

València, 5 de septiembre de 2024

Desarrollan un método de secuenciación genómica que acelera el diagnóstico de la tuberculosis a partir de esputos del paciente

- El Instituto de Biomedicina de Valencia consigue secuenciar el genoma completo de la bacteria que provoca la enfermedad a partir de la secreción expulsada por el enfermo y compararlo con los cultivos bacterianos
- Este método no solo identifica la bacteria, sino que también obtiene posibles resistencias a fármacos y mutaciones, permitiendo un tratamiento óptimo en solo unos días en lugar de semanas



Micrografía electrónica de barrido de partículas de *Mycobacterium tuberculosis* (coloreadas en rojo y amarillo), la bacteria que causa la tuberculosis. NIAID

Un grupo de investigación del Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV), del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), ha conseguido obtener el genoma completo de la bacteria que provoca la tuberculosis a partir de muestras de esputos de pacientes mediante técnicas de secuenciación genética. Esto permite acelerar el

diagnóstico de la enfermedad y obtener el perfil genético completo del bacilo, lo que, a diferencia de los métodos moleculares empleados actualmente, ofrece información completa sobre posibles resistencias a fármacos y mutaciones. Los resultados de este trabajo, obtenidos con muestras de pacientes en Mozambique y Georgia, se publican en la revista *Nature Communications*.

El estudio de la Unidad de Genómica de la Tuberculosis del IBV-CSIC comparó la diversidad genética de *Mycobacterium tuberculosis*, la bacteria causante de la tuberculosis, presente en muestras de esputo de pacientes utilizando técnicas de secuenciación genética con las de sus cultivos correspondientes. Este método de cultivar la bacteria a partir de muestras del enfermo tiene más de un siglo, pero sigue siendo el más utilizado para diagnosticar la tuberculosis en los países donde la enfermedad es endémica. Según datos de la OMS, la tuberculosis es la segunda enfermedad infecciosa más mortífera después de la COVID-19, y en 2022 mató a 1,3 millones de personas.

“Algunos estudios sugieren que el proceso de cultivo podría no capturar toda la diversidad genética de la muestra del paciente debido a la presencia de linajes o cepas mejor adaptadas al crecimiento en condiciones *in vitro*”, explica **Carla Mariner**, investigadora del CSIC en el IBV y primera autora del trabajo. “Los cultivos no solo se usan para el diagnóstico, sino también para investigar el genoma de la bacteria, por lo que, si esta hipótesis fuera cierta, implicaría un sesgo en los resultados diagnósticos y científicos que podría resultar en un falso diagnóstico”, asegura la investigadora.

Para investigar si esto es cierto, el equipo del IBV-CSIC ha diseñado una técnica para obtener y analizar el genoma de *Mycobacterium tuberculosis* a partir de los esputos mediante secuenciación directa, y compararlo con sus respectivos cultivos. “Obtener la secuenciación directa del genoma completo de una muestra como el esputo es complicado, debido a que la presencia de la bacteria en la muestra es mínima comparada con la microbiota comensal o células humanas”, argumenta **Mariana Gabriela López**, una de las investigadoras del CSIC que lidera el trabajo. “Nosotros hemos desarrollado protocolos que permiten esta secuenciación directa y, por tanto, hemos podido comparar la diversidad del esputo con la del cultivo”.

Fiabilidad genética de los cultivos

El equipo del IBV-CSIC analizó muestras de dos países con una incidencia alta y media de tuberculosis, Mozambique y Georgia, y validó el método con tres conjuntos de datos adicionales de muestras de diferentes países publicados previamente. Los resultados demuestran que la diversidad genética de la bacteria de la tuberculosis obtenida mediante secuenciación se refleja en el cultivo en todos los escenarios analizados. “Las diferencias genéticas entre el cultivo y el esputo son mínimas, lo que indica que el cultivo no distorsiona la información genética”, resume Carla Mariner. “Además, cuando comparamos el perfil de resistencia a fármacos mediante secuenciación de esputos y cultivos no vemos diferencias, lo que refuerza la fiabilidad del cultivo”.

“Trabajar con esputos supone un reto debido a que se trata de muestras complejas que tienen muy poca cantidad de *M. tuberculosis*. A pesar de ello aporta una gran ventaja,

ya que acelera la obtención de resultados de semanas a días”, afirma **Iñaki Comas**, director de la Unidad de Genómica de la Tuberculosis del IBV-CSIC. Por ello hay un gran interés por desarrollar técnicas de secuenciación libres de cultivo, aunque hasta ahora los estudios no habían obtenido suficiente calidad de secuenciación como para analizar en profundidad la diversidad genética presente en las muestras diagnósticas y compararla con los cultivos, sostiene el científico del CSIC.

Tratamiento en solo unos días en lugar de semanas

Su estudio es el primero que ha conseguido secuenciar con éxito 61 esputos, incluyendo muestras con solo un 1% de la bacteria. “La secuenciación del genoma completo de la *M. tuberculosis* permite tener toda la información en comparación con las técnicas de diagnóstico molecular o la secuenciación de paneles de genes de resistencia recomendadas por la OMS para el diagnóstico de la tuberculosis”, apunta Comas. “En cambio, conociendo el genoma completo con la secuenciación genómica podemos identificar mayor variedad de mutaciones de resistencia a antibióticos e incluso realizar estudios epidemiológicos”.

La mayor desventaja de los cultivos es el lento crecimiento de la bacteria, que puede ralentizar la obtención de resultados hasta más de un mes, periodo durante el cual el paciente no recibiría el tratamiento adecuado. “Con la secuenciación del esputo el diagnóstico se realizaría de forma más rápida, no solo identificando la bacteria sino obteniendo también su perfil de resistencias. Esto permitiría dar un tratamiento óptimo al paciente en solo unos días en lugar de esperar semanas”, resume Comas.

Aunque actualmente la secuenciación directa de esputo no está optimizada para su uso en la clínica, sobre todo en cuanto a costes, este estudio marca un paso importante hacia su implementación futura, remarcan los investigadores del CSIC. Así, la Unidad de Genómica de la Tuberculosis del IBV-CSIC diseña ahora los próximos pasos para acercar el método a la práctica clínica.

En el estudio colaboran el Instituto de Salud Global de Barcelona (ISGlobal); Swiss TPH; Centro de Investigaçao em saude de Manhiça (Maputo, Mozambique); y National Center for Tuberculosis and Lung Diseases, (Tbilisi, Georgia). Ha recibido financiación del European Research Council (ERC); Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades; Fundació La Caixa; Stop TB partnership; International Science and Technology Center (ISTC); y National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIH). En el CSIC, la tuberculosis y otras enfermedades transmisibles de salud global forman parte de las prioridades de la Plataforma Interdisciplinar de Salud Global.

Referencia:

Carla Mariner-Llicer, Galo A. Goig, Manuela Torres-Puente, Sergo Vashakidze, Luis M. Villamayor, Belén Saavedra-Cervera, Edson Mambuque, Iza Khurtsilava, Zaza Avaliani, Alex Rosenthal, Andrei Gabrielian, Marika Shurgaia, Natalia Shubladze, Alberto L. García-Basteiro, Mariana G. López, Iñaki Comas. **Genetic diversity within diagnostic sputum samples is mirrored in the culture of *Mycobacterium tuberculosis* across different settings.** *Nature Communications* 2024 DOI: 10.1038/s41467-024-51266-0