

# Revista de la Facultad de Medicina

Volumen  
Volume **48**

Número  
Number **1**

Enero-Febrero  
January-February **2004**

*Artículo:*

## Impacto de la genómica bacteriana en la medicina humana

Derechos reservados, Copyright © 2004:  
Facultad de Medicina, UNAM

### Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

### *Others sections in this web site:*

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



**Medigraphic.com**

## Monografía

# Impacto de la genómica bacteriana en la medicina humana

Enrique Meléndez Herrada,<sup>1</sup> Estrella Cervantes García,<sup>1</sup> Marcos Adrián Ramos González,<sup>1</sup> Alejandro Cravioto<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Salud Pública, Laboratorio de Genómica Bacteriana. Facultad de Medicina, UNAM.

### Introducción

Las enfermedades infecciosas han ocasionado serios problemas de salud a la humanidad a través de su historia. Los agentes infecciosos han desencadenado pandemias con grandes pérdidas de vidas humanas, como fue la influenza en 1918.

Con la publicación en el siglo XIX de los trabajos de Pasteur en Francia y de Koch en Alemania se establecieron los fundamentos científicos de la infectología, así como la capacidad de los microorganismos para producir enfermedad. Paralelamente a esto, los avances en inmunología en esas fechas contribuyeron a reconocer la respuesta del huésped y desarrollar métodos de cura como la seroterapia de Von Behring contra la difteria.<sup>1</sup>

Frecuentemente, el desarrollo de nuevas terapias van con la ayuda de las tecnologías de la época. Ese fue el caso del salvarsán, un producto químico sintético descubierto en 1900 por Erlich para la cura de la sífilis, o las sulfas, descubiertas por Domagk en 1932 como producto del florecimiento de la tecnología química en Europa. El hallazgo más importante en el campo fue probablemente, la penicilina descubierta por Fleming en 1940. Estos logros tuvieron un impacto importante en el control de las enfermedades infecciosas en el mundo y una revolución en la terapéutica de la época.

Otros eventos históricos en la investigación científica que impulsaron avances en la infectología se derivaron del trabajo de Watson y Crick cuando en 1953 publicaron la composición del ácido desoxirribonucleico. Este reporte estimula el desarrollo de nuevas disciplinas en la investigación, como fue la biología molecular y la genética microbiana que llevarían a grandes avances médicos en los años siguientes. Algunos de éstos han sido el encontrar la relación de algunos genes bacterianos con la capacidad de generar enfermedad en el humano o de los eventos genéticos que ocurren a nivel bacteriano para el desarrollo de resistencia a antimicrobianos.

La biología molecular de los años ochenta fue el gran aliado de la infectología. La aplicación de métodos de diagnósticos moleculares basados en sondas genéticas han permitido un diagnóstico más rápido y un mejor tratamiento de algunos de estos padecimientos. El método más importante para el diagnóstico es, sin lugar a duda, la reacción en cadena de la polimerasa, que se fundamenta en la amplificación de copias

del material genético, es visualizado por electroforesis en gel de agarosa en el laboratorio. La aplicación de esta tecnología llevó a la rápida detección de virus, bacterias, y otros microorganismos de cultivo difícil.

Con el desarrollo de un método rápido de secuenciación de ADN publicado a finales del siglo XX por Venter y su grupo en los Estados Unidos,<sup>2</sup> surge la genómica, o sea la caracterización total de genes de un ser vivo. Un gran adelanto porque por primera vez se tiene la oportunidad de conocer la expresión de genes en los mecanismos de infección de los agentes patógenos. Futuros descubrimientos que van a revolucionar los conocimientos de la infectología actual.

En este sentido el primer reporte de genómica de interés en la bacteriología médica fue publicado por Fleishman y col. en 1995, con la secuenciación completa del genoma de *Haemophilus influenzae*, un patógeno causante de infecciones respiratorias y meningitis. En la actualidad se han completado 87 genomas de bacterias infecciosas y muchos otros están en proceso de secuenciación en diferentes laboratorios.

La genómica tiene derivaciones como la proteómica, la genómica estructural, la genómica funcional y otras, que conducirán a desarrollos tecnológicos de aplicación rutinaria en la infectología, ello incluye métodos diagnósticos como los "Biochips" o "DNA chips" basados en la tecnología de microarreglos, vacunas como productos de la proteómica, y nuevos medicamentos derivados de la farmacogenómica, más eficaces y con nula o escasa toxicidad al paciente; todo esto implica logros importantes en la calidad de la atención médica. La medicina del siglo XXI estará sin duda basada en gran parte en la genómica.

### Inicios de la genómica bacteriana

A nueve años de la publicación del primer genoma bacteriano secuenciado (*Haemophilus influenzae*) se dispone en la actualidad de 87 genomas completamente secuenciados y otros 200 genomas microbianos se encuentran en proceso. Este avance en la genómica ha sido atribuido mayormente al método de secuenciación completa de ADN de Craig Venter y su grupo.<sup>2,3</sup>

El método de secuenciación completa "shotgun" consiste en fraccionar por métodos físicos el ADN en diferentes tamaños (2-20 kb) e introducirlo en vectores de clonación univer-

sales (cósidos) con el propósito de obtener grandes cantidades de este material al reproducirlo en bacterias y obtener la librería que contiene a los fragmentos de ADN genómico. Posteriormente el ADN es secuenciado y el genoma completo es construido en un ensamblador.

Este método está basado en algoritmos matemáticos que permite ensamblar las secuencias de ADN por medio de un software de computadora que Venter logró desarrollar llamado “ensamblador TIGR” con capacidad para 24,000 fragmentos de ADN, lo que facilitó la tarea de reconocer a millones de nucleótidos que están comprendidos en un genoma.

Este método ha permitido conocer la totalidad de los genes de microorganismos como *Haemophilus influenzae*<sup>3</sup> y *Mycoplasma genitalium*<sup>4</sup> que tienen genomas pequeños de 1.83 y

0.58 Megabases (MB) respectivamente o tan grandes como el humano de 3.2 gigabases (GB) y 30,000 genes identificados.<sup>5</sup> Hoy en día contamos con la información de la secuenciación del genoma de algunas decenas de microorganismos patógenos (cuadro 1) y están depositadas en instituciones de investigación con bancos de datos de libre acceso.

### La investigación genómica en bacterias patógenas

Con el reporte de secuencias completas de agentes patógenos, se presentan grandes oportunidades en investigación. Por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis* o bacilo de Koch que ha provocado la muerte a millones de personas por tuberculosis pulmonar en el mundo. La información publicada en 1998

**Cuadro 1.** Genomas microbianos secuenciados hasta marzo del 2004.

Organismo	Organismo	Organismo
<i>Cryptosporidium parvum</i> C- o genotipo 2	<i>Yersinia pestis</i> CO-92 (Biovar Orientalis)	<i>Chlamydophila trachomatis</i> MoPn/Nigg
<i>Yersinia pestis</i> Mediaevalis 91001	<i>Listeria monocytogenes</i> EGD-e	<i>Helicobacter pylori</i> J99
<i>Treponema denticola</i> ATTC 35405	<i>Streptococcus pneumoniae</i> R6	<i>Borrelia burgdorferi</i> B31
<i>Mycobacterium avium</i> , subsp.: <i>paratuberculosis</i> K-10	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551	<i>Neisseria meningitidis</i> MC58 (serogroup B)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> <i>gravis</i> NCTC 13129	<i>Chromobacterium violaceum</i> ATCC 12472	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i> NCTC 11168
<i>Bordetella bronchiseptica</i> RB50 NCTC-13252	<i>Trypanosoma brucei</i> TREU92/4	<i>Chlamydophila pneumoniae</i> CWL029
<i>Bordetella parapertussis</i> 12822 NCTC-13253	GUTat10.1 Chromosome 1	
<i>Bordetella pertussis</i> Tohama I NCTC-13251	<i>Trypanosoma brucei</i> TREU92/4 GUTat10.1 Chromosome 2	<i>Leishmania major</i> Friedlin Chromosome 1
<i>Haemophilus ducreyi</i> 35000HP	<i>Streptococcus pneumoniae</i> TIGR4 ATCC-BAA-334	<i>Rickettsia prowazekii</i> Madrid E
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	<i>Streptococcus mutans</i> UA159	
<i>Mycobacterium bovis</i> AF2122/97 (spoligotype 9)	<i>Shigella flexneri</i> , 2a 301	<i>Mycoplasma penetrans</i> HF-2
<i>Streptococcus pyogenes</i> M3 (SSI-1)	<i>Staphylococcus aureus</i> N315 (MRSA)	<i>Mycoplasma genitalium</i> G-37
<i>Bacillus anthracis</i> Ames	<i>Porphyromonas gingivalis</i> W83	<i>Chlamydophila trachomatis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i> V583	<i>Pasteurella multocida</i> Pm70	D/UW-3/CX (serovar D)
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> VPI-5482	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	<i>Helicobacter pylori</i> 26695
<i>Salmonella enterica</i> <i>Typhi</i> Ty2	<i>Leptospira interrogans</i> serovar <i>lai</i> 56601	<i>Brucella melitensis</i> 16M
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> RIMD 2210633	<i>Streptococcus agalactiae</i> 2603V/R	<i>Clostridium perfringens</i> 13
<i>Lactobacillus plantarum</i> WCFS1	<i>Wigglesworthia glossinidiae</i>	<i>Treponema pallidum</i> subsp. <i>pallidum</i>
<i>Clostridium tetani</i> Massachusetts E88	P-endsymbiont	Nichols
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	<i>Tropheryma whipplei</i> Twist	<i>Vibrio vulnificus</i> YJ016
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> AR39	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 Sakai	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>Escherichia coli</i> UPEC-CFT073	<i>Chlamydophila pneumoniae</i> TW-183	H37Rv (lab strain)
<i>Brucella melitensis</i> biovar <i>suis</i> 1330	<i>Shigella flexneri</i> serotype 2a 2457T	<i>Mycobacterium leprae</i> TN
<i>Streptococcus agalactiae</i> NEM316	<i>Tropheryma whipplei</i> TW08/27	<i>Plasmodium falciparum</i> 3D7
<i>Yersinia pestis</i> KM5 P12 (Biovar Mediaevalis)	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 EDL933	<i>Archaeoglobus fulgidus</i> DSM4304
<i>Streptococcus pyogenes</i> M3 MGAS315	<i>Ureaplasma urealyticum</i> serovar 3	<i>Rickettsia sibirica</i> 246
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> MW2	<i>Leptospira interrogans</i> serovar	<i>Rickettsia conorii</i> Malish 7
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Copenhageni Fiocruz L1-130	<i>Vibrio vulnificus</i> CMCP6
<i>Streptococcus pyogenes</i> M18 MGAS8232	<i>Salmonella enterica</i> serovar <i>Typhi</i> CT18	<i>Coxiella burnetii</i> RSA 493
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> J138	<i>Staphylococcus aureus</i> Mu50 (SRSA)	<i>Escherichia coli</i> K12-MG1655
	<i>Streptococcus pyogenes</i> M1 GAS SF370	
	<i>Vibrio cholerae</i> serotype O1, Biotype	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1
	EITor, strain N16961	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> M129
		<i>Haemophilus influenzae</i> Rd KW20
		<i>Salmonella typhimurium</i> LT2 SGSC1412
		<i>Neisseria meningitidis</i> Z2491 (serogroup A)

Fuente: <http://wit.integratedgenomics.com/GOLD/>

de la secuenciación completa del genoma de este bacilo muestra un genoma circular de 4.4 MB la presencia de 3,924 genes, un tercio de ellos con funciones conocidas, un tercio con funciones putativas y el resto con funciones desconocidas.<sup>6</sup>

La investigación genómica aplicada a estudios de bacterias infecciosas necesita de instrumentos que analicen la interacción total de los genes, como los de metabolismo que expliquen la fisiología básica de la bacteria y los de virulencia que causan la infección al humano. La tecnología de microarreglos surge como la herramienta más importante de la genómica para este tipo de estudios.<sup>7,9</sup>

El ensayo de microarreglos proporciona una superficie capaz de acomodar a un gran número de genes; es posible acomodar el genoma completo de una bacteria. El microarreglo es realizado en un sistema robotizado que deposita pequeñas cantidades de material genético (20 picolitros) en una laminilla de vidrio que sirve de soporte sólido para realizar la hibridación de ácidos nucleicos, la emisión de señales de fluorescencia producto de la hibridación permite reconocer a los genes en estudio e interpretar los resultados en un analizador computarizado, con ello se sabe la expresión de miles de genes en un mismo ensayo.<sup>10,11</sup>

La aplicación de los microarreglos en la investigación de agentes infecciosos está intencionada a dos aspectos.

**I. Genómica funcional.** El análisis de perfiles de expresión de genes mediante el RNAm de una bacteria bajo una condición experimental específica (un modelo de infección) y es conocido como el transcriptoma. Otra de las metas del estudio de la expresión de genes es también identificar los genes que están diferencialmente regulados en el huésped y que ofrecen importante información acerca de los mecanismos de respuesta inmune.

**II. Genómica comparativa.** Es el estudio simultáneo de la expresión de genes por dos o más microorganismos, por ejemplo, identificar en bacterias los genes que están regulados, que desempeñan funciones metabólicas comunes como en la expresión genética entre una bacteria patógena y una comensal. También la genómica comparativa está dedicada a investigar la variabilidad genética de patógenos aislados en diferentes áreas geográficas, para hacer estudios de epidemiología con un mismo agente infeccioso.<sup>12,13</sup> Ya se ha informado de avances importantes en el caso de *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). Schnap-pinger y col.<sup>14</sup> en la Universidad de Cornell en los Estados Unidos han analizado por microarreglos las diferencias en la expresión de genes con *M. tuberculosis* desarrollado extracelularmente y con el bacilo infectando a macrófagos activados y no activados, han encontrado que 44 genes del bacilo son inducidos intensamente con macrófagos activados, es decir macrófagos que son capaces de ejercer toda su capacidad antimicrobiana en contra de este bacilo. Lo que sugiere la presencia de algún mecanismo de defensa por parte de *M. tuberculosis*.

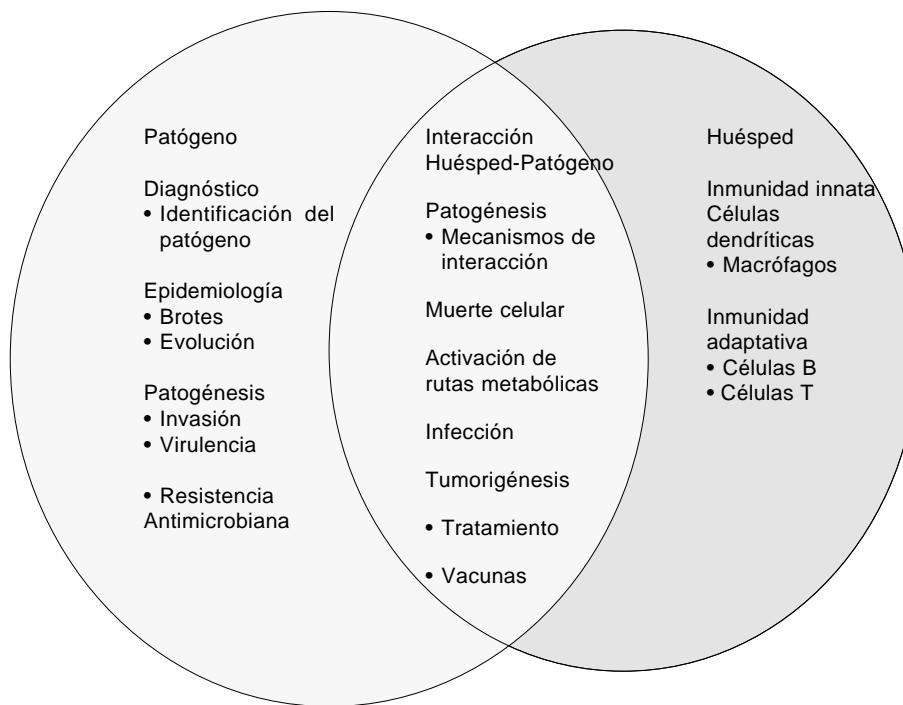
En otra investigación basada en microarreglos, se han realizado importantes estudios de genómica comparativa entre *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) un patógeno del estómago causante de úlcera péptica y cáncer gástrico con *Helicobacter hepaticus* (*H. hepaticus*) una bacteria causante de cáncer hepático en ratones. Los estudios comparativos muestran la falta de genes de virulencia de *H. pylori* en *H. hepaticus* incluyendo adhesinas, la citotoxina VacA, y casi toda la isla de patogenicidad Cag.<sup>15,16</sup> Dobbrindt y col.<sup>17</sup> en Alemania han estudiado por microarreglos la expresión de todos los genes de virulencia conocidos de *E. coli* y sus islas de patogenicidad, como es el caso de *E. coli enteropatogenica* y las diferencias de expresión genética con *E. coli* causante de infecciones extraintestinales (*E. coli uropatogenica*) y cepas de *E. coli* comensales. Estudios con microarreglos tienen importantes contribuciones en el desarrollo de futuras vacunas, reactivos diagnósticos, y antimicrobianos (figura 1).

## Desarrollos de la genómica con aplicaciones en la infectología

Es indudable la información experimental que puede proporcionar la tecnología de microarreglos. Sin embargo, sus aplicaciones en el diagnóstico de enfermedades infecciosas están en proceso de desarrollo comercial y son conocidos como el “Biochip” o “DNAchip” para identificar agentes patógenos de muestras clínicas con alta sensibilidad y especificidad.

Sin embargo, el “Biochip” no es el único desarrollo para el diagnóstico de enfermedades infecciosas apoyados en la genómica. La PCR en tiempo real representa una alternativa de diagnóstico muy importante. Con esta técnica es posible detectar agentes patógenos mediante el uso de sondas específicas marcadas con un reactivo fluorescente (Rojo Texas) tal es el caso de “Molecular Beacons”, o sondas ADN en forma de horquilla, en otro caso, las sondas “Taqman” emiten señales de fluorescencia en el momento de la amplificación del gene en estudio; en ambos se amplifica el material genético en tiempo real.<sup>18</sup> Como indicativo del impacto de estas nuevas aplicaciones al diagnóstico de agentes infecciosos por la PCR en tiempo real basta consultar la publicación *Journal of Clinical Microbiology*<sup>19</sup> por ejemplo, para el año 2003 se publicaron 477 trabajos sobre el tema.

Otro potencial desarrollo al diagnóstico es el “Proteochip” derivado del conocimiento de la expresión total de proteínas de un agente patógeno específico, tiene como fundamento el uso de una membrana de níquel como soporte sólido que contiene decenas o centenas de proteínas características de uno o varios patógenos, el ensayo está basado en la reacción antígeno anticuerpo (como en los inmunoensayos tipo ELISA) emite una señal fluorescente que es detectada y analizada en un sistema computarizado, y se reconoce así la presencia del agente infeccioso de un paciente.<sup>20</sup>



**Figura 1.** La investigación genómica con microarreglos posibilita el estudio del perfil de expresión de genes entre el huésped y el patógeno o analizar por separado cada uno de ellos, de acuerdo a la orientación de la investigación.

Otra derivación de la proteómica son nuevas vacunas contra agentes infecciosos. El conocimiento del proteoma bacteriano permite evaluar proteínas como potenciales antígenos específicos en la respuesta inmune con capacidad protectora y fabricar vacunas.

Tal es el caso de una nueva vacuna contra la tuberculosis. En 1921 A. Calmette y C. Guerin desarrollaron la vacuna BGC antituberculosa con el bacilo *M. bovis* vivo atenuado y ha sido aplicada en todo el mundo. Estudios genómicos recientes muestran que este bacilo ha perdido regiones en su genoma (regiones RD) durante los subcultivos o pases del microorganismo desde 1921, por lo tanto las proteínas con capacidad de protección inmune se han perdido o las proteínas expresadas no son suficientes para proporcionar inmunidad al individuo;<sup>21,22</sup> recientes estudios del proteoma de *M. tuberculosis* y de inmunología están caracterizando proteínas candidatas a vacuna.<sup>23-25</sup>

Por otra parte la información derivada de la secuenciación de genomas puede ser aplicada al desarrollo de nuevos medicamentos para combatir enfermedades infecciosas que manifiestan drogo-resistencia a los fármacos o antibióticos de uso actual. Así surge la farmacogenómica que busca las vías metabólicas que puedan ser inhibidas por nuevas estructuras químicas y destruir al agente patógeno.<sup>26</sup>

Existe una urgencia mundial para contener a la tuberculosis drogo-resistente pues *M. tuberculosis* ha desarrollado mecanismos de resistencia a las drogas tradicionales como isoniazida, rifampicina, etambutol, etc. Se corre el riesgo un serio problema de salud mundial al aparecer las cepas multirresis-

tentes de esta bacteria, por lo cual se requieren nuevos fármacos o antibióticos para su control.<sup>27</sup>

Recientemente McKinney y col.<sup>28</sup> han analizado una ruta metabólica muy importante para *M. tuberculosis* sobre todo cuando infecta a macrófagos, la ruta del glicoxalato, y proponen inhibir con nuevos compuestos químicos a enzimas de esta ruta como la isocitrato liasa y ocasionar la muerte del bacilo.<sup>29</sup> El humano carece de esta ruta metabólica y es posible que la aplicación de un nuevo fármaco no cause toxicidad.

Por otro lado está el empleo de azoles o compuestos químicos que inhiben a los citocromos ya que el genoma de *M. tuberculosis* muestra la presencia de 20 genes que codifican a citocromos. Los azoles son compuestos químicos empleados en la medicina como antifúngicos (fluconazol, ketoconazol) pero tienen un efecto tóxico en el humano cuando se administran a largo plazo. Guardiola y col. proponen el desarrollo de nuevos azoles que sean específicos para *M. tuberculosis*.<sup>31</sup> El desarrollo de nuevos agentes antituberculosos basados en la genómica van a influir en el control de la tuberculosis a nivel mundial y su impacto será determinante. Estudios de este tipo se están realizando para otros microorganismos infecciosos que afectan a la salud.

### La genómica y su integración en la medicina

La investigación genómica aplicable a la infectología, va a acelerar la aparición de nuevos métodos de diagnóstico, vacunas, y medicamentos. Sin embargo, conforme avanza el nuevo milenio las complejidades en los problemas de salud

existentes en los países en subdesarrollo requieren de estrategias efectivas. Situaciones donde aproximadamente cuatro millones de niños mueren cada año por enfermedades infecciosas, para las cuales vacunas u otras formas de prevención deberían estar disponibles. Esto presenta incongruencias entre el surgimiento de las tecnologías genómicas de gran sofisticación que serán empleadas en países desarrollados y las carencias básicas en higiene y salud pública presentes en los países subdesarrollados como México.

Considerando la magnitud de esta polarización no sorprende que las agencias internacionales de la salud como la Organización Mundial de la Salud (OMS) insistan aplicar soluciones inmediatas a la situación de las enfermedades transmisibles y no transmisibles en países subdesarrollados. La medicina genómica deberá ser una solución práctica incluida en la agenda de las instituciones de salud mundiales.

En el año 2001 el director general de la OMS hizo un llamado para conocer el papel de la genómica en la salud. El tema central no era tanto el potencial de utilizar a largo plazo la genómica para la salud, sino los esfuerzos actuales para financiar investigaciones genómicas relacionadas con enfermedades como SIDA, tuberculosis y malaria en países en subdesarrollo.<sup>31</sup>

La genómica no puede reemplazar muchos de los métodos tradicionales de laboratorio en el diagnóstico de enfermedades infecciosas, como el cultivo, o la microscopía que por su costo y efectividad serán usados sin problema por mucho tiempo. Pero en otras situaciones, el diagnóstico rápido de drogo-resistencia o identificación de agentes patógenos difíciles de cultivar, el biochip o PCR en tiempo real serán la elección, y la genómica entonces debe de salir del laboratorio de investigación.

Finalmente, es claro que la genómica representa un factor de cambio en el conocimiento médico, la disponibilidad de estas nuevas tecnologías deberán ser a beneficio de la sociedad, por lo que es necesario desarrollar la medicina genómica en países como México, la aplicación de métodos de diagnóstico a enfermedades infecciosas basados en la genómica es un buen inicio, la genómica deberá convertirse en una especialidad de la medicina.

## Referencias

1. Von Behring E, Kitasato S. The mechanism of diphtheria immunity and tetanus immunity in animals. *Mol Microbiol* 1890; 28: 1317-1320.
2. Roe BA. Shotgun library construction for DNA sequencing. *Methods Mol Biol* 2004; 255: 171-178.
3. Broder S, Venter JC. Whole genomes: the foundation of new biology and medicine. *Curr Opin Biotechnol* 2000; 11: 581-585.
4. Fleischmann RD, Adams MD, White O, Clayton RA, Kirkness EF, Kerlavage AR et al. Whole genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. 1995. *Science* 1995; 269: 496-512.
5. Fraser CM, Goycane JD, White O, Adams MD, Clayton RA, Fleischmann RD et al. The minimal gene complement of *Mycoplasma genitalium*. *Science*. 1995; 270: 397-403.
6. Human Genome Project Information: [http://www.ornl.gov/sci/techre-sources/Human\\_Genome/home.shtml](http://www.ornl.gov/sci/techre-sources/Human_Genome/home.shtml)
7. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D et al. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 1998; 393: 537-44.
8. Rhodius V, Van Dyk KT, Gross C, La Rossa RA. Impact of genomic technology on studies of bacterial gene expression. *Annu Rev Microbiol* 2002; 56: 599-624.
9. Schoolnik KG. Functional and comparative genomics of pathogenic bacteria. *Curr Opin Microbiol* 2002; 5: 20-26.
10. Fadiel A, Naftolin F. Microarray applications and challenges: a vast array of possibilities. *Int Arch Biosci* 2003; 1111-1121.
11. Bryant AP, Venter D, Browne-Robins R, Curtis N. Chips with everything: DNA microarrays in infectious diseases. *Lancet*. 2004; 4: 100-111.
12. Rick WY, Wang T, Bedzyk L, Croker MK. Application of DNA microarray in microbial systems. *J Microbiol Meth* 2001; 47: 257-272.
13. Suerbaum S, Josenhans C, Claus H, Frosch M. Bacterial genomics: seven years on. *Trends Microbiol*. 2002; 10: 351-353.
14. Anderson GV, Alsmark C, Canback B, Wagied D, Frank C, Kalberg O et al. Comparative genomics of microbial pathogens and symbionts. *Bioinformatics*. 2002; 18: 17.
15. Schnappinger D, Ehrt S, Voskuil IM, Liu Y, Mangan AJ, Butcher DP et al. Transcriptional Adaptation of *Mycobacterium tuberculosis* within Macrophages: Insights into the Phagosomal Environment. *J Exp Med* 2003; 198: 693-704.
16. Covacci A, Rappuoli R. *Helicobacter pylori*: after the genomes, back to biology. *J Exp Med* 2003; 197: 807-811.
17. Suerbaum S, Josenhans C, Sterzenbach T, Drescher B, Brandt P, Bell M et al. The complete genome sequence of the carcinogenic bacterium *Helicobacter hepaticus*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100: 7901-7906.
18. Dobrindt U, Agerer F, Michaelis K, Janka A, Buchrieser C, Samuelson et al. Analysis of genome plasticity in pathogenic and comensal *Escherichia coli* isolates by use of DNA arrays. *J Bacteriol* 2003; 185: 1831-1840.
19. Cockerill RF. Application of rapid-cycle real-time polymerase chain reaction for diagnostic testing in the clinical laboratory. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127: 1112-1120.
20. Journal of Clinical Microbiology. <http://jcm.asm.org/>
21. Kiechle FL, Holland-Stanley CA. Genomics, transcriptomics, proteomics and numbers. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127: 1089-1097.
22. Behr MA. Correlation between BCG genomics and protective efficacy. *Scand J Infect Dis* 2001; 33: 249-252.
23. Behr MA. Comparative genomics of BCG vaccines. *Tuberculosis*. 2001; 81: 165-168.
24. Rosenkrands I, King A, Weldingh K, Moniatte M, Moertz E, Andersen P. Towards the proteome of *Mycobacterium tuberculosis*. *Electrophoresis* 2000; 21: 3740-3756.
25. Urquhart BL, Cordwell SJ, Humphrey-Smith I. Comparison of predicted and observed properties of proteins encoded in the genome of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 253: 70-79.
26. Cockle PJ, Gordon SV, Lalvani A, Buddle MB, Hewinson RG, Vordermeier HM. Identification of novel *Mycobacterium tuberculosis* antigens as diagnostic reagents or subunit vaccine candidates by comparative genomics. *Infect Immun* 2002; 70: 6996-7003.
27. Hughes D. Exploiting genomics, genetics and chemistry to combat antibiotic resistance. *Nat Rev Genetics*. 2003; 4: 432-441.
28. Zhang Y, Amzel LM. Tuberculosis drug targets. *Curr Drug Targets* 2002; 3: 131-154.
29. McKinney JD, Honer zu Bentrup K, Munoz-Elias J, Miczak A, Chen B, Chang W-T et al. Persistence of *Mycobacterium tuberculosis* in macrophages and mice requires the glyoxylate shunt enzyme isocitrate lyase. *Nature* 2000; 406: 735-738.
30. Sharma V, Sharma S, Honer zu Bentrup K, McKinney JD, Russell DG, Jacobs WR, Sacchettini JC. The structure of *M. tuberculosis* iso-

- citrate lyase: A lynchpin to survival within the immune host. *Nat Struct Biol* 2000; 7: 663-668.
31. Guardiola-Diaz HM, Foster LA, Mushrush D, Vaz AD. Azole-antifungal binding to a novel cytochrome P450 from *Mycobacterium tu-*
- berculosis*: implications for the treatment of tuberculosis. *Biochem Pharmacol* 2001; 61: 1463-1470.
32. UNICEF/UNDP/World Bank/WHO. Genome to drugs and diagnostics 2004. <http://www.who.int/tdr/grants/workplans/genomics.htm>