

EDITORIAL

EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE AGENTES INFECCIOSOS

En la naturaleza los agentes infecciosos de importancia en Salud Pública son heterogéneos en cuanto a las variedades poblacionales o cepas de la misma especie y generalmente las propiedades biológicas y clínicas se pueden asociar al *background* (trasfondo) genético de la población del agente infeccioso. Sin embargo, es necesario conocer el mecanismo de reproducción del microorganismo, ya que si existe sexualidad o clonalidad, la variabilidad experimentada en el tiempo puede ser distinta y una característica biológica podría no corresponder fácilmente con el linaje o *background* genético. Esto último no suele ocurrir ya que la mayoría de las bacterias, parásitos y virus no experimentan reproducción sexual, de modo que usualmente existe correspondencia entre genotipo y fenotipo. Esta simple característica es aprovechada por los epidemiólogos moleculares para poder seguir o rastrear las cepas de un determinado agente infeccioso. Un ejemplo de utilidad del estudio sobre la epidemiología molecular se refiere a la detección, en sujetos infectados, de cepas de *Helicobacter pylori* resistentes a la claritromicina. Esto ha sido posible porque estas variantes pueden ser detectadas por un ensayo de PCR-RFLP, como será descrito más adelante. Las variantes resistentes presentan una mutación en el gen para el rRNA 23S, en un área que contiene el sitio catalítico de formación del enlace peptídico. Esta mutación es fácilmente detectable por la técnica descrita, lo que permite tratar a estos pacientes con antibióticos alternativos y analizar la posible propagación de este carácter en las poblaciones infectantes de una cierta región geográfica.

La tipificación epidemiológica de agentes patógenos es una herramienta cada vez más necesaria para responder un importante número de preguntas en el área de la salud pública. Por ejemplo, en el caso de un brote infeccioso se puede conocer la extensión y rastrear el modo de transmisión de las variantes genéticas del patógeno. También es posible asociar fenómenos de resistencia a drogas y rastrear sintomatología clínica específica y su diseminación en los pacientes. Más aun, en casos de un plan de vigilancia epidemiológica de larga data es posible determinar la prevalencia en el tiempo y la dispersión geográfica de las poblaciones naturales de agentes patógenos.

Para lograr estos objetivos sólo es necesario disponer de simples métodos de tipificación molecular capaces de clasificar los agentes infecciosos con base en la biodiversidad genómica en grupos de poblaciones genéticamente diferenciables. Estos métodos deben cumplir con los siguientes requisitos: *a.* Tipificabilidad, es decir, determinar la cuantía de diferentes poblaciones asignadas

como tipos o variantes; *b.* Reproducibilidad, o sea la capacidad del método de obtener la misma tipificación una vez repetido el examen; *c.* Estabilidad, que representa la constancia en el tiempo y en las generaciones, de lograr idéntica tipificación, y *d.* Poder de resolución, que representa la clave del sistema o método de tipificación, es decir, condiciona la probabilidad de distinguir entre entidades genéticamente relacionadas del patógeno. Estos métodos o marcadores genéticos son múltiples. Los más complejos analizan el polimorfismo del DNA cromosomal mediante electroforesis de campo pulsado (PFGE), con el uso de sondas de DNA específicas o sin él. Otros métodos más simples utilizan el polimorfismo de longitud de (los fragmentos de DNA) enzimas de restricción (RFLP), seguido de hibridación con sondas de DNA o el uso de endonucleasas de sitios de cortes infrecuentes, seguido por electroforesis de campo pulsado. Especial mención merece la ribotipificación, ya que suele ser la estrategia más versátil y usada para el análisis con sondas, pues la conservación evolutiva del RNA ribosomal lo hace aplicable como sonda universal. Este método es altamente estable y reproducible y actualmente está disponible en el comercio. La única limitante de estas técnicas es que requieren una cantidad de DNA relativamente grande, lo cual exige etapas de amplificación del agente infeccioso y puede ser un inconveniente en el caso de poblaciones mixtas.

Últimamente, con el uso de la PCR se han desarrollado otros métodos más simples para diferenciar variantes de un mismo patógeno y que no requieren la amplificación adicional, sino que se usa directamente desde la muestra biológica. La técnica más usada es el análisis de polimorfismo (en los fragmentos resultantes de la digestión del DNA amplificado por PCR, con diferentes enzimas de restricción) de longitud de enzimas de restricción del DNA amplificado por PCR. La ventaja de esta metodología es que es rápida, no requiere grandes cantidades del patógeno y es de alta reproducibilidad, aunque es de moderado poder discriminativo. Finalmente, la técnica de máxima sensibilidad para discriminar variantes es la secuencia de DNA de algún producto de DNA amplificado por PCR, aunque el costo y tiempo requerido para obtener resultados son, por ende, altos y limitantes para estos propósitos.

En resumen, es posible hoy en día usar múltiples sistemas moleculares de tipificación, algunos muy simples como son los que usan PCR, de modo que los avances en el entendimiento de las bases biológicas de la biodiversidad de los agentes patógenos mejorarán la comprensión de la epidemiología de una cierta enfermedad y redundarán en un control más efectivo, además de que servirán para diseñar estrategias preventivas más

eficaces. Actualmente, con el uso de modernas tecnologías de micro-array, es posible contener en una membrana una biblioteca de DNA clonado (hasta 10.000 genes distintos), el cual, con un simple ensayo de hibridación con la muestra proveniente del organismo infectante, permite obtener un patrón de hibridación. Este patrón

hace posible caracterizar el microorganismo infectante con alto poder de discriminación y rapidez.

Aldo Solari, Ph. D.
Facultad de Medicina
Universidad de Chile