIBACTERIANA (ABR)

La efectividad y el fácil acceso a los antibióticos han llevado a su uso excesivo, lo que a su vez ha provocado el desarrollo de resistencia a fármacos entre los microorganismos. La aparición de resistencia en patógenos bacterianos prominentes representa una importante amenaza para la salud pública que afecta a las poblaciones globales, la continua presión selectiva de varios fármacos ha provocado la aparición de bacterias con mecanismos de resistencia adicionales, lo que ha dado lugar al surgimiento de bacterias resistentes a múltiples fármacos (MDR), bacterias extensamente resistentes a fármacos (XDR) y bacterias resistentes a todos los fármacos (PDR), conocidas como superbacterias.

Las infecciones graves incluyen infecciones nosocomiales debido a cepas de bacterias multirresistentes como *A. baumannii*, *C. difficile*, *Enterobacter spp.*, *enterococos resistentes a vancomicina (VRE)*, *E. coli*, *Haemophilus influenzae*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis* extensamente resistente a fármacos (XDR-TB) o MRSA, considerado como la superbacteria más común (ZHANG y CHENG, 2022).

Además, con la aparición de cepas incurables de *Enterobacteriaceae* resistentes a los carbapenémicos, la humanidad estaba al borde de la era posantibiótica. La resistencia a los carbapenémicos es una de las más problemáticas en la resistencia a los antibióticos, ya que las infecciones con bacterias resistentes a los carbapenémicos tienen una tasa de mortalidad del 48 %.

Los organismos multirresistentes no solo han surgido en entornos hospitalarios, sino que cada vez se detectan más en entornos comunitarios, lo que sugiere la presencia de reservorios de bacterias resistentes a antibióticos más allá de los límites hospitalarios. La respuesta bacteriana a la exposición a los antibióticos ejemplifica la adaptación bacteriana y representa la cúspide de los procesos evolutivos.

El concepto de *supervivencia del más apto*, surge de la extensa adaptabilidad genética de los patógenos bacterianos, desencadenando respuestas específicas que conducen a adaptaciones mutacionales, adquisición de material genético o alteraciones en la expresión génica, otorgando así resistencia a casi todos los antibióticos clínicamente disponibles. En consecuencia, comprender los fundamentos bioquímicos y genéticos de la resistencia se vuelve fundamental para idear estrategias que limiten su aparición y propagación, al mismo tiempo que se innovan enfoques terapéuticos contra organismos multirresistentes (MUNITA y ARIAS, 2016).

La ABR se define por la capacidad de las bacterias para contrarrestar o evitar los efectos de los antibióticos, lo que conlleva a una disminución de su susceptibilidad o a la total resistencia frente a su acción. Esta resistencia impacta de manera notable en la dinámica hospitalaria y en el personal médico y de laboratorio, constituyendo un desafío crucial en el ámbito de la atención médica. Las infecciones bacterianas que muestran resistencia a los antibióticos prolongan las estadias hospitalarias, lo que genera costos directos significativos y ejerce una presión económica considerable (ZHANG y CHENG, 2022). Esta problemática impulsa al personal médico y de laboratorio a buscar ajustes estratégicos con el fin de abordar esta compleja situación y preservar la efectividad de los tratamientos antibacterianos en los entornos hospitalarios.

La resistencia a los antimicrobianos es tan predecible que casi puede considerarse segura. En los últimos 25 años, el surgimiento de una resistencia

extrema en bacterias ha convertido esta situación en un problema crítico de supervivencia, según estimaciones de los CDC de EE. UU., de 2 millones de pacientes infectados, se prevé que 23.000 fallezcan a causa de infecciones bacterianas resistentes a los antimicrobianos, asimismo, los CDC han identificado y catalogado a 18 patógenos multidrogorresistentes (MDR) como amenazas serias, urgentes y preocupantes. Esto destaca la gravedad de la resistencia a los antimicrobianos en el ámbito de enfermedades infecciosas, incluyendo las infecciones del tracto gastrointestinal.

Las infecciones por patógenos que causan diarrea pueden derivar de infecciones potentes del tracto gastrointestinal (ZHANG y CHENG, 2022), entre estas bacterias alarmantes se encuentran la *Salmonella* no tifoidea resistente a medicamentos, las *Enterobacteriaceae* con betalactamasas de espectro extendido (BLEE), las *Enterobacteriaceae* resistentes a carbapenémicos y la *Shigella* resistente a fármacos, todos ellos identificados como patógenos MDR urgentes por los CDC. Además, se ha registrado que la *Salmonella* no tifoidea muestra resistencia a los antibióticos ampicilina y fluoroquinolona para tratar la diarrea. Asimismo, se ha observado que *Campylobacter sp.* ha desarrollado resistencia recientemente a antibióticos importantes, incluyendo ciprofloxacino, ampicilina y eritromicina, tetraciclina y trimetoprim-sulfametoxazol. Además, se informa que las *Enterobacteriaceae* productoras de BLEE son resistentes a varios antibióticos, incluyendo cefalosporinas de tercera generación, penicilina y sus derivados, inhibidores de la vía del folato y fluoroquinolonas (ZHANG y CHENG, 2022). Estos datos resaltan la emergencia de la amenaza de la resistencia antimicrobiana en casos de infecciones del tracto gastrointestinal.

5.2. BASES GENÉTICAS DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS

La capacidad de adaptación genética de las bacterias les brinda la habilidad de enfrentar diversas amenazas ambientales, incluyendo la exposición a compuestos antibióticos que representan un riesgo para su supervivencia. Aquellas bacterias que comparten su entorno con organismos productores de antimicrobianos han desarrollado estrategias ancestrales para contrarrestar el impacto de estos compuestos perjudiciales, permitiéndoles sobrevivir y prosperar en presencia de estos agentes (ZHANG y CHENG, 2022). En términos evolutivos, las bacterias emplean dos estrategias genéticas fundamentales para adaptarse a la presión ejercida por los antibióticos: *i*) la ocurrencia de mutaciones en genes que suelen estar relacionados con la forma en que el compuesto actúa, y *ii*) la incorporación de material genético externo que contiene los elementos responsables de la resistencia, a través de lo que se conoce como transferencia horizontal de genes (THG).

5.2.1. *MUTACIÓN EN GENES RELACIONADOS CON LA RESISTENCIA*

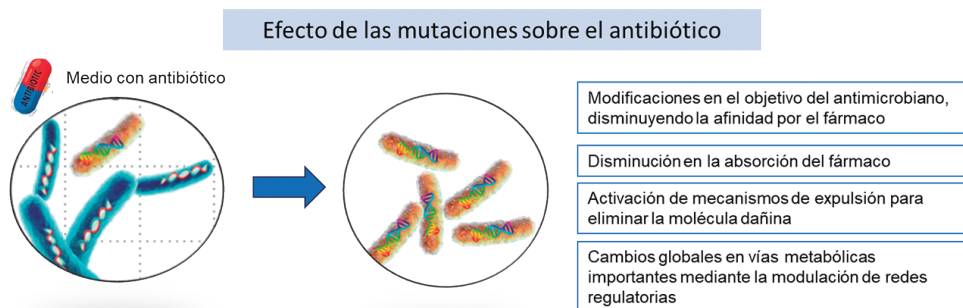
En este escenario, un grupo de células bacterianas, derivadas de una población inicialmente susceptible a un antibiótico, experimenta mutaciones en genes específicos que alteran la eficacia del fármaco, estas mutaciones permiten que estas células sobrevivan y se reproduzcan en presencia del agente antimicrobiano.

Una vez que aparece un mutante resistente, el antibiótico tiene la capacidad de eliminar la mayor parte, o incluso la totalidad, de la población originalmente susceptible, dejando que las bacterias resistentes se multipliquen y prevalezcan (ZHANG y CHENG, 2022) (**figura 37**). Es importante destacar que muchas veces, los cambios genéticos que llevan a la resistencia pueden ser desventajosos para la bacteria en términos de su capacidad general para funcionar adecuadamente, es decir, disminuyen la aptitud o la capacidad de supervivencia.

En circunstancias normales, estos cambios genéticos desfavorables no se mantendrían dentro de la población bacteriana, pero, en presencia del antibiótico, que ejerce presión selectiva, las bacterias que han adquirido resistencia tienen una ventaja de supervivencia y se vuelven predominantes (DAVIES y DAVIES, 2010; ZHANG y CHENG, 2022). Esto destaca el hecho de que las mutaciones que conducen a la resistencia a menudo solo se mantienen y se propagan en presencia del antibiótico, ya que son costosas para la función celular en condiciones normales. En general, las mutaciones que resultan en resistencia antimicrobiana alteran la acción del antibiótico mediante los mecanismos que se describen en la **figura 37**.

La resistencia a los antimicrobianos puede originarse por diversas razones, como alteraciones en el objetivo del fármaco (lo que reduce su efectividad), una menor absorción del medicamento, la activación de mecanismos para expulsar la molécula dañina, o incluso modificaciones en las vías metabólicas fundamentales mediante la regulación de redes específicas, por tanto, la resistencia derivada de mutaciones adquiridas se presenta de manera variada y con distintos niveles de complejidad.

Figura 37. *Efecto de las mutaciones en genes relacionados con la resistencia bacteriana*

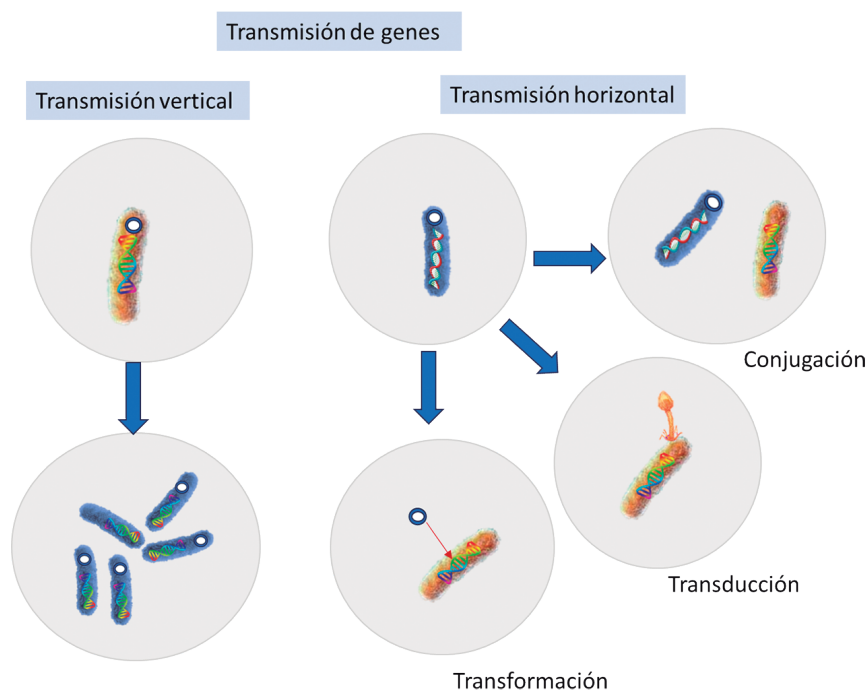


Nota. Las mutaciones en bacterias pueden disminuir la efectividad de los antibióticos mediante reducción de afinidad, menor absorción, expulsión activa y alteraciones metabólicas que favorecen la resistencia.

5.2.2. TRANSFERENCIA DE GENES

Cuando las mutaciones ofrecen una ventaja evolutiva, pueden desarrollarse y llegar a predominar mediante la transmisión horizontal o vertical de genes. Con la gran cantidad de bacterias y su rápida tasa de reproducción, las mutaciones genéticas tienden a ocurrir con una alta frecuencia, lo que permite que las bacterias adquieran rápidamente resistencia a los medicamentos a través de la evolución de la población y la transferencia horizontal de genes (THG). La transmisión vertical de genes se refiere a la transferencia de genes de una generación a la siguiente, generalmente de padres a descendientes directos, como ocurre en la reproducción sexual entre organismos. Este tipo de transferencia implica la herencia de genes a través de la línea germinal, lo que significa que los genes se transmiten de padres a hijos y continúan a lo largo de generaciones sucesivas.

Clásicamente, las bacterias adquieren material genético externo a través de tres estrategias principales: *a*) transformación (incorporación de ADN desnudo), *b*) transducción (mediada por fagos) y *c*) conjugación (sexo bacteriano). La transformación es quizás el tipo más simple de THG, pero solo unas pocas especies bacterianas clínicamente relevantes son capaces de incorporar naturalmente ADN desnudo para desarrollar resistencia (**figura 38**).

Figura 38. *Mecanismos de transferencia de genes en resistencia bacteriana*

Nota. La imagen muestra dos tipos de transmisión de genes en bacterias: transmisión vertical, donde los genes pasan de una célula madre a sus descendientes, y transmisión horizontal, donde los genes se transfieren entre bacterias mediante procesos como conjugación, transformación o transducción.

En entornos hospitalarios, la aparición de resistencia a menudo implica la conjugación, un proceso altamente efectivo para transferir genes mediante el contacto directo entre células. Esta transferencia ocurre a tasas significativas en el tracto gastrointestinal de pacientes que reciben tratamiento antibiótico. La conjugación emplea generalmente EGM para intercambiar información genética valiosa, aunque también se ha observado la transferencia directa de cromosoma a cromosoma. Entre los EGM más relevantes se encuentran los plásmidos y los transposones, ambos cruciales en la propagación y desarrollo de la resistencia antimicrobiana en organismos clínicamente relevantes.

Un mecanismo especialmente eficiente para la acumulación de ARG en el tracto gastrointestinal humano se asocia con los integrones. Estos sistemas de recombinación específicos tienen la capacidad de integrar segmentos de genes móviles en forma de casetes de genes, los integrones proporcionan un método

eficaz y sencillo para agregar nuevos genes a los cromosomas bacterianos, junto con el equipamiento necesario para garantizar su expresión.

5.3. TIPOS DE RESISTENCIA BACTERIANA

Existen varios mecanismos propuestos para explicar el desarrollo de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos. Estos mecanismos abarcan características intrínsecas de la bacteria, aquellas adquiridas a lo largo del tiempo y aquellas que son adaptativas en respuesta a la presión antimicrobiana (WASKITO *et al.*, 2022).

5.3.1. INTRÍNSECAS

Se define como la capacidad innata de las bacterias para resistir antibióticos específicos y no está asociada con condiciones desfavorables relacionadas con la exposición a antibióticos. Esta resistencia está determinada por características genéticas o estructurales específicas de las bacterias que les permiten sobrevivir a la acción de ciertos antibióticos (MUNITA y ARIAS., 2016). Por ejemplo, las *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria gramnegativa conocida por su resistencia intrínseca a una amplia gama de antibióticos. Esta capacidad de resistencia se debe a su membrana externa impermeable, la presencia de bombas de eflujo que expulsan los antibióticos de la célula y la producción de enzimas que degradan ciertos fármacos (PANG *et al.*, 2019). Por otro lado, *Enterococcus faecium*, una bacteria grampositiva, exhibe resistencia intrínseca a la vancomicina, un antibiótico crucial en el tratamiento de infecciones por estafilococos y otras bacterias grampositivas (KHAN *et al.*, 2022).

Esta resistencia se vincula a cambios en la composición de la pared celular que obstaculizan el efecto del medicamento. Asimismo, *Mycobacterium tuberculosis*, agente causante de la tuberculosis, presenta resistencia intrínseca a la isoniacida, uno de los tratamientos fundamentales contra esta enfermedad (NIMMO *et al.*, 2022). Esta resistencia puede estar asociada a mutaciones en genes específicos que afectan la efectividad del fármaco dentro de la célula bacteriana.

5.3.2. ADQUIRIDAS

La resistencia bacteriana abarca una serie de aspectos adquiridos por las bacterias que han llevado a la emergencia y propagación de cepas resistentes a los antibióticos. Estos aspectos, que abarcan desde mutaciones genéticas hasta la transferencia de material genético y el impacto del entorno, desempeñan un papel fundamental en la capacidad de las bacterias para evadir los efectos

de los tratamientos antimicrobianos. Explorar estos aspectos adquiridos de la resistencia bacteriana no solo amplía el entendimiento de este fenómeno, sino que también resalta la necesidad imperativa de estrategias integrales y acciones preventivas para enfrentar este desafío creciente en la medicina moderna (ZHANG y CHENG, 2022).

Su abordaje implica un enfoque completo: uso responsable de antibióticos, desarrollo de nuevos fármacos, promoción de medidas preventivas e información sobre su uso adecuado en medicina humana y veterinaria. Es el proceso mediante el cual las bacterias adquieren y desarrollan la capacidad de resistir a los efectos de los antibióticos a los que anteriormente eran susceptibles, se describe como el resultado de mutaciones cromosómicas o la adquisición de genes a través de elementos genéticos móviles (EGM) mediante transferencia horizontal de genes (MUNITA y ARIAS, 2016).

5.3.3. ADAPTATIVAS

La resistencia adaptativa se refiere a la capacidad que tienen algunas bacterias para desarrollar resistencia a los antibióticos a través de mecanismos específicos en respuesta a la exposición prolongada a estos fármacos. Estos mecanismos adaptativos pueden incluir cambios genéticos o la activación de ciertos sistemas de defensa de la bacteria. A lo largo de extensos periodos de evolución, las bacterias han refinado estrategias sofisticadas para enfrentar desafíos ambientales y presiones, lo que les ha permitido sobrevivir en entornos hostiles, incluyendo el cuerpo humano. Estas bacterias compiten activamente por nutrientes y se defienden de moléculas producidas por otros organismos rivales para asegurar una ventaja en su entorno (ZHANG y CHENG, 2022).

En el contexto de un huésped específico, las bacterias enfrentan ataques constantes por parte del sistema inmunitario. Para colonizar nichos biológicos particulares, es esencial que estas bacterias se adapten y respondan eficazmente a tales desafíos estresantes, por lo tanto, los patógenos bacterianos han desarrollado mecanismos altamente refinados para evitar alteraciones en procesos celulares cruciales, tales como la síntesis de la pared celular y la estabilidad de la membrana (MUNITA y ARIAS, 2016).

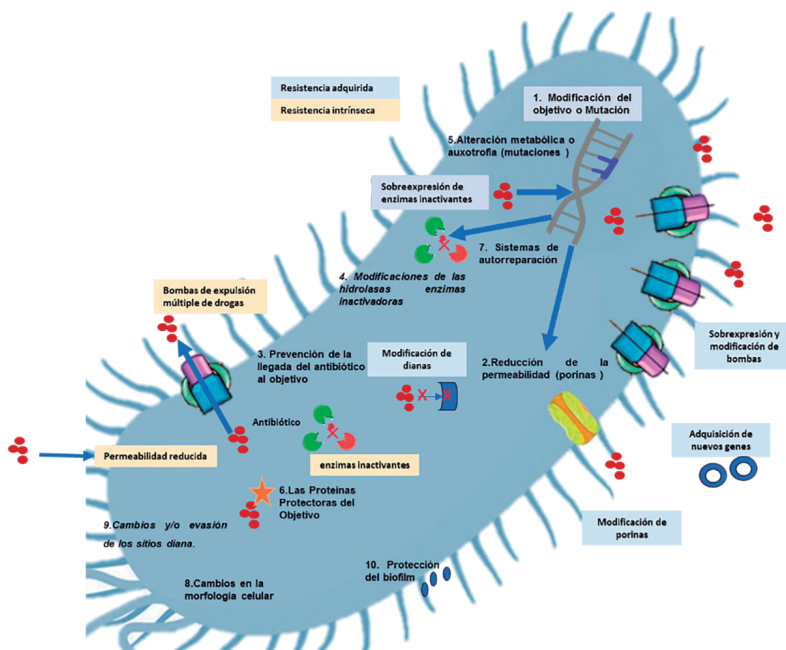
El desarrollo de resistencia a múltiples antibióticos tras una prolongada exposición en entornos hospitalarios, como ocurre con *Pseudomonas aeruginosa*, representa un desafío en su tratamiento (PANG *et al.*, 2019). A su vez, bacterias como *E. Coli* emplean sistemas de bombeo que expulsan los antibióticos, mermando con el tiempo la eficacia de los tratamientos (PATIL *et al.*, 2019), además, bacterias como *Staphylococcus aureus* desarrollan mutaciones genéticas para contrarrestar o eludir los efectos de los antibióticos, otorgándoles una ventaja adaptativa ante estos fármacos (MLYNARCZY *et al.*, 2022). Estos procesos de resistencia adaptativa ilustran la complejidad y la evolución bacteriana en la lucha contra los tratamientos antimicrobianos.

5.4. MECANISMOS RELACIONADOS CON LA RESISTENCIA BACTERIANA

Las bacterias patógenas poseen genes de virulencia que les confieren la capacidad de causar daño en un huésped vulnerable. La propagación de esta virulencia entre distintas especies bacterianas, a través de la transferencia horizontal de genes, influye en la evolución de nuevos patógenos emergentes (PATIL *et al.*, 2019). A lo largo de millones de años de evolución, las bacterias han desarrollado complejos mecanismos de resistencia a los medicamentos para evitar ser erradicadas por moléculas antimicrobianas.

Es crucial destacar que la resistencia a una categoría de antimicrobianos suele alcanzarse mediante diversas vías bioquímicas, y una célula bacteriana puede utilizar varios mecanismos de resistencia para sobrevivir a los efectos de un antibiótico. En este nuevo escenario, comprender los principales mecanismos de resistencia antibacteriana resulta fundamental (figura 39).

Figura 39. *Mecanismos de resistencia bacteriana*



Nota. Se describen los mecanismos de resistencia bacteriana, como modificación de objetivos, reducción de permeabilidad, bombas de expulsión, inactivación enzimática de antibióticos, protección de objetivos, cambios morfológicos, biofilm y autorreparación, que permiten a las bacterias evadir los antibióticos.

Frente a la acción de los antibióticos, los mecanismos relacionados han evolucionado continuamente en las bacterias para resistirlos. Además, se han descubierto nuevos mecanismos de resistencia a los antibióticos en las bacterias, que involucran el ingreso al estado de dormancia, la secreción de proteínas que protegen el objetivo y la regulación del metabolismo y la iniciación de sistemas de autorreparación, que en conjunto constituyen el sistema de defensa bacteriana contra los antibióticos (ZHANG y CHENG, 2022), a continuación, se describirán algunos de los mecanismos más estudiados en la resistencia bacteriana.

5.4.1. *MODIFICACIÓN DEL OBJETIVO O MUTACIÓN*

Para que los antibióticos puedan ejercer su efecto antibacteriano, necesitan interactuar con sitios específicos de acción dentro de las bacterias. Cuando ocurre una mutación o modificación en estos sitios de acción, interfiere con la unión normal entre el antibiótico y su objetivo, lo que afecta la efectividad del antibiótico, esta alteración en el sitio de acción puede hacer que el antibiótico sea menos eficaz o incluso completamente ineficaz contra la bacteria objetivo, lo que puede contribuir al desarrollo de resistencia bacteriana.

La frecuencia de mutaciones espontáneas que llevan a la resistencia a los antibióticos se sitúa generalmente en un rango alrededor de 10^{-8} a 10^{-9} . Esto implica que aproximadamente una bacteria de cada 10^8 a 10^9 desarrollará resistencia debido a una mutación (ZHANG y CHENG, 2022). Estas mutaciones ocurren de manera aleatoria durante la replicación del ADN y, en su mayoría, son desfavorables o perjudiciales para las bacterias huésped. Como resultado, muchas de estas mutaciones no se heredan ni se propagan a nivel celular o de población, ya que no brindan ventajas de supervivencia a las bacterias (**tabla 31**), sin embargo, aquellas mutaciones que confieren una ventaja adaptativa, como la resistencia a los antibióticos, pueden ser seleccionadas y perpetuarse en la población bacteriana (DAVIES y DAVIES, 2010; ZHANG y CHENG, 2022).

Tabla 31. *Ejemplos de bacterias con uno de sus mecanismos de resistencia a los antibióticos causadas por mutaciones*

Bacteria/Gen	Antibiótico	Gen/ mecanismo de resistencia	Descripción de la mutación	Referencia
<i>Mycobacterium tuberculosis (MTB)</i>	Rifampicina (RFP)	Gen rpoB y región determinante de resistencia a la rifampicina (RRDR)	La resistencia a RFP se atribuye principalmente a mutaciones en el gen rpoB, especialmente en la región de 81 bases (posición 507-533) conocida como RRDR. Algunos expertos sugieren que la mutación de la secuencia externa de RRDR también influye en la resistencia.	NIMMO <i>et al.</i> , 2022)
<i>Staphylococcus aureus (MRSA)</i>	Meticilina y β -lactámicos	Modificación de PBPs y adquisición de gen mecA	La resistencia de MRSA a la meticilina se debe a la adquisición de mecA, un gen externo que codifica PBP2a con baja afinidad por β -lactámicos, lo que vuelve ineficaces a estos antibióticos. Esta alteración estructural de PBPs también afecta la eficacia de antibióticos β -lactámicos.	(MLYNARCZY <i>et al.</i> , 222)

Así mismo se han descrito varias bacterias que presentan resistencia a antibióticos como la vancomicina, macrólidos, lincosamidas y antibióticos estreptavidina debido a mutaciones que modifican el sitio de acción, la alteración provoca cambios en la afinidad entre los antibióticos y sus objetivos, desencadenando resistencia bacteriana, fenómeno que se ha observado en la interacción de estos antibióticos con sus blancos moleculares, mostrando una reducción en su efectividad debido a adaptaciones que permiten a las bacterias resistir su acción.

5.4.2. REDUCCIÓN DE LA PERMEABILIDAD

Después de la exposición a antibióticos, la resistencia adquirida a los medicamentos puede ser provocada por cambios en las propiedades y la cantidad de porinas para reducir la permeabilidad de la membrana de las bacterias. Normalmente, las proteínas de canal de la membrana externa de las bacterias constituyen canales transmembrana no específicos con OmpF y OmpC, permitiendo que los antibióticos y otras moléculas farmacológicas ingresen a las bacterias (PATIL *et al.*, 2019). Sin embargo, cuando las bacterias están expuestas repetidamente a antibióticos, se inducirán mutaciones en el gen estructural que codifica la proteína OmpF, lo que resulta en la reducción o pérdida de la proteína de canal OmpF, impidiendo así que los antibióticos como los β -lactámicos o quinolonas ingresen normalmente a las bacterias. En la **tabla 32** destaca algunos ejemplos de mecanismos en bacterias y los antibióticos a los que han desarrollado resistencia.

Tabla 32. *Mecanismos en bacterias y los antibióticos a los que han desarrollado resistencia*

Bacteria	Antibiótico	Mecanismo de resistencia	Referencias
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Penicilina y otros antibióticos	Mutaciones en el gen estructural que codifica la proteína OmpF, impidiendo la entrada normal de antibióticos a las bacterias.	(PATIL <i>et al.</i> , 2019)
<i>Escherichia coli</i>	Fluoroquinolonas	Mutaciones en el gen relacionado con OmpF, reduciendo la entrada de fluoroquinolonas a las bacterias.	(PATIL <i>et al.</i> , 2019)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Macrólidos	Desarrollo de resistencia a los macrólidos, afectando la eficacia de los tratamientos tradicionales.	(MLYNARCZY <i>et al.</i> , 2022)

Las bacterias Grampositivas carecen de membrana externa para restringir la entrada de fármacos, y la membrana externa de las micobacterias está equipada con alto contenido de lípidos, lo que facilita la entrada de fármacos hidrofóbicos (como rifampicina y fluoroquinolonas), al tiempo que limita la entrada de fármacos hidrofílicos (PATIL *et al.*, 2019). También se ha reportado que la mayoría de las cepas con mayor resistencia a los lactámicos presentan mutaciones en el gen relacionado con OmpF, la proteína del canal de la membrana.

Muchos de los antibióticos empleados en la medicina tienen dianas específicas en el interior bacteriano, algunas de las cuales residen dentro de la célula o, en el caso de bacterias gramnegativas, se localizan en la membrana citoplásmica, también llamada membrana interna. Por lo tanto, para ejercer su acción antimicrobiana, el compuesto debe penetrar la membrana externa o citoplásmica (REYGAERT, 2018). Las bacterias han desarrollado mecanismos para evitar que el antibiótico alcance su objetivo dentro de la célula o en el espacio periplásmico, reduciendo la absorción de la molécula antimicrobiana. Este proceso cobra una importancia particular en las bacterias gramnegativas, donde se limita la entrada de sustancias desde el entorno.

En las bacterias Gramnegativas, la pared celular está compuesta principalmente por proteínas y lipopolisacáridos, en los cuales los compuestos hidrofílicos son difíciles de atravesar a través de la bicapa lipídica y deben ser facilitados por canales de porinas o proteínas porinas de la membrana externa (Omps) (PATIL *et al.*, 2019). Cada tipo de bacteria produce porinas específicas (por ejemplo, OmpF, OmpC y OmpE) y la eliminación o daño de una o más Omps es una de las fuentes de resistencia bacteriana. Por ejemplo, la pérdida de la porina OprD en la membrana externa de la célula provoca la ineficiencia o debilidad contra *P. aeruginosa* para muchos antibióticos de amplio espectro, con los cuales los fármacos antibacterianos no pueden ingresar a la célula, lo que lleva a una resistencia natural a los antibióticos (PATIL *et al.*, 2019).

5.4.3. PREVENCIÓN DE LA LLEGADA DEL ANTIBIÓTICO AL OBJETIVO (EFFLUX PUMPS)

Otro mecanismo para impedir la llegada del antibiótico y que resultan en resistencia antimicrobiana, son las bombas de eflujo que hacen referencia a la producción de complejas maquinarias bacterianas capaces de expulsar un compuesto tóxico fuera de la célula. La descripción de un sistema de eflujo capaz de bombear tetraciclina fuera del citoplasma de *E. coli* data de principios de la década de 1980 y fue uno de los primeros en ser descritos, desde entonces, se han caracterizado muchas clases de bombas de eflujo tanto en patógenos gramnegativos como grampositivos (ZHANG y CHENG, 2022).

Dependiendo del desafío del antibiótico o la toxina, el eflujo puede actuar como el mecanismo de resistencia más rápido y efectivo en el repertorio bacteriano de respuestas al estrés. El sistema de bomba de eflujo bacteriano, que ha evolucionado en las bacterias, es un mecanismo de autoprotección para evitar la acumulación de compuestos tóxicos en las células, y puede expulsar estas moléculas dañinas fuera de las bacterias (**figura 38**). Las bombas de eflujo bacterianas (Eps), ubicadas en la membrana plasmática de las bacterias, actúan como transportadores para

expulsar activamente varios sustratos del citoplasma (ZHANG y CHENG, 2022). En la **tabla 33** se resumen las diferentes familias de transportadores de e-flujo, sus roles en la expulsión de compuestos.

Tabla 33. *Familias de transportadores de e-flujo*

Familia de transportadores de flujo	Descripción	Referencia
RND (resistencia a la nodulación y división celular)	Cruciales en bacterias, implicadas en el eflujo de varios sustratos.	
MFS (superfamilia de facilitadores principales)	Importantes en el transporte de una amplia gama de moléculas.	(ZHANG y CHENG, 2022).
MATE (extrusión de compuestos multidrogas y tóxicos)	Implicadas en la expulsión de compuestos multidrogas y tóxicos.	(REYGAERT, 2018) (ZHANG y CHENG, 2022).
SMR (resistencia a múltiples drogas pequeñas)	Relacionadas con la resistencia a pequeñas drogas y compuestos.	(REYGAERT, 2018)
ABC (unión a ATP)	Transportadores activos primarios, eliminan sustratos mediante energía de ATP.	

Muchos sistemas de eflujo activo son inespecíficos, lo que lleva a la resistencia a múltiples fármacos. Por ejemplo, el sistema de eflujo activo (AcrAB-TolC) de *E. coli* puede provocar resistencia a tetraciclinas, florfenicol, eritromicina, enrofloxacin, entre otros (REYGAERT, 2018). Se han identificado múltiples familias de bombas de eflujo en una cepa de bacterias, con múltiples miembros involucrados en cada familia. Por ejemplo, se ha descubierto que las enterobacterias contienen la familia de eflujo RND, la familia de eflujo MFS y la familia de eflujo ABC. La familia de eflujo RND involucra sistemas de eflujo AcrAB-TolC y OqxA-Ba-TolC, con la capacidad de eliminar una variedad de antibióticos (ZHANG y CHENG, 2022).

5.4.4. MODIFICACIONES DE LA MOLÉCULA ANTIMICROBIANA HIDROLASAS ENZIMAS INACTIVADORAS

Una de las estrategias bacterianas más exitosas para luchar con la presencia de antibióticos es producir enzimas que inactivan el fármaco al añadir grupos químicos específicos al compuesto o que destruyen la propia molécula, haciendo que el antibiótico no pueda interactuar con su objetivo.

Las enzimas inactivadoras producidas por las bacterias, como las hidrolasas o enzimas inactivadoras de antibióticos, pueden hidrolizar o modificar los antibióticos que ingresan a la célula para inactivarlos antes de llegar al sitio objetivo (**figura 38**). En las bacterias existen numerosas enzimas de modificación de aminoglicósidos, como la N-acetiltransferasa, la O-fosfotransferasa y la O-adenosiltransferasa, que respectivamente acetilan, fosforilan o adenilan antibióticos aminoglicósidos para alterar su estructura. Las enzimas inactivadoras producidas por las bacterias principalmente involucran enzimas-lactamasas, enzimas inactivadoras de aminoglicósidos, cloramfenicol acetiltransferasa, etc. En la **tabla 34** se muestran las principales enzimas que inactivan el fármaco y se describe los diferentes mecanismos de resistencia bacteriana.

Tabla 34. *Modificaciones de la molécula antimicrobiana enzimas que inactivan hidrolasas*

Mecanismo de Resistencia	Descripción	Referencia
β -lactamasas	Las β -lactamasas pueden unirse covalentemente al antibiótico β -lactámico, alterando su estructura y degradándolo antes de llegar al objetivo. También pueden unirse rápidamente y de manera firme a estos antibióticos mediante la no hidrólisis, evitando su unión al sitio objetivo. Existen hasta ocho tipos de β -lactamasas, cada una capaz de hidrolizar anillos β -lactámicos específicos.	(PATIL <i>et al.</i> , 2019)
Carbapenemasas y BLEE	Las bacterias de <i>Enterobacteriaceae</i> pueden producir enzimas que hidrolizan los antibióticos carbapenémicos, llamadas <i>Enterobacteriaceae</i> productoras de carbapenemasas (CPE). Las BLEE pueden destruir la mayoría de los antibióticos β -lactámicos, pero no los carbapenémicos, y son comunes en bacterias como <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i> , entre otras.	PINTOS-PASCUAL <i>et al.</i> , 2020)
Inactivación de rifampicina	La rifampicina, utilizada para tratar tuberculosis y lepra, ve su actividad inhibida por enzimas dependientes de NAD en las bacterias. Estas enzimas transfieren una molécula de ADP-ribosilo a la estructura de la rifampicina, inactivándola.	(ZHANG y CHENG), 2022)
Cloramfenicol Acetiltransferasas (CAT)	Las CAT transfieren grupos acetilo de la acetil-CoA a la cloramfenicol, impidiendo su unión a los ribosomas y generando resistencia a este antibiótico.	(REYGAERT, 2018)

Genes de resistencia a aminoglicósidos	Genes como lnu (A) a lnu (F) y linAN2, identificados en bacterias como <i>S. aureus</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>M. tuberculosis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Salmonella spp.</i> y otros, inactivan la lincomicina mediante nucleotidiltransferasa. (ZHANG y CHENG), 2022)
--	--

5.4.5. ALTERACIÓN METABÓLICA O AUXOTROFIA

Se ha observado que las mutaciones en genes metabólicos, como el gen *sucA*, pueden inducir resistencia a los antibióticos al reducir la respiración basal y bloquear la toxicidad metabólica de los antibióticos. Los auxótrofos, que carecen de vías metabólicas esenciales, dependen constantemente de la disponibilidad extracelular de compuestos vitales. Las sulfonamidas interfieren con el metabolismo del folato, esencial para la síntesis de ácidos nucleicos, y las bacterias contrarrestan esto aumentando su metabolismo o adquiriendo ácido fólico externamente. Investigaciones recientes han mostrado que la auxotrofia permite a las bacterias ganar tolerancia a los antibióticos al aumentar las interacciones metabólicas y reducir la sensibilidad a los fármacos, incluso en niveles inhibitorios más altos (WILSON *et al.*, 2020).

5.4.6. LAS PROTEÍNAS PROTECTORAS DEL OBJETIVO (TPP, POR SUS SIGLAS EN INGLÉS)

Algunas proteínas sintéticas bacterianas, conocidas como las *Target Protective Proteins* (TPP), protege ciertos blancos de los antibióticos, anulando sus efectos bacteriostáticos. El equipo de Daniel N. Wilson divide la protección del blanco en tres tipos según el modo de acción. En el tipo I, las proteínas TRPPs de tetraciclina revierten la estructura distorsionada del ribosoma, interfiriendo directamente con la interacción de la tetraciclina y el ribosoma. En el tipo II, proteínas ABC-F resistentes a antibióticos alteran la conformación del blanco, removiendo indirectamente los antibióticos. En el tipo III, proteínas de protección del blanco inducen cambios para que el blanco funcione aun estando unido a los antibióticos (SHARKEY *et al.*, 2016). Ejemplos recientes incluyen la resistencia al ácido fusídico por proteínas FusB, las cuales se unen al factor de elongación G y lo expulsan de los ribosomas, permitiendo separar el ácido fusídico.

5.4.7. SISTEMAS DE AUTORREPARACIÓN

El operón de resistencia a múltiples antibióticos de bacterias entéricas desempeña un papel clave en la manipulación de la reparación del ADN y el

mantenimiento de la integridad de la membrana, fortaleciendo así la resistencia a diversos antibióticos. El locus RAM en *E. Coli* se identifica como crucial para resistir fármacos como tetraciclinas, quinolonas y β -lactámicos. La familia de proteínas de resistencia múltiple a antibióticos (Mar) regula activamente el eflujo de antibióticos y otros procesos fisiológicos, con MarR controlando negativamente la expresión de genes de resistencia. Factores como MarA y MarR aumentan la resistencia al modular la expresión de bombas de eflujo y porinas. Investigaciones recientes muestran que MarA impulsa la expresión de genes para reparar el ADN, reduciendo el daño causado por antibióticos y quinolonas. Esta activación de la autorreparación disminuye la entrada de antibióticos en las células, lo que permite a las bacterias tolerar mejor estos fármacos, aunque no elimina por completo su efecto bacteriostático.

5.4.8. CAMBIOS EN LA MORFOLOGÍA CELULAR

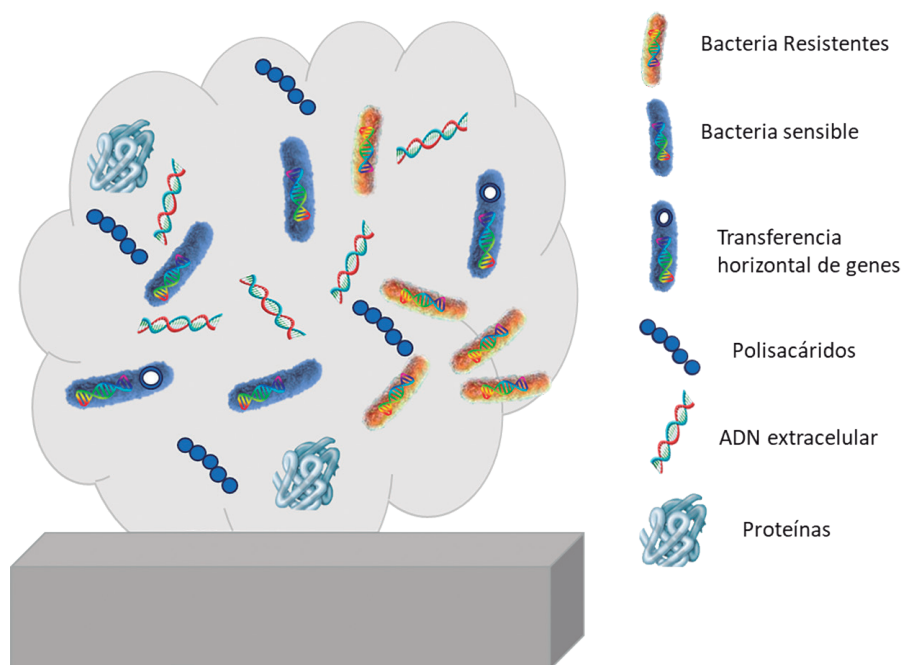
El mecanismo de resistencia antibiótica se adapta mediante una retroalimentación entre el crecimiento y la morfología celular, afectando la eficiencia de absorción de los antibióticos al modificar el área corporal relativa. El aumento del volumen celular diluye los antibióticos dentro de las bacterias, mientras que cambios en la forma reducen la relación volumen-superficie, disminuyendo la entrada de antibióticos. Estudios recientes en *C. crescentus* revelaron que las células pueden recuperar su crecimiento después de la exposición a antibióticos, acompañado de transformaciones morfológicas, manteniendo sus paredes celulares intactas, pero estirándose hasta adoptar una forma en "C". Este cambio permite a las bacterias reducir el tiempo de respuesta a los antibióticos, aumentando su tolerancia (MICKIEWICZ *et al.*, 2020), hay evidencia de que esta metamorfosis celular es una estrategia de adaptación que les permite sobrevivir y recuperarse del impacto de los antibióticos, facilitando su rápido crecimiento posterior a la exposición.

5.4.9. PROTECCIÓN DEL BIOFILM

En el entorno real, las bacterias forman comunidades biofilmáticas que protegen conjuntamente contra los antibióticos. Estos *biofilms* son esenciales para la supervivencia bacteriana, actuando como una defensa al formar barreras físicas que limitan la penetración de antibióticos (HØIBY *et al.*, 2010). Esta forma de supervivencia bacteriana se desarrolla al adherirse a superficies inertes y se caracteriza por una matriz polimérica propia. Los *biofilms* proporcionan una defensa crucial contra amenazas externas y agentes tóxicos, incluyendo antimicrobianos, siendo fundamentales en medicina e investigación ambiental. El proceso de formación de *biofilms* abarca etapas de adhesión, maduración y

dispersión celular, donde la producción de sustancias poliméricas extracelulares (EPS), como polisacáridos, proteínas y ADN extracelular, constituye la estructura del *biofilm* maduro (figura 40).

Figura 40. Anatomía de los *biofilms*: adhesión, maduración y dispersión celular en la producción de EPS



Nota. La imagen muestra la formación de un *biofilm*: adhesión, maduración y dispersión. Durante estas fases, las bacterias intercambian material genético, facilitando la propagación de genes de resistencia y adaptación.

En los *biofilms*, las diferencias de nutrientes y oxígeno generan zonas con menor actividad metabólica, promoviendo células persistentes y mayor tolerancia a los antibióticos. Los *biofilms* ajustan la expresión de genes ya resistentes y, cuando son de múltiples especies, fortalecen la cohesión, modifican la estructura espacial y potencian mecanismos de resistencia (BOTTERY *et al.*, 2021). Estos *biofilms* pueden adoptar estrategias como la resistencia y tolerancia colectiva, y la protección de células sensibles, actuando como una primera línea de defensa para resistir y desarrollar resistencia a los antibióticos. Estos mecanismos incluyen la interacción para mejorar la capacidad de resistir los antibióticos, alterar estados celulares para reducir la muerte celular sin aumentar la concentración inhibitoria

mínima (CIM), y proteger a células sensibles reduciendo la concentración efectiva de antibióticos. En conjunto, las comunidades bacterianas pueden sobrevivir a la exposición a antibióticos gracias a estas interacciones entre especies. La **tabla 35** resume los principales mecanismos de supervivencia de comunidades bacterianas ante antibióticos.

Tabla 35. *Mecanismos de supervivencia de comunidades bacterianas ante antibióticos*

Mecanismo	Descripción	Referencia
Resistencia colectiva a fármacos	La interacción dentro de la comunidad mejora la capacidad de resistencia y crecimiento de la comunidad bacteriana, elevando la CIM.	
Tolerancia colectiva	Interacciones dentro de la comunidad altera estados celulares para ralentizar el metabolismo, reduciendo la tasa de muerte celular sin aumentar la CIM.	(VEGA y GORE., 2014).
Protección de contacto	Reduce la concentración efectiva de antibióticos para proteger a miembros sensibles en la comunidad.	

Los *biofilms* pueden ser de dos tipos principales: monoespecie y mixtos. Los monoespecie consisten en una sola especie bacteriana que forma y sostiene la estructura del *biofilm*. Estudiar estos *biofilms* permite entender cómo una especie se organiza en comunidades adheridas a superficies, brindando información detallada sobre sus propiedades y respuestas ante estímulos externos (BOTTERY *et al.*, 2021). Por otro lado, los mixtos son estructuras complejas conformadas por múltiples especies bacterianas que interactúan entre sí. En estos, las diferentes especies pueden influirse mutuamente, alterando la resistencia a antibióticos, la protección ante agentes externos y la estructura misma del *biofilm*. Estas interacciones afectan su dinámica, su capacidad de colonización y la respuesta a tratamientos antimicrobianos (**tabla 36**).

Tabla 36. Ejemplos de mecanismos de supervivencia de comunidades bacterianas frente a antibióticos

Mecanismos de supervivencia ante antibióticos	Comunidades bacterianas	Referencia
<i>Biofilm</i> mixto	Transformación metabólica de <i>S. aureus</i> por <i>P. aeruginosa</i> , inhibición del crecimiento de <i>S. aureus</i> y protección contra vancomicina.	(BEAUDOIN <i>et al.</i> , 2017)
<i>Biofilm</i> mixto	Aumento de tolerancia de <i>P. aeruginosa</i> a tobramicina inducido por <i>S. aureus</i> mediante agregación y alteración de la estructura del <i>biofilm</i> en sistema modelo CF.	
La transducción de señales interespecíficas	Inducción de bomba de eflujo de multidrogas dependiente de indol en <i>P. putida</i> por señales de <i>E. coli</i> (indol).	(MOLINA-Santiago <i>et al</i> 2014)
Señalización y resistencia conjunta	<i>S. maltophilia</i> altera la estructura del <i>biofilm</i> de <i>P. aeruginosa</i> , estimula la síntesis de proteínas y proporciona resistencia a péptidos antimicrobianos catiónicos como la polimixina	(RYAN <i>et al.</i> , 2008)

Las bacterias Grampositivas y Gramnegativas pueden formar *biofilms* en diversos entornos, desde dispositivos médicos hasta heridas quirúrgicas y dientes. Especies como *S. aureus*, *S. epidermidis* y *P. aeruginosa* son responsables de un gran porcentaje de infecciones relacionadas con dispositivos médicos. La resistencia a los antibióticos en los *biofilms* se debe a varios factores: la lenta o incompleta penetración del fármaco en la matriz polimérica, la interacción entre el fármaco y la matriz que disminuye la eficacia del antibiótico, la presencia de enzimas como las β -lactamasas, cambios genéticos en las células diana, la extrusión de antibióticos mediante bombas de eflujo y características específicas de la estructura bacteriana, como la membrana externa en las bacterias Gramnegativas (BOTTERY *et al.*, 2021).

Estudios revelan que componentes específicos en los EPS de ciertas bacterias, como los ácidos micólicos en *Mycobacterium smegmatis*, están asociados con mayor resistencia a los antibióticos. La producción de *biofilm* tiende a ser mayor en cepas bacterianas con resistencia a múltiples fármacos, como en *P. aeruginosa* MDR y cepas de *A. baumannii* con resistencia múltiple. Además, existe

una correlación entre la producción de *biofilm* en *S. aureus* y la resistencia a la meticilina, según los estudios científicos mencionados (SHARKEY *et al.*, 2016).

5.4.10. CAMBIOS O EVASIÓN DE LOS SITIOS DIANA

Una estrategia común para que las bacterias desarrollen resistencia es evitar la acción del antibiótico interfiriendo con su sitio de acción. Para lograrlo, las bacterias han evolucionado diferentes mecanismos:

- **Protección del sitio de acción:** se protege el sitio de acción, impidiendo que el antibiótico alcance su lugar de unión. Aunque algunos de los determinantes genéticos que codifican proteínas involucradas en esta protección se han identificado en el cromosoma bacteriano, la mayoría de los genes clínicamente relevantes relacionados con este mecanismo de resistencia son transportados por elementos genéticos móviles (EGM).
- **Las modificaciones en el sitio de acción:** las modificaciones reducen la afinidad de la molécula del antibiótico. La alteración del sitio de acción es uno de los mecanismos más frecuentes de resistencia a los antibióticos en patógenos bacterianos, afectando prácticamente a todas las familias de compuestos antimicrobianos. Estos cambios en el objetivo pueden comprender mutaciones puntuales en los genes que codifican el sitio de acción, alteraciones enzimáticas en el sitio de unión (por ejemplo, la adición de grupos metilo) y la sustitución o elusión del objetivo original.

5.5. GENES DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS Y RESISTOMAS

El intestino humano puede actuar como un reservorio de ARG, por lo tanto, contiene tantos ARG como los entornos terrestres y acuáticos. Curiosamente, el uso de antibióticos en humanos en la práctica clínica y en el ganado para la industria alimentaria aumentó significativamente el número de ARG disponibles y la acumulación de ARG en el intestino humano. Por lo tanto, comprender la existencia de ARG en el entorno y su potencial podría llevar a un mejor manejo de los individuos infectados que necesitan tratamiento con antibióticos.

El análisis del resistoma para detectar la resistencia a los antibióticos en muestras clínicas sigue siendo escasamente documentado. Un estudio destacó un resultado prometedor al emplear el mapeo del resistoma a través de una plataforma de secuenciación de nanoporos. La creación de un nuevo conjunto de herramientas denominado poreFUME exhibió un resultado destacable, con una precisión de más del 97 % en la anotación de ARG, presentándose como una solución rápida en escenarios clínicos. Sin embargo, aún existe una

brecha en la investigación, ya que ningún estudio ha comparado este nuevo enfoque molecular con técnicas convencionales, evaluando su fiabilidad como complemento o posible sustituto de la metodología existente basada en cultivos. Se considera fundamental realizar un estudio comparativo que describa su fiabilidad en relación con las prácticas actuales.

El resistoma proporciona una visión integral que permite identificar la posible resistencia a los antibióticos en una comunidad microbiana específica. Al comprender estos determinantes, el resistoma es valioso para prever los patrones de resistencia en dicha comunidad, aunque este enfoque tiene gran potencial, se basa principalmente en mecanismos de resistencia conocidos, por lo que no resulta adecuado para descubrir nuevos mecanismos aún desconocidos.

Su mayor ventaja radica en la capacidad de determinar el resistoma incluso cuando no está presente en los patógenos que causan la enfermedad actual, pero podría transferirse horizontalmente a otras bacterias debido a elementos genéticos altamente móviles (Munita y Arias, 2016). Asimismo, la diversidad de ARG se ve afectada por la composición de la dieta, con pruebas que sugieren que una dieta con mayor contenido proteico y menor contenido de carbohidratos puede aumentar la diversidad de estos genes en el intestino de los perros. Estos hallazgos insinúan una asociación entre la composición nutricional de la dieta, especialmente el contenido proteico, y el resistoma intestinal, abriendo la posibilidad de utilizar estrategias dietéticas para abordar la resistencia a los antibióticos.

La microbiota intestinal humana puede afectar la salud del huésped metabolizando antibióticos. Aunque puede haber una alteración en la composición microbiana después de la exposición a antibióticos, no está claro qué microorganismos afectan activamente la función biológica y qué factores desencadenan su actividad y expresión génica.

Para proporcionar una explicación más detallada, el enfoque metatranscriptómico tiene algunas ventajas adicionales para describir la exposición a antibióticos a corto plazo, lo que puede afectar considerablemente la expresión génica, la fisiología y la estructura del microbioma. En la **tabla 37** se describen algunos estudios sobre respuesta transcripcional a antibióticos en *Neisseria gonorrhoeae* y *Salmonella enterica serovar typhimurium*.

Tabla 37. *Enfoque metatranscriptómico en diferentes microorganismos*

Organismo/estudio	Resultados
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	El perfilado del transcriptoma demostró que la respuesta transcripcional a la azitromicina fue influenciada por la distancia genética y la estructura de la población. Cuatro transcritos (rpsO, rplN, omp3 y NGO1079) mostraron regulación significativa entre fenotipos con exposición al fármaco.
<i>Salmonella enterica serovar typhimurium</i>	Después de la exposición a concentraciones subinhibitorias de clortetraciclina y florfenicol, casi la mitad de los genes, especialmente los relacionados con la función de adherencia y aquellos dentro de las islas de patogenicidad, mostraron una expresión significativamente mayor.

La base de datos que almacena los genes relacionados con la resistencia a los antibióticos (ARG) es sumamente importante para identificarlos. Existen diversas bases de datos y en la **tabla 38** se resumen las bases de datos y recursos relevantes para identificar y comprender la resistencia a los antibióticos y su relación con los genes bacterianos.

Tabla 38. *Bases de datos para resistencia a los antibióticos y su relación con los genes bacterianos*

Base de datos	Descripción
Comprehensive Antibiotics Resistance Database	Amplia base de datos de resistencia a antibióticos
Antibiotics Resistance Gene Database	Base de datos de genes de resistencia a antibióticos
ARG-ANNOtation	Software con 1689 ARG curados sin interfaz web
ResFinder y resistance determinants database	Bases útiles para interpretar resistencia basada en contenido genético
ResistoMap	Herramienta interactiva para visualizar el resistoma
LSTrAP Crowd	Nuevo gen asociado con transcripción de genes de síntesis de proteínas en patógenos bacterianos

5.6. MÉTODOS PARA IDENTIFICAR BACTERIAS RESISTENTES

Es importante reconocer que el concepto de resistencia/susceptibilidad antimicrobiana en la práctica clínica es un fenómeno relativo con múltiples capas

de complejidad. El establecimiento de puntos de corte de susceptibilidad clínica (susceptible, intermedio y resistente) se basa principalmente en la actividad *in vitro* de un antibiótico contra una muestra bacteriana considerable, combinada con algunos parámetros farmacológicos (por ejemplo, concentraciones en sangre y sitio de la infección del antimicrobiano, entre otros). Por lo tanto, al tratar bacterias resistentes a antibióticos, la interpretación de los patrones de susceptibilidad puede variar según el escenario clínico y la disponibilidad de opciones de tratamiento (MUNITA y ARIAS, 2016).

5.6.1. MÉTODOS CONVENCIONALES S PARA EVALUAR RESISTENCIA BACTERIANA

Se utilizan diversas técnicas de manera habitual en microbiología clínica, como las bioquímicas, serológicas y las técnicas de biología molecular quimiotaxonómica. No obstante, estos métodos son intensivos en mano de obra, consumen mucho tiempo (pueden durar hasta tres días) y a menudo resultan insuficientes para diferenciar especies fenotípicamente similares, especialmente al emplear herramientas espectroscópicas y espectrométricas. Esto destaca la importancia de los métodos moleculares para cubrir la brecha dejada por los enfoques basados en cultivos en la identificación de la AMR. En este contexto las ómicas en especial la metagenómica y la metatranscriptómica cobran un papel fundamental.

El *Gold Standard* utilizado para evaluar la susceptibilidad de los microorganismos a los antibióticos es el método de difusión en disco introducido por Bauer y Kirby en 1956, aprovechando el fenómeno de la formación de un gradiente de concentración en el sustrato durante la difusión de la sustancia activa desde el disco del antibiograma. Un logro significativo en el análisis rutinario de la resistencia antibiótica generalizada en bacterias fue el desarrollo de pruebas de epsilometría (E-test), este método combina los principios de la difusión en disco y la dilución en agar en el estudio de la susceptibilidad *in vitro* la metodología puede ser utilizada en una variedad de microorganismos incluyendo anaerobios. Las tiras plásticas E-test están recubiertas con concentraciones predefinidas de antibióticos y se marcan los rangos adecuados de concentración inhibitoria mínima (MIC) en la superficie de la tira.

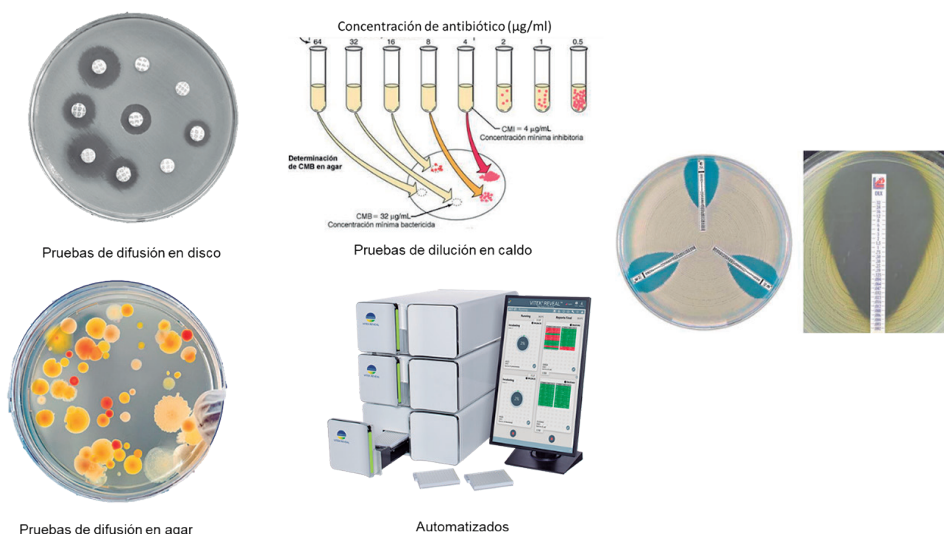
En la actualidad, los métodos comúnmente empleados para detectar organismos resistentes a los antibióticos se fundamentan en el enfoque de cultivo de bacterias viables, utilizando distintas técnicas como ensayos de dilución en medio líquido y agar, pruebas de difusión con discos en agar y pruebas E-test. El enfoque de cultivo es considerablemente antiguo y no tiene una buena sensibilidad, con menos del 30 % de los microbios cultivados. En la **tabla 39** se muestran las técnicas convencionales, sus ventajas y desventajas.

Tabla 39. *Técnicas convencionales, sus ventajas y desventajas*

Técnica	Explicación	Ventajas	Desventajas
Cultivo en placas	Aislamiento bacteriano mediante medios selectivos.	Barato, semicuantitativo contando colonias.	Intenso en mano de obra, <30 % han sido cultivados.
Pruebas serológicas	Uso de anticuerpos para identificar antígenos específicos en microorganismos, como la prueba de aglutinación.	Rápido, semicuantitativo, posible escindir bandas para análisis posteriores.	Sin identificación filogenética, sesgo de PCR.
Electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante (DGGE)/ electroforesis en gel con gradiente de temperatura (TGGE)	Separación en gel de amplicones de ARNr 16S mediante examen basado en desnaturalización.	Rápido, semicuantitativo, posible escindir bandas para análisis posteriores.	Sin identificación filogenética, sesgo de PCR.

Los métodos convencionales para identificar la resistencia a los antibióticos implican una serie de técnicas utilizadas en laboratorios clínicos y microbiológicos (**figura 41**). Algunos de los métodos más comunes son:

- *Pruebas de difusión en disco:* se colocan discos impregnados con diferentes concentraciones del antibiótico en una placa donde se ha sembrado la bacteria. Se mide el halo de inhibición alrededor de cada disco para determinar la sensibilidad o resistencia a esos antibióticos.
- *Dilución en agar:* se preparan placas de agar con diferentes concentraciones del antibiótico. Luego, se siembran las bacterias en el agar y se observa en qué concentración el antibiótico inhibe su crecimiento.
- *Pruebas de dilución en caldo:* similar a la dilución en agar, pero se realiza en medios líquidos. Se diluyen los antibióticos en caldo y se añaden diferentes concentraciones a tubos con bacterias. Se evalúa la concentración mínima que inhibe el crecimiento bacteriano sembrándolos en placa.
- *Test de sensibilidad automatizado:* utiliza sistemas automatizados que realizan pruebas de susceptibilidad a múltiples antibióticos, generalmente basados en métodos de dilución o de difusión. Estos sistemas pueden ofrecer resultados más rápidos y precisos (**figura 41**).

Figura 41. *Métodos convencionales para determinar la CMI*

Nota. La imagen presenta técnicas para evaluar la susceptibilidad bacteriana a antibióticos, como el método de difusión en agar, la dilución para determinar la CMI y CMB y sistemas automatizados. También muestra un cultivo en agar con diversas colonias bacterianas, lo que permite evaluar la efectividad de los antibióticos.

Los métodos de cultivo, aunque ampliamente utilizados en entornos clínicos, tienen una sensibilidad limitada con menos del 30 % de microorganismos intestinales cultivados (OCHOA-REPÁRAZ y KASPER, 2016). Estos métodos, empleados para identificar la resistencia a antibióticos (AMR), tienen desventajas, incluyendo la incapacidad para detectar resistencia en bacterias en estado viable pero no cultivable (VBNC) (AHMAD y KHAN, 2019). Patógenos comunes como *E. coli*, *Salmonella* y *H. pylori* se han encontrado en este estado VBNC (Li *et al.*, 2014), con *E. coli* y *Salmonella* capaces de regresar a un estado activo, lo que puede causar enfermedades (Langgeng *et al.*, 2022). *H. pylori*, en su estado VBNC, adopta una forma cocoidal, aunque se desconocen los detalles de su retorno a la forma patógena espiral (Li *et al.*, 2014). Además, el tratamiento con desinfectantes como la cloración reduce significativamente la capacidad de cultivo de *E. coli* y *Salmonella* en aguas residuales o suelo (Li *et al.*, 2014). En entornos clínicos, la terapia antibiótica empírica puede inducir el estado VBNC en bacterias patógenas, lo que dificulta su identificación precisa. Se sugiere la implementación de pasos adicionales en el proceso de subcultivo para abordar este problema.

Los métodos basados en cultivos introducen sesgos en la evaluación de la resistencia a los antibióticos (AMR), ya que solo una fracción de los microbios ambientales puede cultivarse en laboratorio, lo que podría llevar a una representación errónea de la AMR. Las características genéticas observadas en bacterias cultivadas pueden no representar toda la comunidad microbiana, generando un sesgo. Es crucial interpretar con cuidado los datos de resistencia obtenidos por métodos de cultivo. Además, la presencia de un gen en el medio ambiente no garantiza su funcionalidad. Evaluar la actividad génica mediante la medición de la expresión es fundamental para determinar la presencia real de genes relacionados con la resistencia a los antibióticos en la comunidad microbiana.

5.6.2. MÉTODOS METAGENÓMICOS PARA EVALUAR RESISTENCIA BACTERIANA

En los últimos años, los enfoques para identificar microbios utilizando secuenciación NGS, como la secuenciación del ARNr 16S y la secuenciación *shotgun*, pueden medir cuantitativamente los microbios e identificar rápidamente microorganismos nuevos. Estas técnicas identifican los genes de resistencia directamente en la bacteria, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o la secuenciación genómica, lo que permite identificar genes específicos asociados con la resistencia a los antibióticos (ZHANG y CHENG, 2022). Existen varias técnicas moleculares disponibles para caracterizar la comunidad microbiana en un entorno específico, la **tabla 40** resume algunas de las técnicas disponibles, con sus ventajas y desventajas.

Tabla 40. *Técnicas metagenómicas*

Técnica	Explicación	Ventajas	Desventajas
Secuenciación del gen 16S rRNA clonado	Clonación de amplicon de ARNr 16S de longitud completa, secuenciación de Sanger y electroforesis capilar.	Identificación filogenética, cuantitativa.	Sesgo de PCR, laborioso, costoso, sesgo de clonación.
Secuenciación directa de amplicones de ARNr 16S.	Secuenciación paralela masiva de amplicones parciales de ARNr 16S.	Identificación filogenética, identificación bacteriana cuantitativa, rápida y novedosa.	Sesgo de PCR.
Secuenciación de microbioma tipo <i>shotgun</i>	Secuenciación paralela masiva de todo el genoma.	Identificación filogenética, cuantitativa.	Caro, requiere una gran potencia computacional.

La identificación de resistencia a antibióticos puede hacerse buscando similitudes en secuencias de ADN en bases de datos especializadas. Entre estas se encuentran la Base de Datos de ARG (ARDB), la Base de Datos de Genes de Resistencia Antibiótica Estructurada (SARG), la Base de Datos Integral de Resistencia a Antibióticos (CARD) y ResFinder. Estas bases proporcionan información valiosa sobre genes específicos relacionados con la resistencia a los antibióticos (ZHANG y CHENG, 2022).

Diversos hallazgos confirman la importancia de los EGMs en la evolución bacteriana y en la determinación de características genómicas, incluida la resistencia a los antibióticos. Los análisis del metagenoma no se limita a identificar la secuencia del ADN microbiano en un entorno específico, sino que también examina la presencia de ADN que no está necesariamente asociado a ningún organismo. Este enfoque permite identificar más EGMs en el entorno, una parte del ADN que puede ser una fracción menor del material genético disponible en ese entorno y que desempeña funciones diversas en la adaptación de las bacterias a diferentes condiciones adversas. Este tipo de análisis plantea desafíos técnicos particulares debido a la variabilidad y posible limitación de estos EGMs en muestras ambientales. La **tabla 41** presenta estudios en los que se ha demostrado la presencia de EGMs por técnicas de metagenómica.

Tabla 41. Presencia de EGMs por técnicas de metagenómica

Estudio	Hallazgos con metagenómica	Referencia
<i>H. pylori</i>	Estudios han revelado variaciones en la presencia de EGMs entre diferentes poblaciones genéticas, mostrando una asociación con linajes filogeográficos específicos de esta bacteria. Además, estos estudios han proporcionado evidencia de transferencias genéticas tanto entre linajes como entre especies contemporáneas de <i>H. pylori</i> .	(LANGGENG <i>et al.</i> , 2022)
L e c h e materna	Se ha observado que las características de los EGMs en bebés guardan una gran similitud con los de sus madres, y se ha relacionado la interrupción de la lactancia materna y el uso de antibióticos con un aumento en la presencia de ciertos genes de resistencia en estos elementos.	(Z H A N G y CHENG, 2022)

5.6.3. MÉTODOS DE METATRANSCRIPTÓMICA PARA EVALUAR RESISTENCIA BACTERIANA

La investigación del metatranscriptoma difiere de la del metagenoma. Mientras que el metagenoma se centra únicamente en describir el ADN presente en un entorno, el metatranscriptoma se adentra en el conjunto completo de moléculas

de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) expresadas por un organismo (BASHIARDES *et al.*, 2016). Aunque técnicamente resulta más desafiante llevar a cabo este tipo de estudio debido a la complejidad en el manejo de las muestras de ARN en comparación con las de ADN, la información generada a partir del perfilado funcional de las células proporciona una comprensión más detallada de los procesos biológicos (WASKITO *et al.*, 2022). En consecuencia, puede ofrecer detalles cruciales sobre los procesos biológicos fundamentales que subyacen en el mantenimiento celular.

Existen tres métodos diferentes para estudiar el ARN mensajero en las células: el análisis basado en hibridación (tecnología de microarreglos), las técnicas basadas en secuenciación de Sanger (como el análisis serial de expresión génica (SAGE) y el secuenciamiento masivo de firmas (MPSS), y la aproximación de alta capacidad de secuenciación de próxima generación de ARN (ARN-seq) (WASKITO *et al.*, 2022). Las diferencias entre estas técnicas, así como sus ventajas y desventajas se resumen en la **tabla 42**.

Tabla 42. Comparación de técnicas para caracterizar el nivel de expresión

Técnica	Microarreglos	Secuenciación de ADNc o EST	Secuencia de ARN
Principio básico	Hibridación	Secuenciación de Sanger	Secuenciación de alto rendimiento
Expresión genética caracterizada	Sí	Limitado	Sí
Dependencia de la secuencia del genoma	Sí	No	En algunos casos
Rango de cuantificación	Hasta unos cientos de veces	No práctico	>8.000 veces
Diferenciación de la expresión alélica	Limitado	Sí	Sí
Ruido de fondo	Alto	Bajo	Bajo

En el análisis del transcriptoma con microarreglos, se suele realizar la incubación de cADN teñido fluorescentemente junto con microarreglos personalizados o sondas de oligonucleótidos de alta densidad disponibles comercialmente. En términos generales, los enfoques basados en la hibridación pueden generar grandes volúmenes de datos a un costo relativamente bajo, excepto en la caracterización de genomas extensos que requieren una mayor resolución

(ZHANG y CHENG, 2022). Sin embargo, este método tiene limitaciones, como depender de la secuencia genómica conocida y presentar un posible nivel elevado de ruido de fondo debido a reacciones de hibridación cruzada.

Para superar estas limitaciones, se introdujeron métodos basados en etiquetas, como SAGE y MPSS. Estas técnicas ofrecen una alta capacidad de análisis y niveles de expresión digitales más precisos con un nivel de ruido de fondo menor. Sin embargo, debido a que utilizan la secuenciación de Sanger, pueden ser más costosos que los métodos basados en hibridación, y algunas etiquetas pueden no ser capaces de asignarse de manera única al genoma de referencia. Además, estos métodos solo analizan una parte del transcripto y pueden encontrar dificultades para distinguir secuencias similares entre sí (ZHANG y CHENG, 2022).

Las limitaciones mencionadas restringen el uso de la tecnología de secuenciación tradicional en la descripción de la estructura de los transcriptomas. El ARN-seq, siendo la técnica más moderna para evaluar la expresión génica mediante la secuenciación profunda, presenta varias ventajas respecto a otros métodos. Esto incluye la capacidad de identificar cambios novedosos en los factores de transcripción, algo que los métodos basados en sondas podrían pasar por alto.

Además, su amplio rango dinámico para las alteraciones transcriptómicas, que puede superar las 8.000 veces, permite un análisis más detallado de los cambios en los transcriptomas. A pesar de sus beneficios, esta técnica presenta como principal desventaja la incapacidad de distinguir entre tipos específicos de ARN, como el ARN mensajero (ARNm), los microARN (miARN), el ARN no codificante y otros tipos debido a la naturaleza de la secuenciación del ARN disponible (ZHANG y CHENG, 2022).

Asimismo, las diferencias entre los ARN de gran tamaño y los más pequeños, como los piARN, siARN, miARN y otros, se presentan al ser secuenciados después del proceso de adaptación. Los ARN de mayor tamaño deben fragmentarse en secciones más pequeñas, generalmente de 200 a 500 pb, para adaptarse a los secuenciadores, principalmente aquellos de la plataforma Illumina. Para lograr esto, se utilizan diversas técnicas de fragmentación, como la hidrólisis o nebulización del ARN y el tratamiento con DNasa I o la sonicación del ADN complementario (ZHANG y CHENG, 2022).

Además, los estudios metatranscriptómicos que emplean secuenciación de ARN (RNA-seq) permiten la identificación de cambios funcionales en enfermedades específicas del tracto GI (el uso de técnicas basadas en bioinformática ofrece ventajas para descubrir nuevos antibióticos mediante el estudio de ARG, por sus siglas en inglés) y el resistoma (BASHARDES *et al.*, 2016). Por lo tanto, aprovechar estas tecnologías para acelerar la determinación de la resistencia a los antibióticos, ayudando en la selección de terapias antibióticas adecuadas y el desarrollo de fármacos, se presenta como un área de investigación intrigante.

5.6.4. VENTAJAS DE ENFOQUES METAGENÓMICOS Y METATRANSCRIPTÓMICOS EN LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

La resistencia a los antibióticos puede generar no solo complicaciones en pacientes con infecciones. Un microorganismo resistente, que se ha desarrollado mediante diversos mecanismos, también puede desencadenar un desequilibrio microbiano intestinal que con el tiempo se convierte en un síndrome sistémico. Este desequilibrio se ha señalado como el factor principal que predispone a la presencia de enterococos resistentes a la vancomicina, así como a otros organismos resistentes a los antibióticos, como *Klebsiella* y *E. Coli*.

Dado que este desequilibrio se considera el factor de mayor riesgo en el desarrollo de infecciones con estos organismos, la mejor opción es implementar la estrategia de reequilibrio del microbioma intestinal para restablecer su salud. Además, mediante el uso del enfoque metagenómico, se puede investigar el estado de la comunidad microbiana intestinal en individuos infectados con estos organismos resistentes en comparación con aquellos que no los albergan. También se podría explorar el motivo por el cual los pacientes afectados desarrollan síntomas o permanecen asintomáticos, así como las comunidades microbianas y sus funciones específicas que proporcionan resistencia a la colonización de estos organismos resistentes.

El enfoque de secuenciación metagenómica para identificar bacterias sensibles y resistentes a los antibióticos muestra un gran potencial. En contraste con el método convencional que se basa en identificar y aislar organismos específicos, los datos metagenómicos abarcan varios componentes esenciales, como los determinantes de resistencia a los antibióticos presentes en la comunidad microbiana, conocidos como resistomas.

La implementación metagenómica para el perfilado de la resistencia a los antibióticos se ha llevado a cabo en varios lugares del mundo. Los resultados en estudios del intestino humano y de los genes de resistencia descubiertos en todo el mundo se presentan en la **tabla 43**.

Tabla 43. *Genes de resistencia a antibiótico*

Aspecto	Descripción
Genes de resistencia comunes	VanRG y otros ARG como bacitracina, tetraciclina, macrólidos, lincosamidas, estreptograminas (MLS) y cefalosporinas se encuentran comúnmente en bacterias Gram-positivas, anaerobias y comensales del huésped. Gen tetQ relacionado con resistencia a tetraciclina.

Influencia del uso de antibióticos	Se sugiere que la diversidad y abundancia de ARG en el intestino están afectadas por el uso de antibióticos, incluso en áreas remotas sin exposición a antibióticos comerciales.
Ubicuidad de genes de resistencia a tetraciclina	Aunque el uso clínico de tetraciclina es escaso, los genes relacionados con la resistencia a esta son muy comunes en el intestino humano, posiblemente debido a su función original no relacionada con la resistencia a antibióticos y a la coselección por consumo de alimentos contaminados con metales pesados.
Distribución geográfica	Los tipos de ARG (MLS) y gen de resistencia a eritromicina (ermF) son frecuentes en la población china en comparación con otras poblaciones.
Genes de resistencia a la vancomicina	Genes similares a los de microorganismos intestinales saludables y encontrados en muestras de <i>permafrost</i> sugieren la resistencia intrínseca a la vancomicina en el intestino humano, aunque se necesita más investigación.

La **tabla 44** muestra información sobre la implementación metagenómica para el perfilado de la resistencia a los antibióticos en diferentes regiones, los genes observados, y los hallazgos significativos en cada caso, así como las explicaciones detrás de ciertos fenómenos observados. Las referencias asociadas a estos hallazgos se encuentran al final de la tabla.

Tabla 44. Implementación metagenómica para el perfilado de la resistencia a los antibióticos

Región/genes de resistencia	Antibióticos	Genes observados	Hallazgos significativos
Global	Vancomicina, Bacitracina, Tetraciclina, Macrólidos, Lincosamidas, Streptograminas, Cefalosporinas	VanRG, TetQ, ermF	Común en bacterias Grampositivas, anaerobias y comensales del huésped.
Distribución geográfica	MLS, ermF	MLS, ermF	Población china más frecuente en comparación con otras.
Características intrínsecas	Vancomicina	<i>Enterococcus</i> / <i>Streptococcus</i>	Similitud con microorganismos intestinales saludables y en <i>permafrost</i>

Hallazgos significativos	
Áreas remotas	Diversidad afectada por el uso de antibióticos sin exposición comercial
Antibióticos vs. resistencia	Uso de tetraciclina raro, pero genes de resistencia comunes (TetQ)
Explicaciones peculiares	Genes tetraciclina en <i>permafrost</i> antiguo y coselección por contaminación alimentaria

5.6.5. IMPLEMENTACIÓN DE TÉCNICAS DE METAGENÓMICA Y METATRANSCRIPTÓMICA EN ANÁLISIS DE RESISTENCIA

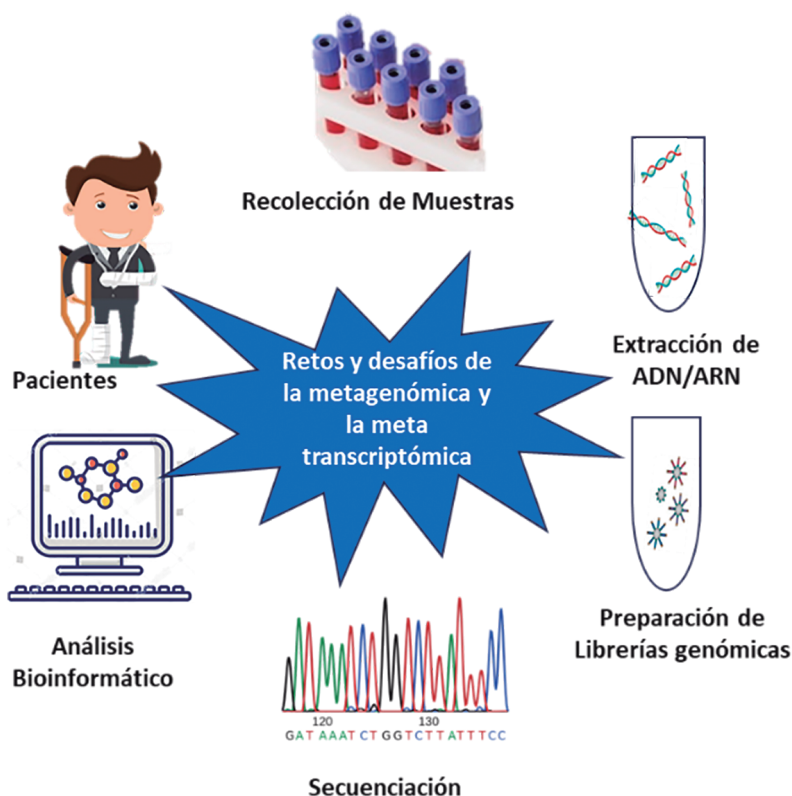
En cuanto a desafíos y limitaciones, la introducción del análisis metagenómico y metatranscriptómico de la resistencia a los antimicrobianos en las prácticas clínicas se encuentra con desafíos y potenciales inconvenientes en su ejecución. Aunque estas técnicas han demostrado tener un potencial prometedor para descubrir el origen desconocido de una enfermedad, presenta varios obstáculos y posibles problemas cuando se aplica en la rutina clínica, incluyendo disponibilidad, costos, recursos humanos y validez actual (**figura 42**). Estos desafíos no solo recaerán en el personal médico, sino también en los pacientes que requieren este tipo de análisis, ya que aún está poco difundido. Además, mantener altos estándares de ejecución y asegurar la calidad del servicio continúa siendo un desafío significativo para integrar este enfoque como parte de los exámenes clínicos de rutina.

La implementación de técnicas metagenómicas y metatranscriptómicas para el análisis de resistencia antimicrobiana enfrenta diversos desafíos tanto para el personal médico como para los pacientes. La ejecución y mantenimiento de la calidad del servicio son problemáticos al considerar este enfoque como parte de los exámenes clínicos habituales (ZHANG y CHENG, 2022). El flujo de trabajo, desde la recolección de la muestra hasta la secuenciación, requiere un personal altamente capacitado en biología molecular, trasladar metodologías de investigación a entornos clínicos implica considerar la validez analítica, clínica y utilidad de estas técnicas.

La infraestructura de secuenciación, no siempre presente en laboratorios clínicos de microbiología, limita la aplicación de métodos convencionales para determinar la resistencia a los antibióticos. Los sistemas bioinformáticos disponibles para el análisis de datos de nueva generación necesitan ser personalizados y mantenidos por expertos en programación, lo que incrementa significativamente los costos del análisis (ZHANG y CHENG, 2022). La preparación de muestras y la secuenciación *shotgun* sin una hipótesis previa son procesos críticos, aunque la falta de diversidad en la detección de patógenos puede ser una

limitación. La secuenciación dirigida, como el gen 16S ARNr para identificar bacterias, podría resolver este problema.

Figura 42. *Desafíos y problemas potenciales durante la implementación del perfilado metagenómico y metatranscriptómico*



Nota. La imagen destaca los retos y desafíos de la metagenómica y metatranscriptómica, mostrando elementos como tubos de ensayo, gráficos de datos bioquímicos y secuencias de ADN, lo que sugiere la complejidad de analizar comunidades microbianas y sus expresiones génicas en diversos entornos.

A pesar de las dificultades, la detección molecular de resistencia antimicrobiana ofrece ventajas al predecir genes y entornos relacionados con la resistencia. Aunque aún no está totalmente validada para su uso rutinario, puede ser invaluable en la identificación de brotes de resistencia (ZHANG y CHENG, 2022). La investigación y la práctica clínica se beneficiarán de futuros avances que optimicen estas técnicas.

6. OTRAS APLICACIONES DE LA METAGENÓMICA

La metagenómica ha trascendido su papel inicial en el estudio de comunidades microbianas para abarcar una amplia gama de aplicaciones. Más allá de su utilidad en la caracterización de la diversidad y funcionalidad de microbiomas, esta disciplina ha encontrado aplicaciones innovadoras en campos tan diversos como la agricultura, la ecología y la industria. Al explorar secuencias genéticas provenientes de muestras ambientales complejas, la metagenómica ha revelado su potencial en la identificación de nuevos genes, en la comprensión de interacciones ecológicas y en el desarrollo de estrategias para la salud humana, la sostenibilidad ambiental y la mejora de procesos industriales. Sus aplicaciones continuas y en evolución desempeñan un papel fundamental en la comprensión y optimización de los ecosistemas microbianos, prometiendo avances significativos en numerosos campos interdisciplinarios.

6.1. METAGENÓMICA Y SU PAPEL EN LA MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL

La metagenómica se perfila como un campo de investigación vanguardista dentro de la microbiología ambiental por su capacidad de revelar los enigmas genéticos que perviven en una amplia gama de ecosistemas. Este campo de estudio, caracterizado por su enfoque innovador, nos conduce hacia un universo imperceptible a simple vista, donde se despliega la inmensa diversidad genética de los microorganismos que cohabitan en el entorno (WU *et al.*, 2022).

Al abordar comunidades microbianas íntegras sin la necesidad de cultivar organismos de forma individual, la metagenómica se convierte en un recurso esencial para descifrar las intrincadas relaciones existentes entre los microbios y sus hábitats naturales (WU *et al.*, 2022). Desde su surgimiento, esta disciplina ha representado una herramienta invaluable para la comprensión de la influencia del microbiota en la salud tanto de los ecosistemas terrestres como acuáticos y los esfuerzos de conservación medioambiental.

En el ámbito ambiental, la metagenómica se utiliza para monitorear la calidad del agua, suelos y aire. Permite identificar microorganismos indicadores de contaminación y entender cómo afectan los cambios ambientales a las comunidades microbianas.

6.2. METAGENÓMICA Y DIVERSIDAD MICROBIANA EN SUELOS

El suelo, una parte crucial de la tierra que alberga componentes orgánicos e inorgánicos, constituye un hábitat esencial para diversas especies. Gracias a la metagenómica, se ha explorado la variedad microbiana en distintos tipos de

suelo. Por ejemplo, un estudio de las comunidades microbianas en suelos de distintos ecosistemas (desiertos, bosques, pastizales y tundras) reveló vínculos entre la composición bacteriana, los genes funcionales y el entorno (FIERER *et al.*, 2012). Los desiertos, por ejemplo, exhiben una baja diversidad taxonómica y funcional en comparación con otros lugares, presentando una abundancia de genes relacionados con la regulación osmótica y la latencia. Además, en la comunidad bacteriana del desierto, se observa una escasez de genes resistentes a antibióticos, lo que sugiere una menor competencia en este bioma (**tabla 45**). De manera similar, los microbiomas de suelos árticos a diferentes profundidades mostraron una disminución marcada en la diversidad microbiana y un cambio notable en los genes funcionales a medida que se profundizaba (WU *et al.*, 2022). Además, se encontró que los microbiomas de suelos de selvas tropicales son menos diversos que los de pastizales y suelos agrícolas (KARTHIKEYAN *et al.*, 2021).

Tabla 45. *Metagenómica y diversidad microbiana en suelos*

Estudio	Resultado	Referencia
Comunidades microbianas en diferentes ecosistemas. (desiertos, bosques, pastizales y tundras).	Los desiertos exhiben baja diversidad taxonómica y funcional. Genes asociados con osmorregulación y latencia son abundantes. Escasez de genes resistentes a antibióticos en la comunidad bacteriana del desierto.	(FIERER <i>et al.</i> , 2012).
Microbiomas de suelos árticos a diferentes profundidades.	Disminución significativa de biodiversidad microbiana y cambios notables en genes funcionales con la profundidad.	(WU <i>et al.</i> , 2022)
Comparación de microbiomas en suelos de selvas tropicales, pastizales y agrícolas	Menor diversidad en suelos de selvas tropicales respecto a pastizales y suelos agrícolas.	(KARTHIKEYAN <i>et al.</i> , 2021)

La metagenómica ha sido fundamental en desvelar la complejidad y la interacción de la vida microbiana en el suelo. Desde distintos hábitats como desiertos, suelos árticos y selvas tropicales, estos estudios han ofrecido una visión detallada de cómo la diversidad microbiana está influenciada por el ambiente. La escasez de genes resistentes a antibióticos en desiertos, la evolución de la diversidad en suelos árticos y la menor diversidad en selvas tropicales comparadas con otros ecosistemas resaltan la íntima relación entre los microbios del suelo y su entorno. Estos descubrimientos subrayan el papel crucial de la metagenómica en la comprensión y preservación de este recurso esencial para la vida en el planeta.

La metagenómica ha proporcionado una panorámica de los cambios en los microbiomas del suelo con el tiempo. Por ejemplo, después de la construcción de un oleoducto, se observó un aumento significativo de *Microcoleaceae*, *Pinaceae* y *Williamsiaceae*, junto con una reducción notable de *Psychromonadaceae* y *Leuconostocaceae* en muestras de 2016 en comparación con las de 2013 (BONOMO *et al.*, 2022). Igualmente, se identificó un incremento de géneros como *Nitrosospira* y *Sulfuricella*, asociados con la tolerancia al cadmio, en suelos contaminados con cadmio en comparación con suelos no contaminados (FENG *et al.*, 2018). En suelos contaminados con hidrocarburos totales de petróleo (TPH), se observó un aumento del 9 % en la proporción de bacterias degradadoras de TPH (beta-, gamma- y delta-proteobacterias) en comparación con el suelo de control. La **tabla 46** resume algunos de los cambios observados en los microbiomas del suelo después de diferentes tipos de contaminación o alteraciones, proporcionando una visión clara de los efectos específicos identificados en cada situación por técnicas metagenómicas.

Otro estudio en suelos contaminados con mercurio mostró diferencias en los microbios entre los suelos rizosféricos y la masa. Mientras que los suelos rizosféricos presentaban una alta presencia de proteobacteria, los de masa estaban mayormente compuestos por *Actinobacteria* y *Alphaproteobacteria*. Esto evidenció efectos selectivos en suelos contaminados, útiles para la biorremediación (GONZÁLEZ *et al.*, 2022). En una observación reciente de la composición microbiana en las rizosferas de plantas costeras, se reveló una relación entre minerales del suelo y comunidades bacterianas, insinuando un papel de los microbios en la resistencia al estrés de las plantas costeras (VU *et al.*, 2022).

Tabla 46. Cambios observados en los microbiomas del suelo después de diferentes tipos de contaminación o alteraciones

Cambios en microbiomas del suelo identificado por técnicas metagenómicas	Resultado	Referencia
Después de la construcción de un oleoducto	Aumento significativo de <i>Microcoleaceae</i> , <i>Pinaceae</i> y <i>Williamsiaceae</i> . Reducción notable de <i>Psychromonadaceae</i> y <i>Leuconostocaceae</i> en muestras de 2016 en comparación con 2013.	(BONOMO <i>et al.</i> , 2022)
Suelos contaminados con cadmio	Incremento de géneros como <i>Nitrosospira</i> y <i>Sulfuricella</i> asociados con la tolerancia al cadmio en comparación con suelos no contaminados.	(FENG <i>et al.</i> , 2018)

Suelos contaminados con hidrocarburos totales de petróleo (TPH)	Aumento del 9 % en la proporción de bacterias degradadoras de TPH (beta-, gamma- y delta-proteobacterias) en comparación con el suelo de control.	(KIM <i>et al.</i> , 2021)
Suelos contaminados con mercurio	Alta presencia de proteobacteria en suelos rizosféricos. Predominio de <i>Actinobacteria</i> y <i>Alphaproteobacteria</i> en suelos de masa. Efectos selectivos útiles para biorremediación.	(GONZÁLEZ <i>et al.</i> , 2022)

Así mismo, la transferencia horizontal de genes (THG) es un aspecto clave en la evolución bacteriana y a menudo desempeña un papel importante en el desarrollo de la resistencia antimicrobiana. La mayoría de los agentes antimicrobianos utilizados en entornos clínicos derivan o están vinculados a compuestos presentes de manera natural en el suelo y en el entorno. Las bacterias que coexisten con estas moléculas a menudo poseen características genéticas inherentes de resistencia. Hay evidencia sólida que respalda la noción de un resistoma ambiental, una fuente significativa para la adquisición de AGRs en bacterias que son clínicamente relevantes. Este intercambio genético se ha asociado con la propagación de la resistencia a varios antibióticos comúnmente utilizados.

La disponibilidad de datos metagenómicos del suelo condujo a la formación del conjunto de datos de secuenciación más grande de acceso público, administrado y actualizado anualmente por la Red Nacional de Observatorios Ecológicos (NEON, por sus siglas en inglés) (WERBIN *et al.*, 2021). Los resultados de la metagenómica del suelo no solo han evidenciado la diversidad microbiana, sino también posibles métodos para descontaminar suelos polucionados.

6.3. METAGENÓMICA EN AGUA

La metagenómica ha sido empleada para analizar las comunidades microbianas presentes en diferentes fuentes de agua. Se han investigado una amplia gama de cuerpos de agua, como mares, lagos, ecosistemas de manglares, ríos y canales, mediante estudios basados en metagenómica (CABELLO-YEVES *et al.*, 2021). Asimismo, los resultados obtenidos a través de estos análisis han revelado la posible existencia de nuevos microorganismos en las profundidades oceánicas, así como diversas estrategias metabólicas. Los datos recopilados del entorno marino se han unido para desarrollar la base de datos Marine Metagenome, una fuente valiosa para futuras investigaciones en metagenómica. La **tabla 47** presenta diferentes estudios y aplicaciones de la metagenómica en la evaluación de comunidades microbianas en distintos entornos acuáticos, así como los resultados y descubrimientos relevantes obtenidos en cada caso.

Tabla 47. *Estudios y aplicaciones de la metagenómica en la evaluación de comunidades microbianas en distintos entornos acuáticos*

Tipo de Agua	Estudio/aplicación	Resultados/descubrimientos	Referencias
Diversos cuerpos de agua	Evaluación de comunidades microbianas	Descubrimiento de nuevos microorganismos y estrategias metabólicas en océanos, lagos, manglares, ríos y canales.	(CABELLO-Yeves <i>et al.</i> , 2021)
Bioma marino	MarineMetagenomeDB	Creación de recurso efectivo para futuros estudios metagenómicos a partir de datos disponibles del bioma marino.	(NATA'ALA <i>et al.</i> , 2022)
Aguas residuales	Estudio para formular método de reciclaje	Investigación sobre presencia microbiana para desarrollar un método adecuado de reciclaje.	(GOMEZ-ALVAREZ <i>et al.</i> , 2021)
Aguas subterráneas	Estudio sobre biorremediación	Descubrimiento de la capacidad de <i>Burkholderiales</i> para degradar contaminantes en aguas subterráneas policontaminadas, potencial para biorremediación.	(HAUPTFELD <i>et al.</i> , 2022)
Agua potable	Evaluación de comunidades microbianas	Utilización de herramientas metagenómicas para monitoreo de calidad y detección de indicadores de contaminación fecal como <i>Arcobacter</i> y <i>Aeromonas</i> .	(ACHARYA <i>et al.</i> , 2020)
Agua potable	Exploración de presencia de virus	Posibilidad de emplear metagenómica para la detección de virus en el suministro de agua potable.	(BIBBY <i>et al.</i> , 2019)

En otro estudio, se examinó la presencia de microorganismos en aguas residuales con el propósito de crear un método efectivo para su reciclaje. Una investigación reciente sobre aguas subterráneas contaminadas por múltiples agentes mostró que la presencia de *Burkholderiales* puede descomponer varios contaminantes, lo que sugiere un método viable para la biorremediación (HAUPTFELD *et al.*, 2022). Las herramientas metagenómicas han posibilitado la evaluación de las comunidades microbianas en el agua potable, convirtiéndose en una herramienta útil para controlar su calidad. Además de identificar las bacterias habituales en aguas contaminadas, este estudio reveló que *Arcobacter* y *Aeromonas* podrían ser usados como indicadores de contaminación fecal para rastrear sus fuentes (ACHARYA *et al.*, 2020). Además de la detección de bacterias,

la metagenómica también ofrece la posibilidad de explorar la presencia de virus en el agua potable (RUSIÑOL *et al.*, 2020)

El análisis metagenómico de comunidades microbianas en diversas fuentes de agua ha revelado un vasto conocimiento sobre la vida acuática. Estudios en océanos, lagos, ríos y aguas subterráneas han desvelado nuevos microorganismos y estrategias metabólicas fascinantes, abriendo puertas a posibilidades de biorremediación y desarrollo de recursos, el Marine Metagenome Database se erige como una invaluable fuente para futuras exploraciones en biomas marinos. En contextos prácticos, la metagenómica ha revolucionado el monitoreo de calidad del agua potable, detectando bacterias indicadoras de contaminación y explorando la presencia de virus, revelando la versatilidad de esta herramienta en la preservación y protección de recursos acuíferos. Estos descubrimientos y aplicaciones destacan el poder transformador de la metagenómica en la comprensión y conservación de los ecosistemas acuáticos, señalando un horizonte prometedor para futuras investigaciones y acciones orientadas a la sostenibilidad y salud ambiental.

6.4. METAGENÓMICA EN AIRE

Aunque el aire también contiene microbios, los estudios metagenómicos de muestras de aire enfrentan desafíos en términos de densidad microbiana, métodos estandarizados y herramientas bioinformáticas. Sin embargo, gracias al desarrollo de nuevas tecnologías para la recolección de muestras, secuenciación de ADN y *pipelines* de análisis, se ha podido aplicar la metagenómica del aire para explorar vías metabólicas, biorremediación y ciclos biogeoquímicos (LIU *et al.*, 2021). A pesar de que la baja cantidad de microbios en el aire resulta en menos que en suelos y medios acuáticos, la investigación metagenómica ha revelado diversas abundancias de comunidades microbianas (JIANG *et al.*, 2022).

Estudios en diferentes lugares han mostrado cambios en el microbioma del aire. Por ejemplo, un análisis de 3.226 muestras de aire reveló conexiones tanto positivas como negativas entre actividades humanas y comunidades aéreas. Además, ciertos géneros bacterianos como *Acinetobacter*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium* y *Staphylococcus* se relacionaron con tasas de mortalidad en pacientes con enfermedades respiratorias. También se ha observado que los patógenos aéreos provenían en su mayoría de superficies corporales humanas. Otra investigación con 370 muestras de aire señaló que las características del entorno superficial influían en la cantidad de bacterias en el aire (ZHAO *et al.*, 2022). La **tabla 48** resume algunos estudios realizados por metagenómica y relacionados con hallazgos sobre las comunidades microbianas en el aire.

Tabla 48. *Estudios y aplicaciones de la metagenómica en aire*

Tema/hallazgo	Descripción	Referencias
Diferencias en abundancia microbiana en el aire	A pesar de la baja biomasa del aire, la investigación metagenómica ha revelado diferentes abundancias de comunidades microbianas en comparación con los entornos de suelo y agua.	(YOOSEPH <i>et al.</i> , 2013)
Alteraciones en el microbioma del aire	Estudios en diferentes lugares han mostrado alteraciones en el microbioma del aire y revelado correlaciones entre actividades antropogénicas y comunidades aerotransportadas.	(ZHAO <i>et al.</i> , 2022)
Relación entre géneros microbianos y enfermedades respiratorias	Se encontró que los géneros <i>Acinetobacter</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Mycobacterium</i> y <i>Staphylococcus</i> estaban relacionados positivamente con tasas de mortalidad en pacientes con enfermedades respiratorias, indicando la posible fuente de patógenos aerotransportados desde superficies corporales.	(ZHAO <i>et al.</i> , 2022)
Impacto del entorno en bacterias aerotransportadas	Características del entorno de superficie determinaban la abundancia de bacterias aerotransportadas, y los entornos aéreos junto con los microbios en ecosistemas cercanos podrían impactar su variación a nivel global.	(NAM <i>et al.</i> , 2023)
Dinámica diaria de composición bacteriana	Un estudio avanzó en la comprensión de las correlaciones entre la dinámica de la composición bacteriana y el ciclo diario, mostrando variaciones diarias en la diversidad microbiana influenciadas principalmente por la temperatura.	(GUSAREVA <i>et al.</i> , 2013)
Diversidad de virus en el aire interior	Estudios en aire interior han revelado la presencia de una diversidad de virus de ADN y ARN.	(ROSARIO <i>et al.</i> , 2018)
Impacto del aire hospitalario en la salud	El aire hospitalario afecta directamente la salud de los pacientes y es un objetivo importante para la investigación metagenómica, revelando abundancia de patógenos oportunistas y resistencia antimicrobiana asociada.	(Wu <i>et al.</i> , 2022)
Diversidad microbiana en entornos del suelo, agua y aire	La investigación metagenómica ha demostrado una amplia diversidad de microbios en estos entornos, impulsando su aplicación como herramienta para identificación de microorganismos específicos y la biorremediación en entornos contaminados.	(Nam <i>et al.</i> , 2023)

Además, tanto los entornos aéreos como los microbios en ecosistemas cercanos podrían impactar la diversidad global de bacterias en el aire. Por ejemplo, un estudio importante con 789 metagenomas de un solo sitio durante un año mejoró la comprensión de cómo varía la composición bacteriana a lo largo del día. Se encontró que la diversidad microbiana tenía cambios diarios más que fluctuaciones diarias o mensuales en las comunidades bacterianas, la temperatura, entre otros factores ambientales, resultó ser el principal factor que afecta la dinámica de las comunidades microbianas, también se ha observado diversidad de virus de ADN y ARN en el aire (NAM *et al.*, 2023).

Resultados basados en el enfoque metagenómico han revelado una abundancia de patógenos oportunistas como *Aspergillus*, *Penicillium* y *Stenotrophomonas*. Además, se ha observado una cepa bacteriana multirresistente (por ejemplo, *Stenotrophomonas maltophilia*) (NAM *et al.*, 2023). Otro estudio metagenómico encontró resistomas en especies de *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Streptococcus* y *Enterococcus* en el aire de hospitales (LI *et al.*, 2021). Además, se descubrió una mayor resistencia antimicrobiana asociada con el aire de hospitales en comparación con el ambiente urbano circundante. La investigación metagenómica en entornos hospitalarios ha revelado la presencia de patógenos oportunistas y cepas bacterianas resistentes a múltiples fármacos (NAM *et al.*, 2023; WU *et al.*, 2022).

La investigación metagenómica ha revelado sorprendentes hallazgos sobre las comunidades microbianas en el aire, a pesar de su baja biomasa en comparación con el suelo y el agua. Estudios han destacado variaciones en la abundancia y composición microbiana relacionadas con actividades antropogénicas, señalando alteraciones significativas en el microbioma del aire. La presencia de géneros como *Acinetobacter*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium* y *Staphylococcus* ha sido asociada con enfermedades respiratorias, sugiriendo la posible fuente de patógenos aerotransportados.

Además, se ha observado que factores ambientales y las condiciones del entorno influyen en la abundancia de bacterias aerotransportadas, demostrando una compleja interacción entre ecosistemas aéreos y superficiales. Estudios detallados han revelado dinámicas diarias en la composición bacteriana, influenciadas por ciclos climáticos, especialmente la temperatura. La diversidad de virus de ADN y ARN ha sido identificada en entornos interiores, ampliando nuestra comprensión de la presencia viral en el aire. Asimismo, la investigación en aire hospitalario ha destacado la presencia de patógenos oportunistas y resistencia antimicrobiana asociada, subrayando su impacto directo en la salud de los pacientes. Estos descubrimientos no solo revelan la complejidad de las comunidades microbianas en el aire, sino que también abren perspectivas para la aplicación de la metagenómica en la identificación de microorganismos

específicos y la biorremediación en entornos contaminados, no solo en el aire, sino también en el suelo y el agua.

6.5. METAGENÓMICA EN AGRICULTURA

La capacidad de la metagenómica para identificar las composiciones microbianas la convierte en un valioso método para supervisar enfermedades y patógenos relevantes en la agricultura. Además, la metagenómica funcional ofrece una herramienta poderosa para entender cómo interactúan los cultivos con los microorganismos, mejorar la productividad de los cultivos y descubrir nuevos genes que brinden resistencia a situaciones de estrés en las plantas. Para aprovechar estas características únicas de la metagenómica, se han recopilado y evaluado diversas técnicas. Un ejemplo es el análisis de herramientas bioinformáticas para estudios metagenómicos en digestores anaeróbicos ha revelado el uso de estrategias variadas, incluyendo aquellas que emplean inteligencia artificial y programas de redes neuronales. Recientemente, se ha empleado información de ADN ambiental aéreo para monitorear patógenos en los campos de cultivo (NAM *et al.*, 2023).

Un progreso agrícola sostenible se fundamenta en los resultados obtenidos de estudios metagenómicos. Previamente, se identificaron comunidades microbianas en ambientes salinos utilizando tres sistemas de cultivo distintos: uno convencional, otro aeróbico y un tercero basado en la intensificación del cultivo de arroz (SRI) (LAPPE *et al.*, 2022). Como resultado, las muestras de suelo del método SRI presentaron una diversidad de especies mayor que los otros métodos, además, se observaron propiedades funcionales diversas en todas las muestras de suelo recolectadas de los tres sistemas, lo que sugiere la eficacia de los diferentes enfoques de cultivo. Un análisis de las comunidades microbianas en sistemas agrícolas en áreas desérticas reveló una sorprendente diversidad (NAM *et al.*, 2023).

También se detectaron grupos bacterianos desconocidos, lo que insinúa interacciones innovadoras entre los microorganismos y las plantas. Otro estudio metagenómico de la rizosfera del maíz reveló una abundancia de genes como *nifH*, *nifA*, *groES* y *cspA*, que podrían potencialmente reducir el estrés ambiental y mejorar el crecimiento de las plantas. Los estudios metagenómicos también han permitido el descubrimiento de virus novedosos pertenecientes a las familias *Betaflexiviridae*, *Tombusviridae* y *Geminiviridae* en el maíz (LAPPE *et al.*, 2022). Además del maíz, se han llevado a cabo investigaciones metagenómicas similares en otros cultivos como el trigo, la caña de azúcar, el árbol de caucho y diversas verduras (NAM *et al.*, 2023). En la **tabla 49** se describen algunos estudios y su principal hallazgo de con metagenómica.

La metagenómica se ha establecido como un recurso invaluable en la agricultura al proporcionar un medio efectivo para la identificación y comprensión de complejas composiciones microbianas. Su capacidad no solo se limita a la vigilancia de enfermedades y patógenos agrícolas, sino que también se extiende hacia la metagenómica funcional, permitiendo explorar las interacciones entre cultivos y microorganismos, impulsando así la productividad y la resistencia de las plantas ante condiciones adversas. La diversidad de técnicas aplicadas, desde herramientas bioinformáticas hasta análisis de ADN aéreo, resalta el inmenso potencial de la metagenómica en este ámbito (NAM *et al.*, 2023).

Tabla 49. *Estudios y aplicaciones de la metagenómica en la evaluación de comunidades microbianas en agricultura*

Tema/hallazgo	Descripción	Referencias
Identificación de comunidades en distintos sistemas de siembra	Diversos sistemas de siembra exhiben diferencias en la diversidad microbiana y sus propiedades funcionales. Se observó una mayor diversidad en el sistema SRI (System of Rice Intensification).	(NAM <i>et al.</i> , 2023)
Potencial uso de genes para el estrés ambiental	Se han identificado genes como <i>nifH</i> , <i>nifA</i> , <i>groES</i> y <i>cspA</i> en la rizosfera del maíz, los cuales podrían ser empleados para mitigar el estrés ambiental y mejorar el desarrollo de las plantas en condiciones adversas.	(OMOTAYO <i>et al.</i> , 2022)
Detección de nuevos virus en el maíz	La aplicación de la metagenómica ha permitido detectar nuevos virus en el maíz, identificados como parte de las familias <i>Betaflexiviridae</i> , <i>Tombusviridae</i> y <i>Geminiviridae</i> .	(LAPPE <i>et al.</i> , 2022)
Investigación metagenómica en otras plantas	Además del maíz, la investigación metagenómica se ha llevado a cabo en diversas plantas como el trigo, la caña de azúcar, el árbol de caucho y varios vegetales, ampliando así el conocimiento sobre la diversidad microbiana en diferentes contextos vegetales.	(NAM <i>et al.</i> , 2023)

Los estudios comparativos entre sistemas de cultivo han revelado diferencias notables en la diversidad y las propiedades funcionales del suelo, resaltando la eficacia del enfoque de intensificación del cultivo de arroz (SRI) por su mayor diversidad. La exploración de comunidades microbianas en entornos agrícolas desérticos ha expuesto una diversidad sorprendente y la presencia de grupos bacterianos desconocidos, evidenciando interacciones novedosas entre microorganismos y plantas. Los hallazgos en la rizosfera del maíz, como genes prometedores para reducir el estrés ambiental y el descubrimiento de nuevos

virus, subrayan el potencial transformador de la metagenómica en la agricultura (LAPPE *et al.*, 2022; NAM *et al.*, 2023).

La amplitud de aplicación de la metagenómica no se limita al maíz, extendiéndose a diversos cultivos como trigo, caña de azúcar, árbol de caucho y vegetales, ofrece una visión integral de la diversidad microbiana en entornos agrícolas. Estos descubrimientos resaltan el papel fundamental de la metagenómica en la promoción de prácticas agrícolas más sostenibles y eficaces, fundamentadas en una comprensión profunda de las interacciones entre microorganismos y cultivos.

6.6. METAGENÓMICA EN ANIMALES

La investigación metagenómica ha trascendido el ámbito agrícola para adentrarse en el estudio de los animales de granja, aportando un panorama detallado de la diversidad microbiana en diversas especies. Estudios liderados por Glendinning y su equipo no solo han identificado una amplia gama de genomas microbianos en rumiantes, sino que también han revelado la presencia de numerosos taxones previamente desconocidos, subrayando la vasta riqueza de la microbiota en estos animales (GLENDDINNING *et al.*, 2021). Investigaciones similares llevadas a cabo por Sato y colaboradores han proporcionado información detallada sobre la composición bacteriana y la presencia de virus en el rumen del ganado bovino (SATO *et al.*, 2022).

El enfoque metagenómico también ha resultado invaluable en la vigilancia de patógenos virales en granjas avícolas, ofreciendo una herramienta efectiva para monitorear y comprender la dinámica de estas infecciones (KWOK *et al.*, 2022). Más allá de la identificación de patógenos, la investigación se ha centrado en explorar la conexión entre la comunidad microbiana y la nutrición del huésped, revelando diferencias significativas entre animales domésticos y salvajes, especialmente en cuanto a la presencia de ARG en los microbiomas de los animales de granja (QIU *et al.*, 2022). La **tabla 50** muestra los resultados más relevantes de estos estudios realizados con metagenómica para la evaluación de comunidades microbianas en animales.

Estudios específicos sobre resistomas comunes han identificado una cantidad considerable de ARG en estiércoles animales, resaltando la necesidad urgente de mejorar los procesos de producción para minimizar la presencia de ARG en los ecosistemas agrícolas (QIU *et al.*, 2022). Además, las estructuras de las comunidades microbianas han proporcionado información valiosa sobre la fermentación ruminal, mostrando un potencial aplicativo en futuras investigaciones relacionadas con la descomposición de la materia vegetal (SHI *et al.*, 2022).

Tabla 50. *Estudios y aplicaciones de la metagenómica en la evaluación de comunidades microbianas en animales*

Tema/hallazgo	Descripción	Referencias
Estudio metagenómico en rumiantes	Glendinning <i>et al.</i> realizaron un estudio metagenómico en cuatro rumiantes, construyendo 391 genomas microbianos, de los cuales 279 eran nuevos taxones.	(GLENDINNING <i>et al.</i> , 2021)
Ensamblaje de genomas del rumen	SATO <i>et al.</i> ensamblaron 146 genomas del rumen del ganado vacuno.	(SATO <i>et al.</i> , 2022)
Utilidad en el rastreo de patógenos virales	Un estudio reciente sobre comunidades virales en granjas de pollos indicó la utilidad de la metagenómica en el seguimiento de patógenos virales.	(KWOK <i>et al.</i> , 2022)
Resistencia a antibióticos en estiércoles	Un estudio de resistomas comunes mostró 201 AGRs en estiércoles de animales, siendo reducidos en compost comercial.	(QIU <i>et al.</i> , 2022)
Luz sobre fermentación ruminal	Las estructuras de las comunidades microbianas han proporcionado información sobre la fermentación ruminal, útil para investigaciones sobre degradación de biomasa vegetal.	(SHI <i>et al.</i> , 2022)
Metagenómica en animales acuáticos	Herramienta para explorar comunidades microbianas, mejoramiento de la calidad del agua, tratamiento de aguas residuales y prevención de enfermedades.	(RIEDER <i>et al.</i> , 2023)
Caracterización de la diversidad microbiana en estanques de camarones	Estudio previo que describió la diversidad microbiana en estanques de camarones.	(LE <i>et al.</i> , 2020)
Identificación de géneros bacterianos en el intestino de camarones	Identificación de géneros bacterianos en el intestino de camarones, relacionados con su rápido crecimiento.	(RIEDER <i>et al.</i> , 2023)
Evaluación de la eficiencia de tecnologías acuícolas	Uso de metagenómica para evaluar tecnologías recién desarrolladas en granjas de camarones, mostrando mayor presencia de patógenos oportunistas en acuicultura basada en biofloc.	(NAM <i>et al.</i> , 2023)

La investigación metagenómica en animales especialmente de granja no solo ha ampliado el entendimiento sobre la diversidad microbiana, sino que también ha destacado la importancia de controlar la propagación de patógenos y ARGs en los ecosistemas agrícolas. Este enfoque multidisciplinario ofrece oportunidades

significativas para mejorar la salud y la sostenibilidad en la producción animal y, por ende, en la agricultura en su conjunto.

7. CONCLUSIONES

La metagenómica representa una ventana fascinante hacia el mundo microscópico que nos rodea. Su capacidad para revelar la diversidad y complejidad de las comunidades microbianas en diferentes entornos la posiciona como una herramienta invaluable en la investigación científica y el entendimiento de la vida a escala microbiana. A medida que se avanza en esta disciplina, seguramente se descubrirán nuevos horizontes y aplicaciones que continuarán transformando el conocimiento del microcosmos invisible.

El impacto de la metagenómica en la comprensión del mundo microbiano ha sido trascendental. Ha abierto nuevas puertas en la investigación científica, permitiendo explorar ecosistemas invisibles y entender las complejas interacciones entre los microorganismos. Además, ha impulsado avances significativos en campos como la medicina, la biotecnología y la conservación del medio ambiente. El estudio detallado de la metagenómica en microbiología revela su impacto en la comprensión de la diversidad microbiana y su aplicación en una amplia gama de campos. Inicialmente, se exploraron las generalidades de la metagenómica, desde su historia hasta su clasificación y su profunda relación con la ecología microbiana. Las estrategias de análisis en metagenómica, desde la secuenciación hasta el metacódigo de barras, demuestran la versatilidad y amplitud de esta disciplina.

En el ámbito clínico, la metagenómica ha revolucionado el diagnóstico microbiológico y la comprensión de la microbiota, microbioma y fenómenos como la disbiosis. Los estudios metagenómicos en enfermedades infecciosas, microbiomas, aplicaciones oncológicas y la presencia de viromas han abierto nuevas vías en la medicina diagnóstica.

La metagenómica no solo ha contribuido al diagnóstico, sino que también ha revelado información crucial sobre la resistencia antibacteriana y sus bases genéticas. El análisis de los mecanismos de resistencia, tipos y métodos para identificar bacterias resistentes refuerza su utilidad en la lucha contra la resistencia a antibióticos, aunque enfrenta desafíos y limitaciones.

Además de su impacto clínico, la metagenómica ha transformado la comprensión de la microbiología ambiental, la diversidad microbiana en suelos, agua, aire, agricultura y el mundo animal. Estos avances han iluminado la complejidad y la interconexión de los ecosistemas microbianos en diferentes entornos.

Finalmente, la metagenómica no solo ha revolucionado la microbiología, sino que ha abierto un vasto campo de posibilidades en la comprensión de la vida

microbiana y su aplicación en el diagnóstico apoyando la medicina personalizada y otras áreas del conocimiento como la ecología y la agricultura.

8. REFERENCIAS

- ACHARYA, K., BLACKBURN, A., MOHAMMED, J., HAILE, A. T., HIRUY, A. M., and WERNER, D. (2020). Metagenomic water quality monitoring with a portable laboratory. *Water Research*, 184, 116112. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116112>
- ACHTMAN, M., ZHOU, Z., CHARLESWORTH, J., and BAXTER, L. (2022). Entero-Base: hierarchical clustering of 100 000s of bacterial genomes into species/subspecies and populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society Of London. Series B, Biological Sciences*, 377(1861), 20210240. <https://doi.org/10.1098/rstb.2021.0240>
- ADÉKAMBI, T., DRANCOURT, M., and RAOULT, D. (2009). The *rpoB* gene as a tool for clinical microbiologists. *Trends in Microbiology*, 17(1), 37-45. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.09.008>
- AHMAD, M., and KHAN, A. U. (2019). Global economic impact of antibiotic resistance: A review. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 19, 313-316. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.05.024>
- ALLEGRETTI, M., FABI, A., BUGLIONI, S., MARTAYAN, A., CONTI, L., PESCARMONA, E., CILIBERTO, G., and Giacomini, P. (2018). Tearing down the walls: FDA approves next generation sequencing (NGS) assays for actionable cancer genomic aberrations. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research: CR*, 37(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s13046-018-0702-x>
- ASENCIO EGEA, M. Á., GAITÁN PITERA, J., MÉNDEZ GONZÁLEZ, J. C., and HUERTAS VAQUERO, M. (2021). Utility of multiplex PCR syndromic panel for respiratory infections in the diagnosis of acute bacterial meningitis. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica*, 39(9), 481-482. <https://doi.org/10.1016/j.eimce.2021.08.009>
- BAKER, J. L., MORTON, J. T., DINIS, M., ALVAREZ, R., TRAN, N. C., KNIGHT, R., and EDLUND, A. (2021). Deep metagenomics examines the oral microbiome during dental caries, revealing novel taxa and co-occurrences with host molecules. *Genome Research*, 31(1), 64-74. <https://doi.org/10.1101/gr.265645.120>
- BASHIARDES, S., ZILBERMAN-SCHAPIRA, G., and ELINAV, E. (2016). Use of Metatranscriptomics in Microbiome Research. *Bioinformatics and Biology Insights*, 10, 19-25. <https://doi.org/10.4137/BBI.S34610>

- BEAUDOIN, T., YAU, Y. C. W., STAPLETON, P. J., GONG, Y., WANG, P. W., GUTTMAN, D. S., and Waters, V. (2017). *Staphylococcus aureus* interaction with *Pseudomonas aeruginosa* biofilm enhances tobramycin resistance. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 3, 25. <https://doi.org/10.1038/s41522-017-0035-0>
- BIBBY, K., CRANK, K., GREAVES, J., LI, X., WU, Z., HAMZA, I. A., and STACHLER, E. (2019). Metagenomics and the development of viral water quality tools. *NPJ Clean Water*, 2(1), 9.
- BLANCO-MÍGUEZ, A., BEGHINI, F., CUMBO, F., McIVER, L. J., THOMPSON, K. N., ZOLFO, M., MANGHI, P., DUBOIS, L., HUANG, K. D., THOMAS, A. M., NICKOLS, W. A., PICCINNO, G., PIPERNI, E., PUNČOCHÁŘ, M., VALLES-COLOMER, M., TETT, A., GIORDANO, F., DAVIES, R., WOLF, J., BERRY, S. E., ... SEGATA, N. (2023). Extending and improving metagenomic taxonomic profiling with uncharacterized species using MetaPhlAn 4. *Nature Biotechnology*, 41(11), 1633-1644. <https://doi.org/10.1038/s41587-023-01688-w>
- BOLYEN, E., RIDEOUT, J. R., DILLON, M. R., BOKULICH, N. A., ABNET, C. C., AL-GHALITH, G. A., ALEXANDER, H., ALM, E. J., ARUMUGAM, M., ASNICAR, F., BAI, Y., BISANZ, J. E., BITTINGER, K., BREJNROD, A., BRISLAWN, C. J., BROWN, C. T., CALLAHAN, B. J., CARABALLO-RODRÍGUEZ, A. M., CHASE, J., COPE, E. K., ... CAPORASO, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, 37(8), 852-857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
- BONILLA-ROSSO, G., SOUZA, V., and EGUIARTE, L. E. (2008). Metagenómica, genómica y ecología molecular: la nueva ecología en el bicentenario de Darwin. *TIP. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 11(1), 41-51.
- BONOMO, M. G., CALABRONE, L., SCRANO, L., BUFO, S. A., DI TOMASO, K., BUONGARZONE, E., and SALZANO, G. (2022). Metagenomic monitoring of soil bacterial community after the construction of a crude oil flowline. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194(2), 48. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09637-3>
- BOR, B., COLLINS, A. J., MURUGKAR, P. P., BALASUBRAMANIAN, S., To, T. T., HENDRICKSON, E. L., BEDREE, J. K., BIDLACK, F. B., JOHNSTON, C. D., SHI, W., McLEAN, J. S., HE, X., and DEWHIRST, F. E. (2020). Insights Obtained by Culturing Saccharibacteria With Their Bacterial Hosts. *Journal of Dental Research*, 99(6), 685-694. <https://doi.org/10.1177/0022034520905792>
- BOTTERY, M. J., PITCHFORD, J. W., and FRIMAN, V. P. (2021). Ecology and evolution of antimicrobial resistance in bacterial communities. *The ISME Journal*, 15(4), 939-948. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00832-7>

- BREITWIESER, F. P., LU, J., and SALZBERG, S. L. (2019). A review of methods and databases for metagenomic classification and assembly. *Briefings in Bioinformatics*, 20(4), 1125-1136. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx120>
- BRINKMANN, A., ERGÜNAY, K., RADONIĆ, A., KOCAK TUFAN, Z., DOMINGO, C., and NITSCHKE, A. (2017). Development and preliminary evaluation of a multiplexed amplification and next generation sequencing method for viral hemorrhagic fever diagnostics. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(11), e0006075. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006075>
- CABELLO-YEVES, P. J., CALLIERI, C., PICAZO, A., MEHRSHAD, M., HARO-MORENO, J. M., RODA-GARCIA, J. J., DZHEMBEKOVA, N., SLABAKOVA, V., SLABAKOVA, N., MONCHEVA, S., and RODRIGUEZ-VALERA, F. (2021). The microbiome of the Black Sea water column analyzed by shotgun and genome centric metagenomics. *Environmental Microbiome*, 16(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s40793-021-00374-1>
- CANI P. D. (2018). Human gut microbiome: hopes, threats and promises. *Gut*, 67(9), 1716-1725. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-316723>
- CHIU, C. Y., and MILLER, S. A. (2019). Clinical metagenomics. *Nature Reviews. Genetics*, 20(6), 341-355. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0113-7>
- CHOPRA, R. S., CHOPRA, C., and SHARMA, N. R. (2020). *Metagenomics: Techniques, Applications, Challenges and Opportunities*. In *Metagenomics: Techniques, Applications, Challenges and Opportunities*. Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-6529-8>
- DANIEL R. (2005). The metagenomics of soil. *Nature Reviews. Microbiology*, 3(6), 470-478. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1160>
- DAVIES, J., and DAVIES, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, 74(3), 417-433. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>
- DELMONT, T. O., ROBE, P., CECILLON, S., CLARK, I. M., Constancias, F., Simonet, P., Hirsch, P. R., and Vogel, T. M. (2011). Accessing the soil metagenome for studies of microbial diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(4), 1315-1324. <https://doi.org/10.1128/AEM.01526-10>
- DIAKOU, I., PAPAKONSTANTINOY, E., PAPAGEORGIOU, L., PIEROULI, K., DRAGOU-MANI, K., SPANDIDOS, D. A., BACOPOULOU, F., CHROUSOS, G. P., ELIOPOULOS, E., and VLACHAKIS, D. (2022). Novel computational pipelines in antiviral structure-based drug design (Review). *Biomedical Reports*, 17(6), 97. <https://doi.org/10.3892/br.2022.1580>

- EDGAR R. C. (2018). Accuracy of taxonomy prediction for 16S rRNA and fungal ITS sequences. *PeerJ*, 6, e4652. <https://doi.org/10.7717/peerj.4652>
- EL-SAYED, A., ALEYA, L., and KAMEL, M. (2021). Microbiota's role in health and diseases. *Environmental Science and Pollution Research International*, 28(28), 36967–36983. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14593-z>
- ESTAKI, M., JIANG, L., BOKULICH, N. A., McDONALD, D., GONZÁLEZ, A., KOSCIOLEK, T., MARTINO, C., ZHU, Q., BIRMINGHAM, A., VÁZQUEZ-BAEZA, Y., DILLON, M. R., BOLYEN, E., CAPORASO, J. G., and KNIGHT, R. (2020). QIIME 2 Enables Comprehensive End-to-End Analysis of Diverse Microbiome Data and Comparative Studies with Publicly Available Data. *Current Protocols in Bioinformatics*, 70(1), e100. <https://doi.org/10.1002/cpbi.100>
- FENCHEL, T., FINLAY, J., NEW, O., and TOKYO, Y. (1995). *Ecology and Evolution in Anoxic Worlds*: Vol. First (First). Oxford University Press.
- FENG, G., Xie, T., WANG, X., BAI, J., TANG, L., ZHAO, H., WEI, W., WANG, M., and ZHAO, Y. (2018). Metagenomic analysis of microbial community and function involved in cd-contaminated soil. *BMC Microbiology*, 18(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1152-5>
- FIERER, N., LEFF, J. W., ADAMS, B. J., NIELSEN, U. N., BATES, S. T., LAUBER, C. L., OWENS, S., Gilbert, J. A., Wall, D. H., and Caporaso, J. G. (2012). Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(52), 21390-21395. <https://doi.org/10.1073/pnas.1215210110>
- FLEISCHMANN, R. D., ADAMS, M. D., WHITE, O., CLAYTON, R. A., KIRKNESS, E. F., KERLAVAGE, A. R., BULT, C. J., TOMB, J. F., DOUGHERTY, B. A., and MERRICK, J. M. (1995). Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science*, 269(5223), 496-512. <https://doi.org/10.1126/science.7542800>
- FRAHER, M. H., O'TOOLE, P. W., and QUIGLEY, E. M. (2012). Techniques used to characterize the gut microbiota: a guide for the clinician. *Nature Reviews. Gastroenterology and Hepatology*, 9(6), 312-322. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.44>
- GARCÍA-ALJARO, C., BALLESTÉ, E., and MUNIESA, M. (2017). Beyond the canonical strategies of horizontal gene transfer in prokaryotes. *Current Opinion in Microbiology*, 38, 95-105. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.04.011>
- GARCÍA-AMADO, M. A., RUDOLF, C. A., del Mar FUENTES-FUENTES, M., CHORNA, N., MARTÍNEZ, L. M., and Godoy-Vitorino, F. (2023). Bacterial composition

- along the digestive tract of the Horned Screamer (*Anhima cornuta*), a tropical herbivorous bird. *PeerJ*, 11. <https://doi.org/10.7717/peerj.14805>
- GARCIA-LOPEZ, E., MORENO, A. M., and CID, C. (2020). Microbial Community Structure and Metabolic Networks in Polar Glaciers. In *Metagenomics-Basics, Methods and Applications*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.78746>
- GARCÍA-LÓPEZ, R., CORNEJO-GRANADOS, F., LOPEZ-ZAVALA, A. A., COTA-HUÍZAR, A., SOTELO-MUNDO, R. R., GÓMEZ-GIL, B., and OCHOA-LEYVA, A. (2021). OTUs and ASVs Produce Comparable Taxonomic and Diversity from Shrimp Microbiota 16S Profiles Using Tailored Abundance Filters. *Genes*, 12(4), 564. <https://doi.org/10.3390/genes12040564>
- GELLMAN M. (2023). *Metagenomics: Revealing microbial life's unseen diversity*. <https://doi.org/10.35841/2591-7781.19.1000140>
- GILBERT, J. A., JANSSON, J. K., and KNIGHT, R. (2018). Earth Microbiome Project and Global Systems Biology. *mSystems*, 3(3), e00217-17. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00217-17>
- GLENDINNING, L., GENÇ, B., WALLACE, R. J., and WATSON, M. (2021). Metagenomic analysis of the cow, sheep, reindeer and red deer rumen. *Scientific Reports*, 11(1), 1990. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81668-9>
- GOMEZ-ALVAREZ, V., LIU, H., PRESSMAN, J. G., and WAHMAN, D. G. (2021). Metagenomic Profile of Microbial Communities in a Drinking Water Storage Tank Sediment after Sequential Exposure to Monochloramine, Free Chlorine, and Monochloramine. *ACS ESandT Water*, 1(5), 1283-1294. <https://doi.org/10.1021/acsestwater.1c00016>
- GONG, Y. N., YANG, S. L., CHEN, G. W., CHEN, Y. W., HUANG, Y. C., NING, H. C., and TSAO, K. C. (2017). A metagenomics study for the identification of respiratory viruses in mixed clinical specimens: an application of the iterative mapping approach. *Archives of Virology*, 162(7), 2003-2012. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3367-4>
- GONZÁLEZ, D., ROBAS, M., FERNÁNDEZ, V., BÁRCENA, M., PROBANZA, A., and JIMÉNEZ, P. A. (2022). Comparative Metagenomic Study of Rhizospheric and Bulk Mercury-Contaminated Soils in the Mining District of Almadén. *Frontiers in Microbiology*, 13, 797444. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.797444>
- GRENINGER A. L. (2018). A decade of RNA virus metagenomics is (not) enough. *Virus Research*, 244, 218–229. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2017.10.014>
- GUÉGAN, M., ZOUACHE, K., DÉMICHEL, C., MINARD, G., TRAN VAN, V., POTIER, P., MAVINGUI, P., and VALIENTE MORO, C. (2018). The mosquito holobiont: fresh insight into mosquito-microbiota interactions. *Microbiome*, 6(1), 49. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0435-2>

- GUSAREVA, E. S., ACERBI, E., LAU, K. J. X., LUHUNG, I., PREMKRISHNAN, B. N. V., KOLUNDŽIJA, S., PURBOJATI, R. W., WONG, A., HOUGHTON, J. N. I., MILLER, D., GAULTIER, N. E., HEINLE, C. E., CLARE, M. E., VETTATH, V. K., KEE, C., LIM, S. B. Y., CHÉNARD, C., PHUNG, W. J., KUSHWAHA, K. K., NEE, A. P., ... SCHUSTER, S. C. (2019). Microbial communities in the tropical air ecosystem follow a precise diel cycle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(46), 23299-23308. <https://doi.org/10.1073/pnas.1908493116>
- HANDELSMAN J. (2004). Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, 68(4), 669–685. <https://doi.org/10.1128/MMBR.68.4.669-685.2004>
- HANDELSMAN, J., RONDON, M. R., BRADY, S. F., CLARDY, J., and GOODMAN, R. M. (1998). Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chemistry and Biology*, 5(10), R245-R249. [https://doi.org/10.1016/s1074-5521\(98\)90108-9](https://doi.org/10.1016/s1074-5521(98)90108-9)
- HAUPTFELD, E., PELKMANS, J., HUISMAN, T. T., ANOCIC, A., SNOEK, B. L., von MEIJENFELDT, F. A. B., GERRITSE, J., VAN LEEUWEN, J., LEURINK, G., VAN LIT, A., van Uffelen, R., Koster, M. C., and Dutilh, B. E. (2022). A metagenomic portrait of the microbial community responsible for two decades of bioremediation of poly-contaminated groundwater. *Water Research*, 221, 118767. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118767>
- HERNÁNDEZ, M., QUIJADA, N. M., RODRÍGUEZ-LÁZARO, D., and EIROS, J. M. (2020). Aplicación de la secuenciación masiva y la bioinformática al diagnóstico microbiológico clínico. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(2), 150-161. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.06.003>
- HILLMAN, E. T., LU, H., YAO, T., and NAKATSU, C. H. (2017). Microbial ecology along the gastrointestinal tract. *Microbes and Environments*, 32(4), 300-313. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME17017>
- HØIBY, N., BJARNSHOLT, T., GIVSKOV, M., MOLIN, S., and CIOFU, O. (2010). Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35(4), 322-332. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011>
- HOZZEIN, W. N. (2020). Metagenomics and Metagenomic Approaches. In *Metagenomics—Basics, Methods and Applications*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.78746>
- HSIAO, E. Y., MCBRIDE, S. W., HSIEN, S., SHARON, G., HYDE, E. R., MCCUE, T., CODELLI, J. A., CHOW, J., REISMAN, S. E., PETROSINO, J. F., PATTERSON, P. H., and MAZMANIAN, S. K. (2013). Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*, 155(7), 1451-1463. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.11.024>

- Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium (2019). The Integrative Human Microbiome Project. *Nature*, 569(7758), 641-648. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1238-8>
- JARVIS W. R. (1996). The epidemiology of colonization. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 17(1), 47-52. <https://doi.org/10.1086/647189>
- JIANG, X., WANG, C., GUO, J., HOU, J., GUO, X., ZHANG, H., TAN, J., LI, M., LI, X., and ZHU, H. (2022). Global Meta-analysis of Airborne Bacterial Communities and Associations with Anthropogenic Activities. *Environmental Science And Technology*, 56(14), 9891-9902. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c07923>
- JOHNSON, J. S., SPAKOWICZ, D. J., HONG, B. Y., PETERSEN, L. M., DEMKOWICZ, P., CHEN, L., LEOPOLD, S. R., HANSON, B. M., AGRESTA, H. O., GERSTEIN, M., SODERGREN, E., and Weinstock, G. M. (2019). Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nature Communications*, 10(1), 5029. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13036-1>
- KAMBLE, A., SAWANT, S., and SINGH, H. (2020). 16S ribosomal RNA gene-based metagenomics: A review. *Biomedical Research Journal*, 7(1), 5.
- KANEHISA, M., FURUMICHI, M., SATO, Y., KAWASHIMA, M., and ISHIGURO-WATANABE, M. (2023). KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D587-D592. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac963>
- KARTHIKEYAN, S., ORELLANA, L. H., JOHNSTON, E. R., HATT, J. K., LÖFFLER, F. E., AYALA-DEL-RÍO, H. L., GONZÁLEZ, G., and KONSTANTINIDIS, K. T. (2021). Metagenomic Characterization of Soil Microbial Communities in the Luquillo Experimental Forest (Puerto Rico) and Implications for Nitrogen Cycling. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(12), e0054621. <https://doi.org/10.1128/AEM.00546-21>
- KEELING P. J. (2019). Combining morphology, behaviour and genomics to understand the evolution and ecology of microbial eukaryotes. Philosophical transactions of the Royal Society of London. *Series B, Biological Sciences*, 374(1786), 20190085. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0085>
- KHAN, A., MILLER, W. R., AXELL-HOUSE, D., MUNITA, J. M., and ARIAS, C. A. (2022). Antimicrobial Susceptibility Testing for Enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*, 60(9), e0084321. <https://doi.org/10.1128/jcm.00843-21>
- KIM, J. W., HONG, Y. K., KIM, H. S., Oh, E. J., PARK, Y. H., and KIM, S. C. (2021). Metagenomic Analysis for Evaluating Change in Bacterial Diversity in TPH-Contaminated Soil after Soil Remediation. *Toxics*, 9(12), 319. <https://doi.org/10.3390/toxics9120319>

- KIOROGLU, D., MAS, A., and PORTILLO, M. D. C. (2019). Evaluating the Effect of QIIME Balanced Default Parameters on Metataxonomic Analysis Workflows With a Mock Community. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1084. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01084>
- KO, K. K. K., CHNG, K. R., and NAGARAJAN, N. (2022). Metagenomics-enabled microbial surveillance. *Nature Microbiology*, 7(4), 486-496. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01089-w>
- KUYPERS, M. M. M., MARCHANT, H. K., and KARTAL, B. (2018). The microbial nitrogen-cycling network. *Nature Reviews Microbiology*, 16(5), 263-276. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.9>
- KWOK, K. T. T., DE ROOIJ, M. M. T., MESSINK, A. B., WOUTERS, I. M., SMIT, L. A. M., COTTEN, M., HEEDERIK, D. J. J., KOOPMANS, M. P. G., and PHAN, M. V. T. (2022). Establishing farm dust as a useful viral metagenomic surveillance matrix. *Scientific Reports*, 12(1), 16308. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20701-x>
- LAN, Y., ROSEN, G., and HERSHBERG, R. (2016). Marker genes that are less conserved in their sequences are useful for predicting genome-wide similarity levels between closely related prokaryotic strains. *Microbiome*, 4(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0162-5>
- LANGELIER, C., KALANTAR, K. L., MOAZED, F., WILSON, M. R., CRAWFORD, E. D., DEISS, T., BELZER, A., BOLOURCHI, S., CALDERA, S., FUNG, M., JAUREGUI, A., MALCOLM, K., LYDEN, A., KHAN, L., VESSEL, K., QUAN, J., ZINTER, M., CHIU, C. Y., CHOW, E. D., WILSON, J., ... DERISI, J. L. (2018). Integrating host response and unbiased microbe detection for lower respiratory tract infection diagnosis in critically ill adults. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(52), E12353-E12362. <https://doi.org/10.1073/pnas.1809700115>
- LAPPE, R. R., ELMORE, M. G., LOZIER, Z. R., JANDER, G., MILLER, W. A., and WHITHAM, S. A. (2022). Metagenomic identification of novel viruses of maize and teosinte in North America. *BMC Genomics*, 23(1), 767. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-09001-w>
- LARSEN, N., OLSEN, G. J., MAIDAK, B. L., MCCAUGHEY, M. J., OVERBEEK, R., MACKE, T. J., Marsh, T. L., and Woese, C. R. (1993). The ribosomal database project. *Nucleic Acids Research*, 21(13), 3021-3023. <https://doi.org/10.1093/nar/21.13.3021>
- LE, L. A., Nguyen-Hoang, T. P., Huynh, V. P., Nguyen, T. H., Nguyen, T. V., and Ho-Huynh, T. D. (2020). Microbiome dataset analysis from a shrimp pond in Ninh Thuan, Vietnam using shotgun metagenomics. *Data in Brief*, 31, 105731. <https://doi.org/10.1016/j.dib.20>

- LI, X., WU, Z., DANG, C., ZHANG, M., ZHAO, B., CHENG, Z., CHEN, L., ZHONG, Z., Ye, Y., and XIA, Y. (2021). A metagenomic-based method to study hospital air dust resistome. *Chemical Engineering Journal*, 406, 126854. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.126854>
- LIU, X., TONG, X., ZHU, J., TIAN, L., JIE, Z., ZOU, Y., LIN, X., LIANG, H., LI, W., Ju, Y., QIN, Y., ZOU, L., Lu, H., Zhu, S., Jin, X., Xu, X., Yang, H., Wang, J., Zong, Y., Liu, W., ... Zhang, T. (2021). Metagenome-genome-wide association studies reveal human genetic impact on the oral microbiome. *Cell Discovery*, 7(1), 117. <https://doi.org/10.1038/s41421-021-00356-0>
- LIU, Y. X., Qin, Y., Chen, T., Lu, M., Qian, X., Guo, X., and Bai, Y. (2021). A practical guide to amplicon and metagenomic analysis of microbiome data. *Protein and Cell*, 12(5), 315-330. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00724-8>
- LLOYD-PRICE, J., ABU-ALI, G., and HUTTENHOWER, C. (2016). The healthy human microbiome. *Genome Medicine*, 8(1), 51. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0307-y>
- LOMAN, N. J., CONSTANTINIDOU, C., CHRISTNER, M., ROHDE, H., CHAN, J. Z., QUICK, J., WEIR, J. C., QUINCE, C., SMITH, G. P., BETLEY, J. R., AEPFELBACHER, M., and PALLAN, M. J. (2013). A culture-independent sequence-based metagenomics approach to the investigation of an outbreak of *Shiga-toxigenic Escherichia coli* O104:H4. *JAMA*, 309(14), 1502-1510.
- MALLA, M. A., DUBEY, A., KUMAR, A., YADAV, S., HASHEM, A., and Abd Allah, E. F. (2019). Exploring the Human Microbiome: The Potential Future Role of Next-Generation Sequencing in Disease Diagnosis and Treatment. *Frontiers in Immunology*, 9, 2868. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02868>
- MEYER, F., BAGCHI, S., CHATERJI, S., GERLACH, W., GRAMA, A., HARRISON, T., PACZIAN, T., TRIMBLE, W. L., and WILKE, A. (2019). MG-RAST version 4-lessons learned from a decade of low-budget ultra-high-throughput metagenome analysis. *Briefings in Bioinformatics*, 20(4), 1151-1159. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx105>
- MICKIEWICZ, K. M., KAWAI, Y., DRAGE, L., GOMES, M. C., DAVISON, F., PICKARD, R., HALL, J., MOSTOWY, S., ALDRIDGE, P. D., and ERRINGTON, J. (2019). Possible role of L-form switching in recurrent urinary tract infection. *Nature Communications*, 10(1), 4379. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12359-3>
- MILLER, M. B., and TANG, Y. W. (2009). Basic concepts of microarrays and potential applications in clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(4), 611-633. <https://doi.org/10.1128/CMR.00019-09>
- MŁYNARCZYK-BONIKOWSKA, B., KOWALEWSKI, C., KROLAK-ULINSKA, A., and MARUSZA, W. (2022). Molecular Mechanisms of Drug Resistance in Sta-

- phylococcus aureus. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8088. <https://doi.org/10.3390/ijms23158088>
- MOLINA-SANTIAGO, C., DADDAOUA, A., FILLET, S., DUQUE, E., and RAMOS, J. L. (2014). Interspecies signalling: *Pseudomonas putida* efflux pump TtgGHI is activated by indole to increase antibiotic resistance. *Environmental Microbiology*, 16(5), 1267-1281. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.123>
- MOTTA, S. S., CLUZEL, P., and ALDANA, M. (2015). Adaptive resistance in bacteria requires epigenetic inheritance, genetic noise, and cost of efflux pumps. *PloS One*, 10(3), e0118464. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118464>
- MUKHERJEE, A., and REDDY, M. S. (2020). Metatranscriptomics: an approach for retrieving novel eukaryotic genes from polluted and related environments. 3 *Biotech*, 10(2), 71. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-2057-1>
- MUNITA, J. M., and ARIAS, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2), 10. 1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
- NAKAGAWA, H., and FUJITA, M. (2018). Whole genome sequencing analysis for cancer genomics and precision medicine. *Cancer Science*, 109(3), 513-522. <https://doi.org/10.1111/cas.13505>
- NAM, N. N., DO, H. D. K., LOAN TRINH, K. T., and LEE, N. Y. (2023). Meta-genomics: An Effective Approach for Exploring Microbial Diversity and Functions. *Foods (Basel, Switzerland)*, 12(11), 2140. <https://doi.org/10.3390/foods12112140>
- NATA'ALA, M. K., AVILA SANTOS, A. P., COELHO KASMANAS, J., BARTHOLOMÄUS, A., SARAIVA, J. P., GODINHO SILVA, S., KELLER-COSTA, T., COSTA, R., GOMES, N. C. M., PONCE DE LEON FERREIRA DE CARVALHO, A. C., STADLER, P. F., SIPOLI SANCHES, D., and NUNES DA ROCHA, U. (2022). MarineMetagenome-DB: a public repository for curated and standardized metadata for marine metagenomes. *Environmental Microbiome*, 17(1), 57. <https://doi.org/10.1186/s40793-022-00449-7>
- NAVIRE, G. S., GOEL, N., SAWHNEY, G., SHARMA, M., KAUSHIK, P., MOHANTA, Y. K., MOHANTA, T. K., and AL-HARRASI, A. (2022). Analysis and Interpretation of metagenomics data: an approach. *Biological Procedures Online*, 24(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s12575-022-00179-7>
- NIMMO, C., MILLARD, J., FAULKNER, V., MONTESERIN, J., PUGH, H., and JOHNSON, E. O. (2022). Evolution of *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance in the genomic era. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 954074. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.954074>

- NUTMAN, A., and MARCHAIM, D. (2019). How to: molecular investigation of a hospital outbreak. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 25(6), 688-695. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.09.017>
- OJALA, T., KANKURI, E., and KANKAINEN, M. (2023). Understanding human health through metatranscriptomics. *Trends in Molecular Medicine*, 29(5), 376-389. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2023.02.002>
- OMOTAYO, O. P., IGIEHON, O. N., and BABALOLA, O. O. (2022). Microbial Genes of Agricultural Importance in Maize Rhizosphere Unveiled through Shotgun Metagenomics. *Spanish Journal of Soil Science*, 12, 10427.
- PADILLA-GARCÍA, C. Y., CAMACHO-SÁNCHEZ, F. Y., and REYES-LÓPEZ, M. Á. (2021). Metabarcoding de DNA ambiental: un enfoque para el seguimiento de la biodiversidad. *Ciencia UAT*, 16, 136-149. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v16i1.1509>
- PALMER, C., BIK, E. M., EISEN, M. B., ECKBURG, P. B., SANA, T. R., WOLBER, P. K., RELMAN, D. A., and BROWN, P. O. (2006). Rapid quantitative profiling of complex microbial populations. *Nucleic Acids Research*, 34(1), e5. <https://doi.org/10.1093/nar/gnj007>
- PANG, Z., RAUDONIS, R., GLICK, B. R., Lin, T. J., and CHENG, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology Advances*, 37(1), 177-192. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>
- PATEL S. (2016). Drivers of bacterial genomes plasticity and roles they play in pathogen virulence, persistence and drug resistance. *Infection, Genetics And Evolution: Journal Of Molecular Epidemiology And Evolutionary Genetics In Infectious Diseases*, 45, 151-164. <https://doi.org/10.1016/j.mee-gid.2016.08.030>
- PATIL, S., CHEN, X., LIAN, M., and WEN, F. (2019). Phenotypic and genotypic characterization of multi-drug-resistant *Escherichia coli* isolates harboring bla_{CTX-M} group extended-spectrum β -lactamases recovered from pediatric patients in Shenzhen, southern China. *Infection and Drug Resistance*, 12, 1325-1332. <https://doi.org/10.2147/IDR.S199861>
- PIERELLA KARLUSICH, J. J., IBARBALZ, F. M., and BOWLER, C. (2020). Phytoplankton in the Tara Ocean. *Annual Review Of Marine Science*, 12, 233-265. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010419-010706>
- PINTOS-PASCUAL, I., CANTERO-CABALLERO, M., MUÑEZ RUBIO, E., SÁNCHEZ-ROMERO, I., ASENSIO-VEGAS, A., and RAMOS-MARTÍNEZ, A. (2020). Epidemiology and clinical of infections and colonizations caused by Enterobacterales

- producing carbapenemases in a tertiary hospital]. *Revista Española de Quimioterapia*, 33(2), 122-129. <https://doi.org/10.37201/req/086.2019>
- QIU, T., HUO, L., GUO, Y., GAO, M., WANG, G., HU, D., LI, C., WANG, Z., LIU, G., and WANG, X. (2022). Metagenomic assembly reveals hosts and mobility of common antibiotic resistome in animal manure and commercial compost. *Environmental Microbiome*, 17(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s40793-022-00437-x>
- QUAST, C., PRUESSE, E., YILMAZ, P., GERKEN, J., SCHWEER, T., YARZA, P., PEPLIES, J., and GLÖCKNER, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41(Database issue), D590-D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- QUIJADA, N. M., RODRÍGUEZ-LÁZARO, D., EIROS, J. M., and HERNÁNDEZ, M. (2019). TORMES: an automated pipeline for whole bacterial genome analysis. *Bioinformatics*, 35(21), 4207-4212. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz220>
- REYGAERT W. C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*, 4(3), 482-501. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482>
- RIEDER, J., KAPOPOULOU, A., BANK, C., and ADRIAN-KALCHHAUSER, I. (2023). Metagenomics and metabarcoding experimental choices and their impact on microbial community characterization in freshwater recirculating aquaculture systems. *Environmental Microbiome*, 18(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s40793-023-00459-z>
- RIESENFELD, C. S., SCHLOSS, P. D., and HANDELSMAN, J. (2004). Metagenomics: Genomic analysis of microbial communities. In *Annual Review of Genetics*, 38, 525-552. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.38.072902.091216>
- ROBERTSON L. A. (2015). van Leeuwenhoek microscopes-where are they now? *FEMS Microbiology Letters*, 362(9), fnv056. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv056>
- ROSARIO, K., FIERER, N., MILLER, S., LUONGO, J., and BREITBART, M. (2018). Diversity of DNA and RNA Viruses in Indoor Air As Assessed via Metagenomic Sequencing. *Environmental Science and Technology*, 52(3), 1014-1027. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04203>
- RUSIÑOL, M., MARTÍNEZ-PUCHOL, S., TIMONEDA, N., FERNÁNDEZ-CASSI, X., PÉREZ-CATALUÑA, A., FERNÁNDEZ-BRAVO, A., MORENO-MESONERO, L., MORENO, Y., ALONSO, J. L., FIGUERAS, M. J., ABRIL, J. F., BOFILL-MAS, S., and GIRONES, R. (2020). Metagenomic analysis of viruses, bacteria and protozoa in irrigation water. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 224, 113440. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.113440>

- RYAN, R. P., FOUHY, Y., GARCIA, B. F., WATT, S. A., NIEHAUS, K., YANG, L., TOLKER-NIELSEN, T., and DOW, J. M. (2008). Interspecies signalling via the *Stenotrophomonas maltophilia* diffusible signal factor influences biofilm formation and polymyxin tolerance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Microbiology*, 68(1), 75-86. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06132.x>
- SAMARKOS, M., MASTROGIANNI, E., and KAMPOUROPOULOU, O. (2018). The role of gut microbiota in *Clostridium difficile* infection. *European Journal of Internal Medicine*, 50, 28-32. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2018.02.006>
- SATO, Y., TAKEBE, H., OISHI, K., YASUDA, J., KUMAGAI, H., HIROOKA, H., and YOSHIDA, T. (2022). Identification of 146 Metagenome-assembled Genomes from the Rumen Microbiome of Cattle in Japan. *Microbes and Environments*, 37(4), ME22039. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME2203>
- SHARKEY, L. K., EDWARDS, T. A., and O'NEILL, A. J. (2016). ABC-F Proteins Mediate Antibiotic Resistance through Ribosomal Protection. *mBio*, 7(2), e01975. <https://doi.org/10.1128/mBio.01975-15>
- SHI, T., ZHANG, T., WANG, X., WANG, X., SHEN, W., GUO, X., LIU, Y., LI, Z., and JIANG, Y. (2022). Metagenomic Analysis of in Vitro Ruminant Fermentation Reveals the Role of the Copresent Microbiome in Plant Biomass Degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(38), 12095-12106. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c03522>
- SHOGBESAN, O., POUDEL, D. R., VICTOR, S., JEHANGIR, A., FADAHUNSI, O., SHOGBESAN, G., and DONATO, A. (2018). A Systematic Review of the Efficacy and Safety of Fecal Microbiota Transplant for *Clostridium difficile* Infection in Immunocompromised Patients. *Canadian Journal Of Gastroenterology and Hepatology*, 2018, 1394379. <https://doi.org/10.1155/2018/1394379>
- STEFAN, C. P., KOEHLER, J. W., and MINOGUE, T. D. (2016). Targeted next-generation sequencing for the detection of ciprofloxacin resistance markers using molecular inversion probes. *Scientific Reports*, 6, 25904. <https://doi.org/10.1038/srep25904>
- TANG, Y. W., GONSALVES, S., SUN, J. Y., STILES, J., GILHULEY, K. A., MIKHLINA, A., DUNBAR, S. A., BABADY, N. E., and ZHANG, H. (2016). Clinical Evaluation of the Luminex NxTAG Respiratory Pathogen Panel. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(7), 1912-1914. <https://doi.org/10.1128/JCM.00482-16>
- TIWARI, I. (2023). The role of microbial ecology in environment and public health. In *Human and Environment* (pp. 11–22). Red' Mac International Press And Media.
- UDAONDO, Z., SITTIKANKAEW, K., UENGWETWANIT, T., WONGSURAWAT, T., SONTHIROD, C., JENJAROENPUN, P., POOTAKHAM, W., KAROONUTHAISIRI, N., and

- NOOKAEW, I. (2021). Comparative Analysis of PacBio and Oxford Nanopore Sequencing Technologies for Transcriptomic Landscape Identification of *Penaeus monodon*. *Life*, 11(8), 862. <https://doi.org/10.3390/life11080862>
- VECHERSKII, M. V., SEMENOV, M. V., LISENKOVA, A. A., and STEPANKOV, A. A. (2021). Metagenomics: A New Direction in Ecology. *Biology Bulletin*, 48, S107-S117. <https://doi.org/10.1134/S1062359022010150>
- VEGA, N. M., and GORE, J. (2014). Collective antibiotic resistance: mechanisms and implications. *Current Opinion in Microbiology*, 21, 28-34. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.09.003>
- VIELVA, L., DE TORO, M., LANZA, V. F., and DE LA CRUZ, F. (2017). PLACNETw: a web-based tool for plasmid reconstruction from bacterial genomes. *Bioinformatics*, 33(23), 3796-3798. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx462>
- VIRGIN H. W. (2007). In vivo veritas: pathogenesis of infection as it actually happens. *Nature Immunology*, 8(11), 1143-1147. <https://doi.org/10.1038/ni1529>
- VOELKERDING, K. V., DAMES, S. A., and DURTSCHI, J. D. (2009). Next-generation sequencing: from basic research to diagnostics. *Clinical Chemistry*, 55(4), 641-658. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112789>
- VU, M. T., GERALDI, A., DO, H. D. K., LUQMAN, A., NGUYEN, H. D., FAUZIA, F. N., AMALLUDIN, F. I., SADILA, A. Y., WIJAYA, N. H., SANTOSO, H., MANUHARA, Y. S. W., BUI, L. M., HARIYANTO, S., and WIBOWO, A. T. (2022). Soil Mineral Composition and Salinity Are the Main Factors Regulating the Bacterial Community Associated with the Roots of Coastal Sand Dune Halophytes. *Biology*, 11(5), 695. <https://doi.org/10.3390/biology11050695>
- WASKITO, L. A., REZKITHA, Y. A. A., VILAICHONE, R. K., WIBAWA, I. D. N., MUSTIKA, S., SUGIHARTONO, T., and MIFTAHUSSURUR, M. (2022). Antimicrobial Resistance Profile by Metagenomic and Metatranscriptomic Approach in Clinical Practice: Opportunity and Challenge. *Antibiotics*, 11(5), 654. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050654>
- WEI, Q., LI, Z., GU, Z., LIU, X., KRUTMANN, J., WANG, J., and XIA, J. (2022). Shotgun metagenomic sequencing reveals skin microbial variability from different facial sites. *Frontiers in Microbiology*, 13, 933189. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.933189>
- WERBIN, Z. R., HACKOS, B., LOPEZ-NAVA, J., DIETZE, M. C., and BHATNAGAR, J. M. (2021). The National Ecological Observatory Network's soil metagenomes: assembly and basic analysis. *F1000Research*, 10, 299. <https://doi.org/10.12688/f1000research.51494.2>

- WILSON, D. N., HAURYLIUK, V., ATKINSON, G. C., and O'NEILL, A. J. (2020). Target protection as a key antibiotic resistance mechanism. *Nature Reviews. Microbiology*, 18(11), 637–648. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0386-z>
- WILSON, M. R., NACCACHE, S. N., SAMAYOA, E., BIAGTAN, M., BASHIR, H., Yu, G., SALAMAT, S. M., SOMASEKAR, S., FEDERMAN, S., MILLER, S., SOKOLIC, R., GARABEDIAN, E., CANDOTTI, F., BUCKLEY, R. H., REED, K. D., MEYER, T. L., SEROOGY, C. M., GALLOWAY, R., HENDERSON, S. L., GERN, J. E., ... CHIU, C. Y. (2014). Actionable diagnosis of neuroleptospirosis by next-generation sequencing. *The New England Journal of Medicine*, 370(25), 2408-2417. <https://doi.org/10.1056/NEJMoal401268>
- WU, D., JIN, L., XIE, J., LIU, H., ZHAO, J., YE, D., and LI, X. D. (2022). Inhalable antibiotic resistomes emitted from hospitals: metagenomic insights into bacterial hosts, clinical relevance, and environmental risks. *Microbiome*, 10(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01197-5>
- WU, X., CHAUHAN, A., LAYTON, A. C., LAU VETTER, M. C. Y., STACKHOUSE, B. T., WILLIAMS, D. E., WHYTE, L., PFIFFNER, S. M., ONSTOTT, T. C., and VISHNIVETSKAYA, T. A. (2021). Comparative Metagenomics of the Active Layer and Permafrost from Low-Carbon Soil in the Canadian High Arctic. *Environmental Science and Technology*, 55(18), 12683–12693. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c00802>
- YANG, C., CHOWDHURY, D., ZHANG, Z., CHEUNG, W. K., LU, A., BIAN, Z., and ZHANG, L. (2021). A review of computational tools for generating metagenome-assembled genomes from metagenomic sequencing data. *In Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 6301-6314. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.11.028>
- YANG, L., HAIDAR, G., ZIA, H., NETTLES, R., QIN, S., WANG, X., SHAH, F., Rapport, S. F., CHARALAMPOUS, T., METHÉ, B., FITCH, A., MORRIS, A., MCVEY, B. J., O'GRADY, J., and KITSIOS, G. D. (2019). Metagenomic identification of severe pneumonia pathogens in mechanically-ventilated patients: a feasibility and clinical validity study. *Respiratory Research*, 20(1), 265. <https://doi.org/10.1186/s12931-019-1218-4>
- YOOSEPH, S., ANDREWS-PFANNKUCH, C., TENNEY, A., MCQUAID, J., WILLIAMSON, S., THIAGARAJAN, M., BRAMI, D., ZEIGLER-ALLEN, L., HOFFMAN, J., GOLL, J. B., FADROSH, D., GLASS, J., ADAMS, M. D., FRIEDMAN, R., and VENTER, J. C. (2013). A metagenomic framework for the study of airborne microbial communities. *PloS One*, 8(12), e81862. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081862>
- YOUNG V. B. (2017). The role of the microbiome in human health and disease: an introduction for clinicians. *BMJ*, 356, j831. <https://doi.org/10.1136/bmj.j831>

- ZEPEDA MENDOZA, M. L., SICHERITZ-PONTÉN, T., and GILBERT, M. T. (2015). Environmental genes and genomes: understanding the differences and challenges in the approaches and software for their analyses. *Briefings in Bioinformatics*, 16(5), 745–758. <https://doi.org/10.1093/bib/bbv001>
- ZHANG, F. G., HE, Z. Y., and WANG, Q. (2014). Transcriptome profiling of the cancer and normal tissues from gastric cancer patients by deep sequencing. *Tumour Biology: the Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 35(8), 7423–7427. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2003-0>
- ZHANG, F., and CHENG, W. (2022). The Mechanism of Bacterial Resistance and Potential Bacteriostatic Strategies. *Antibiotics*, 11(9), 1215. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11091215>
- ZHANG, L., CHEN, F., ZENG, Z., XU, M., SUN, F., YANG, L., BI, X., LIN, Y., GAO, Y., HAO, H., YI, W., LI, M., and XIE, Y. (2021). Advances in Metagenomics and Its Application in Environmental Microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 12, 766364. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.766364>
- ZHAO, F., and BAJIC, V. B. (2015). The Value and Significance of Metagenomics of Marine Environments. Preface. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*, 13(5), 271–274. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2015.10.002>
- ZHAO, J., JIN, L., WU, D., XIE, J. W., LI, J., FU, X. W., CONG, Z. Y., FU, P. Q., ZHANG, Y., LUO, X. S., FENG, X. B., ZHANG, G., TIEDJE, J. M., and LI, X. D. (2022). Global airborne bacterial community-interactions with Earth's microbiomes and anthropogenic activities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(42), e2204465119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2204465119>
- ZHAO, S., FUNG-LEUNG, W. P., BITTNER, A., NGO, K., and LIU, X. (2014). Comparison of RNA-Seq and microarray in transcriptome profiling of activated T cells. *PloS One*, 9(1), e78644. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078644>.

GLOSARIO

ABR:	Resistencia bacteriana.
ADN:	Ácido desoxirribonucleico.
AEI	Expresión alélica.
AMR:	Resistencia antimicrobiana (AMR, por sus siglas en inglés).
ARG	Genes de resistencia a antibióticos.
ASV:	Variantes de secuencias amplificadas.
BAC:	Cromosomas bacterianos artificiales.
CAR-T:	Células T con receptores quiméricos de antígenos.
CFTR:	Regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística.
CIHR:	Canadian Institutes of Health Research.
CNV:	Variaciones del número de copias por sus siglas en inglés.
CSIRO:	Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization.
ENCODE:	Enciclopedia de elementos de ADN.
DDRT-PCR:	Reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa de visualización diferencial.
FISH:	Fluorescencia hibridación <i>in situ</i> .
GC	Cromatografía de gases.
GENCODE:	Anotación de genes codificadores.
GWAS:	Estudio de asociación de genoma completo.
HMP:	Proyecto del Microbioma Humano.
ITS:	Espaciador transcrito interno.
LC:	Cromatografía líquida.
LSU:	Subunidad grande ARNr.
MAG:	Ensamblajes de genomas metagenómicos generar.

MetaHIT:	Metagenomics of the Human Intestinal Tract.
mNGS:	Secuenciación metagenómica de próxima generación.
MPSS:	Secuenciación masiva de firmas en paralelo.
MPSS:	Secuenciamiento masivo de firmas.
MS:	Espectrometría de masas.
NGS:	Secuenciación de próxima generación (por sus siglas en inglés).
NIH:	Institutos Nacionales de Salud.
OTU:	Unidades Taxonómicas Operativas.
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa.
PDK1:	Quinasa dependiente de fosfoinositol-1
PGH:	Proyecto Genoma Humano.
pH:	Potencial de hidrogeno.
POCT	Pruebas en el punto de atención.
PTM:	Modificación postraducciona de proteínas.
QF:	Fibrosis quística.
RFLP	Fragmentos de longitud polimórfica de restricción.
RNA-Seq:	Secuenciación de ARN (por sus siglas en inglés).
RPA:	Amplificación de la polimerasa de recombinasa.
Rpoβ:	Subunidad β de la ARN polimerasa.
rRNA:	Ácido ribonucleico ribosomal.
RTC-PCR:	Amplificación isotérmica en bucle de transcripción inversa seguida de PCR.
RT-PCR:	PCR en tiempo real.
RT-qPCR:	Retrotranscripción y PCR cuantitativa.
SAGE:	Análisis en serie de la expresión génica.
SBS:	Secuenciación por síntesis.
scARN-seq:	Secuenciación de ARN unicelular.
SCREEN:	Buscador de elementos reguladores candidato ENCODE.
SLAM-seq:	Etiquetado y multiplexación de una sola célula mediante secuenciación.

SMRT:	Single Molecule Real-Time Sequencing.
SNP:	Polimorfismos de un solo nucleótido.
SNV:	Variantes de un solo nucleótido (por sus siglas en inglés).
SOLiD:	Secuenciación por ligación y detección de oligonucleótidos.
SSU:	Subunidad pequeña del ARNr
tARN:	Ácido desoxirribonucleico de transferencia.
TCGA:	Atlas del genoma del cáncer (por sus siglas en inglés).
VBNC	Viables, pero no cultivable (por sus siglas en inglés).
WES:	Secuenciación del exoma (por sus siglas en inglés).
WGS:	Secuenciación del genoma completo (por sus siglas en inglés).

Esta obra
se terminó de imprimir
el 29 de septiembre de 2025,
en los talleres gráficos de
GRUPO EDITORIAL IBÁÑEZ,
Cra. 69 Bis No. 36-20 Sur
Tels.: 2300731 - 2386035
Bogotá D.C. - Colombia

En el campo de la medicina actual, el diagnóstico ha experimentado una revolución sin precedentes gracias al avance de las ciencias ómicas y de la metagenómica. En este contexto, el presente libro titulado *Aplicaciones de las ciencias ómicas en el diagnóstico clínico y la metagenómica*, emerge como una guía imprescindible para comprender y aplicar estas innovadoras herramientas en el campo del diagnóstico clínico y microbiológico.

Dividido en dos partes fundamentales, este libro aborda, en primer lugar, las aplicaciones de las ciencias ómicas en el diagnóstico, explorando detalladamente la genómica, la transcriptómica, la proteómica y la metabolómica. A través de un análisis exhaustivo, se desglosan las aplicaciones en diagnóstico de enfermedades genéticas, infecciosas y crónicas.

En la segunda parte, el enfoque se dirige hacia la metagenómica, una disciplina que ha transformado radicalmente el entendimiento de los microbiomas y su impacto en la salud humana y ambiental. Desde sus fundamentos hasta sus aplicaciones más avanzadas, este libro ofrece una panorámica completa de la metagenómica y su papel en el diagnóstico clínico microbiológico, destacando su relevancia en la identificación de microorganismos, la resistencia antimicrobiana y el análisis de microbiomas.

ISBN: 978-958-5198-51-7

