

Portafolio

Genotipificación y epidemiología molecular de tuberculosis; su utilidad para la salud

Diana Viveros-Luna,
Betchaa Lefort,
Luis Rendón-Bautizta,
Roberto Zenteno-Cuevas.



Genotipificación y epidemiología molecular de tuberculosis; su utilidad para la salud

Genotyping and molecular epidemiology of tuberculosis; its usefulness for health care

Diana Viveros-Luna¹, Betchaa Lefort²,
Luis Rendón-Bautista³, Roberto Zenteno-Cuevas^{4-5*}

Palabras claves:

Tuberculosis, genotipificación, epidemiología, molecular, genomas

Keywords: *Tuberculosis, genotyping, molecular, epidemiology, genome*

Introducción

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), para el año 2019, cerca de 10.5 millones de personas se vieron afectadas por tuberculosis (TB) y 1.5 millones murieron por esta enfermedad (World Health Organization (Global Tuberculosis Programme), 2020). La TB es causada predominantemente por *M. tuberculosis*, y se transmite de persona a persona, mediante microgotas de saliva que transportan a la bacteria. El contacto prolongado con una persona infectada, así como el grado de infección y el ambiente común son factores de riesgo para adquirir TB (figura 1). Si bien es una enfermedad curable, el tratamiento que regularmente tiene una duración de cuatro a seis meses en los que se administra cuatro antibióticos de manera combinada, puede llegar a prolongarse hasta un año o más en caso de que se trate de una infección resistente al tratamiento estándar.

1. Doctorado en Ciencias Biomedicas, Universidad Veracruzana, Xalapa. México.
2. Maestría en Salud Publica, Universidad Veracruzana, Xalapa. México.
3. Maestría en Ciencias Biomédicas, Universidad Veracruzana, Xalapa. México.
4. Instituto de Salud Pública, Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México. robzencue@gmail.com
5. Red Multidisciplinaria de Investigación en Tuberculosis en México. www.remitb.org

* Autor correspondiente. Instituto de Salud Pública, Universidad Veracruzana. Av. Luis Castelazo Ayala s/n, A.P. 57 Col. Industrial Animas. Xalapa, Veracruz, 91190, México robzencue@gmail.com. Tel: +52 228-841-8933. Fax: +52 228-841-8935 e-mail: robzencue@gmail.com.

a)



b)



**Figura 1. a) Aislamientos clínicos de *M. tuberculosis* en una campana de bioseguridad.
b) Aislamiento clínico de *M. tuberculosis* (puntos blancos) un medio de crecimiento sólido. Fuente propia**

Genotipificación de tuberculosis y epidemiología molecular

M. tuberculosis representa uno de los ejemplos más extremos de homogeneidad genética y ausencia de mecanismos de trasferencia horizontal de material genético. Las técnicas de epidemiología molecular en tuberculosis se fundamentan en el estudio de distintas regiones genómicas, las cuales permiten identificar el patrón genético de cada aislado, también conocido como “huella genética” o genotipo, y con ello identificar los linajes o grupos genéticos asociados, lo que a su vez permite generar información importante sobre el comportamiento de estos genotipos y así determinar rutas de trasmisión e inclusive el inicio o la expansión de nuevos brotes.

La epidemiología molecular es una novedosa área de investigación que involucra el análisis de marcadores genéticos presentes en un agente patógeno y su análisis conjunto con información epidemiológica, con estos datos es posible identificar los factores de riesgo asociados con una enfermedad y generar un mejor entendimiento de dicho padecimiento e implementar medidas de salud pública.

En el caso específico de tuberculosis es posible realizar estudios de transmisión local, regional o global de aislados de TB que comparten el mismo o similar genotipo y que se encuentran circulando en la población (Coll & García de Viedma, 2018).

Técnicas de genotipado en tuberculosis

De manera predominante son dos las técnicas de genotipado empleadas en estudios de epidemiología molecular de TB:

i) Espoligotipado

El espoligotipado o espoligotipificación, es una técnica basada en la amplificación, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), de espaciadores (fragmentos de ADN no codificante) presentes en la región “DR” (repeticiones directas) en el cromosoma de *M. tuberculosis* (figura 2). La región DR se compone de una secuencia repetida de 36 pb conservada y de una secuencia espaciadora variable de 35 a 41 pb; el blanco de la tipificación es esta región variable. La combinación de “ausencia o presencia” permite la construcción de los patrones específicos entre cepas similares o diferentes (figura 2a). A cada patrón se le asigna un código numérico, mismo que representa su tipo internacional de espoligotipo, a partir del cual es reconocido a nivel mundial, y con ello determinar si es linaje con distribución global o local.

ii) Número Variable de Repeticiones en Tándem de Unidades Repetitivas de Micobacteria (MIRU-VNTR)

Esta técnica se basa en la amplificación por PCR de 43 regiones polimórficas empleando iniciadores específicos para cada región o locus, la cuantificación del peso molecular de las Unidades Repetitivas Inter espaciadoras en micobacterias (MIRU-VNTR). La identificación suele hacerse por migración electroforética en geles de poliacrilamida (figura 2b), generando un código numérico representativo del número de copias presentes en cada locus el cual puede variar de aislado en aislado. Al igual que con los espoligotipos, cada patrón específico se le asigna un código numérico, es decir, su tipo internacional de MIRU, a partir del cual es reconocido local o globalmente.

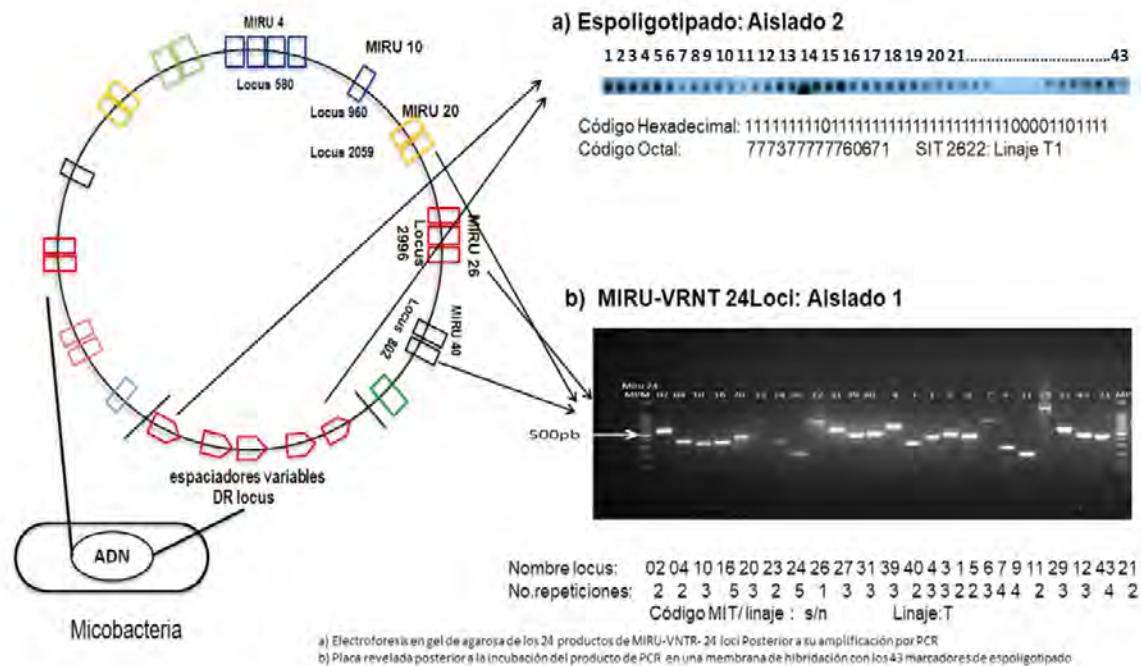


Figura 222. Técnicas de genotipificación en *Mycobacterium tuberculosis* a) Espoligotipado, b) MIRU-VNTR. Fuente propia

Secuenciación de genoma completo y epidemiología molecular en TB

La última década testificó el desarrollo e implementación de novedosas tecnologías de secuenciación masiva de ADN, estos procedimientos son económicos, rápidos y permiten secuenciar genomas completos en cuestión de horas. Gracias a lo anterior la secuenciación del genoma de micobacterias ha tenido un crecimiento exponencial, se ha utilizado para realizar análisis de genotipificación y con ello estudios de epidemiología molecular de TB, los cuales poseen una profundidad y exactitud no vista con las técnicas anteriores (Zakham et al., 2019) especially in the setting of multiple contact-tracing investigations. The aim of this study was to address the added-value of whole-genome sequencing (WGS).

Sistemas de vigilancia epidemiológico-molecular en TB

Uno de los aspectos más importantes de estas técnicas de genotipificación, consiste en que pueden ser empleadas para apoyar a los programas de control en TB mediante el desarrollo de programas de vigilancia de epidemiología molecular, cuyos resultados permiten entender la dinámica de TB y con ello implementar intervenciones fundamentadas en dichas características.

A partir de su facilidad de realización, reproducibilidad, bajo costo y alta eficiencia para la caracterización genotípica, es que la secuenciación de genomas completos (WGS), se está incorporando como una herramienta fundamental para el desarrollo de sistemas de vigilancia epidemiológico-genómica de TB en diversos países de Europa y Asia, por lo que se considera será el próximo estándar global (van der Werf & Ködmön, 2019) WGS data were produced centrally (i.e., in one laboratory).

En México los estudios de genotipificación empleando MIRU-VNTR y espoligotipado, son escasos y los resultados muestran diferencias en los linajes presentes en diversos estados del país. Por ejemplo, mientras que en Guadalajara, Monterrey y San Luis Potosí, predomina el linaje T, en el estado de México y Baja California y Veracruz predominan los linajes X, LAM y H respectivamente. Ubicando a los estados de Guerrero y Veracruz con el mayor número de aislados con linaje EAI.

Actualmente en nuestro país, la secuenciación de genomas completos solo ha sido empleada para describir aislados circulantes en los estados de Jalisco (figura 3a) y Veracruz (figura 3b) (Jiménez-Ruano et al., 2021; Rendon-Bautista, 2020) nevertheless, reports of its use in drug resistant TB (DR-TB). Este análisis ha permitido confirmar la utilidad de este procedimiento para la caracterización genotípica, por lo que no se descarta su potencial utilidad para desarrollar un sistema de vigilancia epidemiológico-molecular de TB en México.



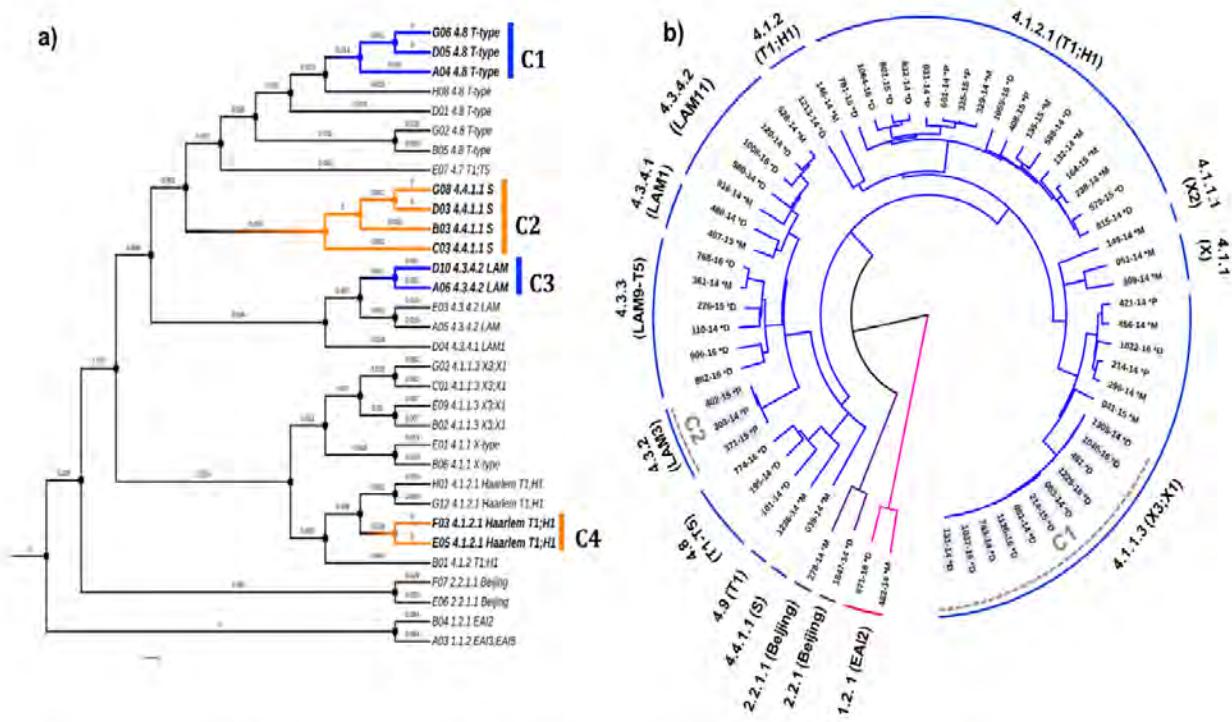


Figura 3. a) Árbol filogenómico de asilados de tuberculosis provenientes de a) Guadalajara, y b) Veracruz. C= complejo clonal. Fuente propia.

En conclusión, se puede decir que la epidemiología molecular aplicada al estudio de la tuberculosis permitirá emitir recomendaciones importantes para el manejo clínico del paciente infectado y en consecuencia en el control epidemiológico de la enfermedad y con ello tener una participación importante en el desarrollo de nuevas estrategias que permitan alcanzar la meta de disminución y erradicación de TB como un problema de salud pública para el año 2030, de acuerdo con las metas de desarrollo del milenio.

Bibliografía

- Coll, P., & García de Viedma, D. (2018). Epidemiología molecular de la tuberculosis. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 36(4), 233–240. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2018.01.001>
- Jiménez-Ruano, A. C., Madrazo-Moya, C. F., Cancino-Muñoz, I., Mejía-Ponce, P. M., Licona-Cassani, C., Comas, I., ... Zenteno-Cuevas, R. (2021). Whole genomic sequencing based genotyping reveals a specific X3 sublineage restricted to Mexico and related with multidrug resistance. *Scientific Reports*, 11(1), 1870. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80919-5>
- Rendon-Bautista, L. (2020). *Caracterización genómica mediante secuenciación de genoma completo (WGS) de aislados clínicos de tuberculosis circulantes en Jalisco*. UNiversidad Veracruzana.
- van der Werf, M. J., & Ködmön, C. (2019). Whole-genome sequencing as tool for investigating international tuberculosis outbreaks: A systematic review. *Frontiers in Public Health*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00087>
- World Health Organization (Global Tuberculosis Programme). (2020). *Global tuberculosis report 2020*. World Health Organization. Retrieved from <https://www.who.int/publications/item/9789240013131>
- Zakham, F., Laurent, S., Esteves Carreira, A. L., Corbaz, A., Bertelli, C., Masserey, E., ... Opota, O. (2019). Whole-genome sequencing for rapid, reliable and routine investigation of Mycobacterium tuberculosis transmission in local communities. *New Microbes and New Infections*, 31. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100582>