

València, 5 de setembre de 2024

Desenvolupen un mètode de seqüenciació genòmica que accelera el diagnòstic de la tuberculosi a partir d'esputs del pacient

- L'Institut de Biomedicina de València aconseguix seqüenciar el genoma complet del bacteri que provoca la malaltia a partir de la secreció expulsada pel malalt i comparar-lo amb els cultius bacterians
- Aquest mètode no sols identifica el bacteri, sinó que també obté possibles resistències a fàrmacs i mutacions, permetent un tractament òptim en solo uns dies en lloc de setmanes



Micrografia electrònica d'escombratge de partícules de *Mycobacterium tuberculosis* (acolorides en roig i groc), el bacteri que causa la tuberculosi. NIAID

Un grup d'investigació de l'Institut de Biomedicina de València (IBV), del Consell Superior d'Investigacions Científiques (CSIC), ha aconseguit obtindre el genoma complet del bacteri que provoca la tuberculosi a partir de mostres d'esputs de pacients mitjançant tècniques de seqüenciació genètica. Això permet accelerar el diagnòstic de la malaltia i

obtindre el perfil genètic complet del bacil, la qual cosa, a diferència dels mètodes moleculars emprats actualment, ofereix informació completa sobre possibles resistències a fàrmacs i mutacions. Els resultats d'aquest treball, obtinguts amb mostres de pacients a Moçambic i Geòrgia, es publiquen en la revista *Nature Communications*.

L'estudi de la Unitat de Genòmica de la Tuberculosi de l'IBV-CSIC va comparar la diversitat genètica de *Mycobacterium tuberculosis*, el bacteri causant de la tuberculosi, present en mostres d'esput de pacients utilitzant tècniques de seqüenciació genètica amb les dels seus cultius corresponents. Aquest mètode de cultivar el bacteri a partir de mostres del malalt té més d'un segle, però continua sent el més utilitzat per a diagnosticar la tuberculosi als països on la malaltia és endèmica. Segons dades de l'OMS, la tuberculosi és la segona malaltia infecciosa més mortífera després de la COVID-19, i en 2022 va matar a 1,3 milions de persones.

“Alguns estudis suggereixen que el procés de cultiu podria no capturar tota la diversitat genètica de la mostra del pacient a causa de la presència de llinatges o ceps millor adaptats al creixement en condicions *in vitro*”, explica **Carla Mariner**, investigadora del CSIC en l'IBV i primera autora del treball. “Els cultius no sols s'usen per al diagnòstic, sinó també per a investigar el genoma del bacteri, per la qual cosa, si aquesta hipòtesi fora certa, implicaria un biaix en els resultats diagnòstics i científics que podria resultar en un fals diagnòstic”, assegura la investigadora.

Per a investigar si això és cert, l'equip de l'IBV-CSIC ha dissenyat una tècnica per a obtindre i analitzar el genoma de *Mycobacterium tuberculosis* a partir dels esputs mitjançant seqüenciació directa, i comparar-ho amb els seus respectius cultius. “Obtindre la seqüenciació directa del genoma complet d'una mostra com l'esput és complicat, pel fet que la presència del bacteri en la mostra és mínima comparada amb la microbiota comensal o cèl·lules humanes”, argumenta **Mariana Gabriela López**, una de les investigadores del CSIC que lidera el treball. “Nosaltres hem desenvolupat protocols que permeten aquesta seqüenciació directa i, per tant, hem pogut comparar la diversitat de l'esput amb la del cultiu”.

Fiabilitat genètica dels cultius

L'equip de l'IBV-CSIC va analitzar mostres de dos països amb una incidència alta i mitjana de tuberculosi, Moçambic i Geòrgia, i va validar el mètode amb tres conjunts de dades addicionals de mostres de diferents països publicats prèviament. Els resultats demostren que la diversitat genètica del bacteri de la tuberculosi obtinguda mitjançant seqüenciació es reflecteix en el cultiu en tots els escenaris analitzats. “Les diferències genètiques entre el cultiu i l'esput són mínimes, la qual cosa indica que el cultiu no distorsiona la informació genètica”, resumeix Carla Mariner. “A més, quan comparem el perfil de resistència a fàrmacs mitjançant seqüenciació d'esputs i cultius no veiem diferències, la qual cosa reforça la fiabilitat del cultiu”.

“Treballar amb esputs suposa un repte pel fet que es tracta de mostres complexes que tenen molt poca quantitat de *M. tuberculosis*. Malgrat això aporta un gran avantatge, ja que accelera l'obtenció de resultats de setmanes a dies”, afirma **Iñaki Comas**, director

de la Unitat de Genòmica de la Tuberculosi de l'IBV-CSIC. Per això hi ha un gran interès per desenvolupar tècniques de seqüenciació lliures de cultiu, encara que fins ara els estudis no havien obtingut suficient qualitat de seqüenciació com per a analitzar en profunditat la diversitat genètica present en les mostres diagnòstiques i comparar-la amb els cultius, sosté el científic del CSIC.

Tractament en uns dies en lloc de setmanes

El seu estudi és el primer que ha aconseguit seqüenciar amb èxit 61 esputs, incloent-hi mostres amb només un 1% del bacteri. “La seqüenciació del genoma complet de la *M. tuberculosis* permet tindre tota la informació en comparació amb les tècniques de diagnòstic molecular o la seqüenciació de panells de gens de resistència recomanades per l'OMS per al diagnòstic de la tuberculosi”, apunta Comes. “En canvi, coneixent el genoma complet amb la seqüenciació genòmica podem identificar major varietat de mutacions de resistència a antibiòtics i fins i tot realitzar estudis epidemiològics”.

El major desavantatge dels cultius és el lent creixement del bacteri, que pot alentir l'obtenció de resultats fins més d'un mes, període durant el qual el pacient no rebria el tractament adequat. “Amb la seqüenciació de l'esput el diagnòstic es realitzaria de forma més ràpida, no sols identificant el bacteri sinó obtenint també el seu perfil de resistències. Això permetria donar un tractament òptim al pacient en solo uns dies en lloc d'esperar setmanes”, resumeix Comes.

Encara que actualment la seqüenciació directa d'esput no està optimitzada per al seu ús en la clínica, sobretot quant a costos, aquest estudi marca un pas important cap a la seua implementació futura, remarquen els investigadors del CSIC. Així, la Unitat de Genòmica de la Tuberculosi de l'IBV-CSIC dissenya ara els pròxims passos per a acostar el mètode a la pràctica clínica.

En l'estudi col·laboren l'Institut de Salut Global de Barcelona (ISGlobal); Swiss TPH; Centre de Investigação em saúde de Manhica (Maputo, Moçambic); i National Center for Tuberculosis and Lung Diseases, (Tbilissi, Geòrgia). Ha rebut finançament del European Research Council (ERC); Ministeri de Ciència, Innovació i Universitats; Fundació La Caixa; Stop TB partenariat; International Science and Technology Center (ISTC); i National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIH). En el CSIC, la tuberculosi i altres malalties transmissibles de salut global formen part de les prioritats de la Plataforma Interdisciplinària de Salut Global.

Referència:

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