

Principios básicos de la secuenciación y su interpretación



02/09/2026

Jaime Lagos B.
Sección Micobacterias
Departamento Biomédico, Nacional y de
Referencia

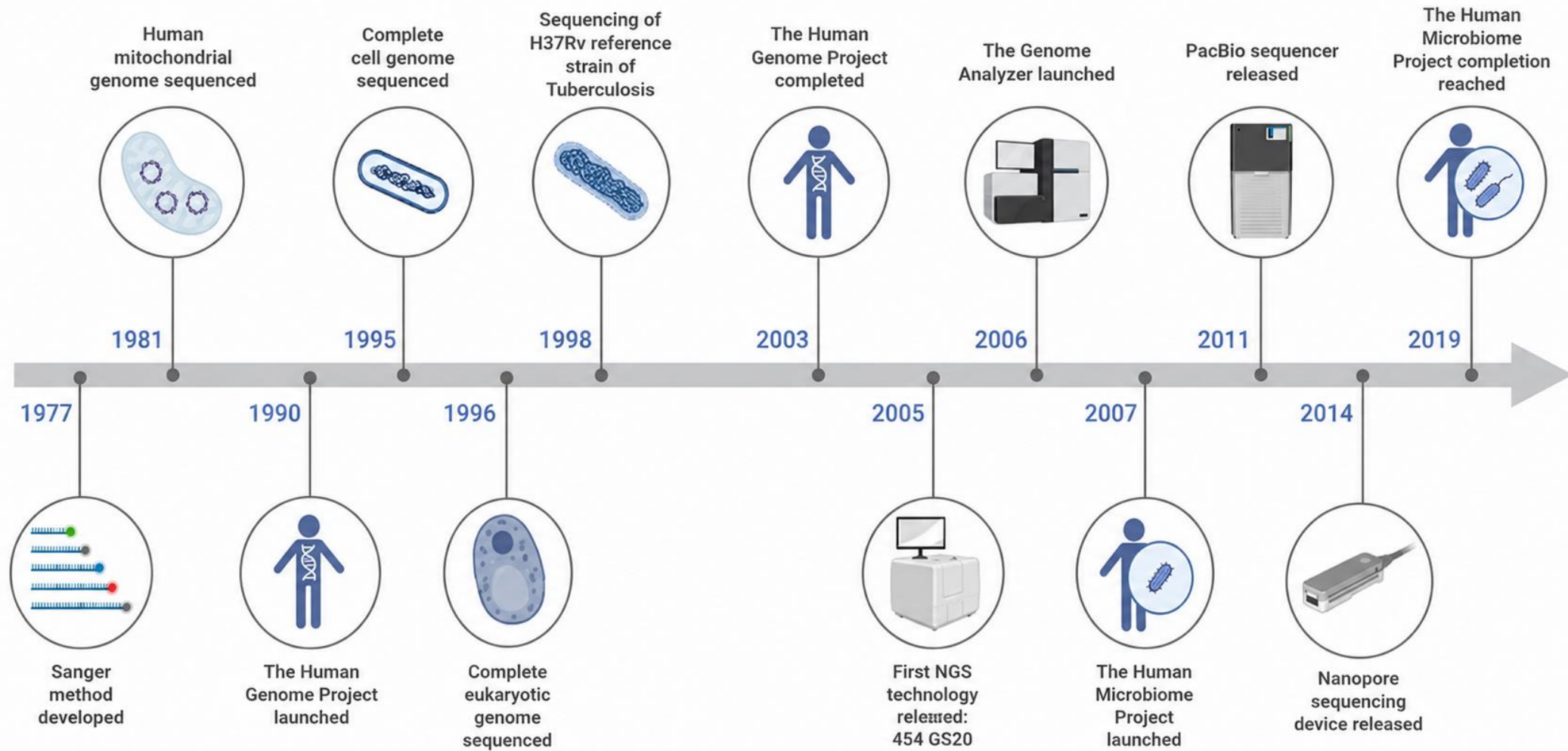
¿Que es la secuenciación genética?



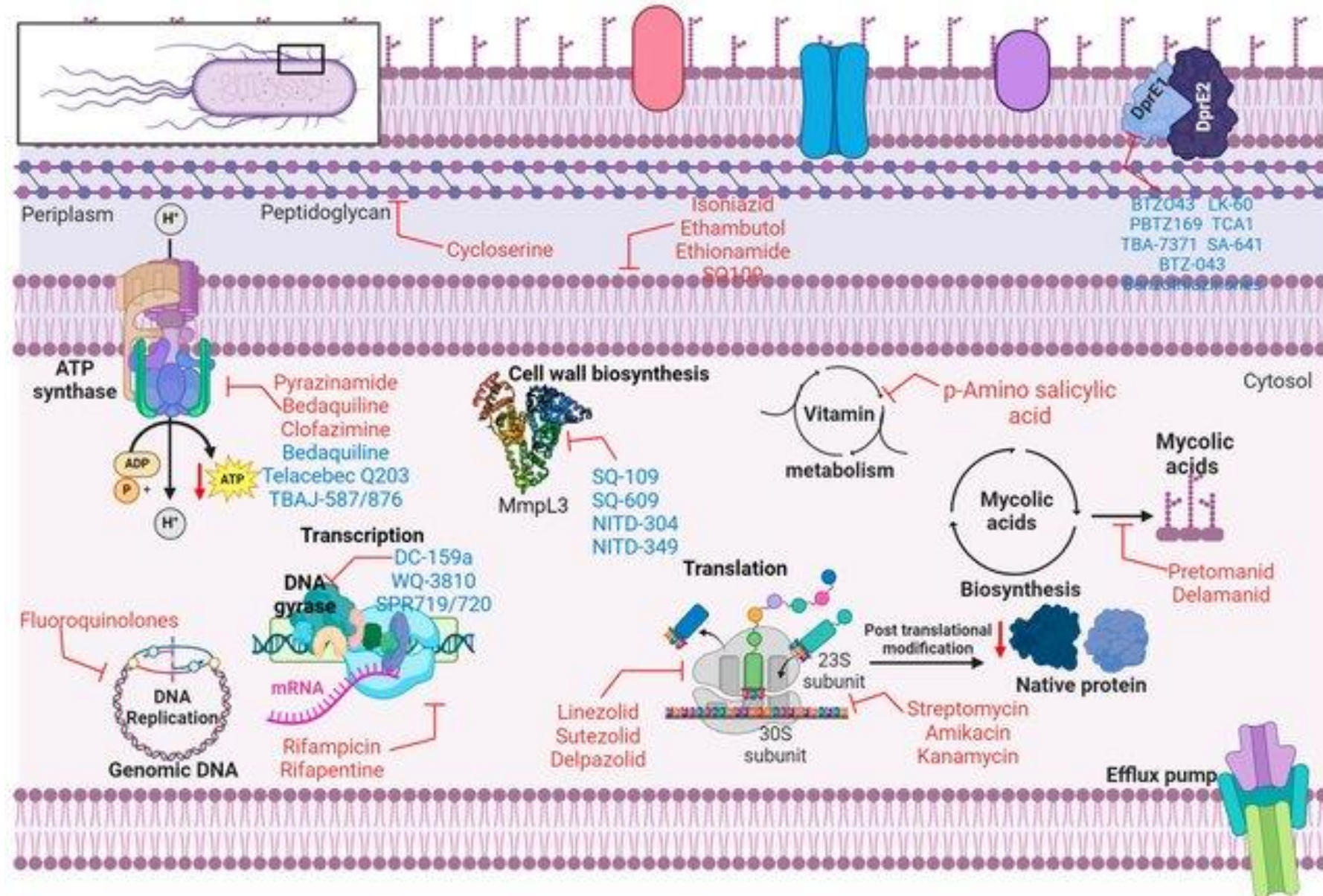
Es una técnica de biología molecular que permite determinar el orden de la secuencia de nucleótidos de un fragmento de ADN.

Tecnologías de la secuenciación

Línea de tiempo



Genes asociados a resistencia y mecanismo de acción



Fuente: Omoteso et al., Microorganisms. 2025;13(4):722.

Genes asociados a resistencia y mecanismo de acción

Gen *rpoB*

Chemotherapy 11: 285-292 (1966)

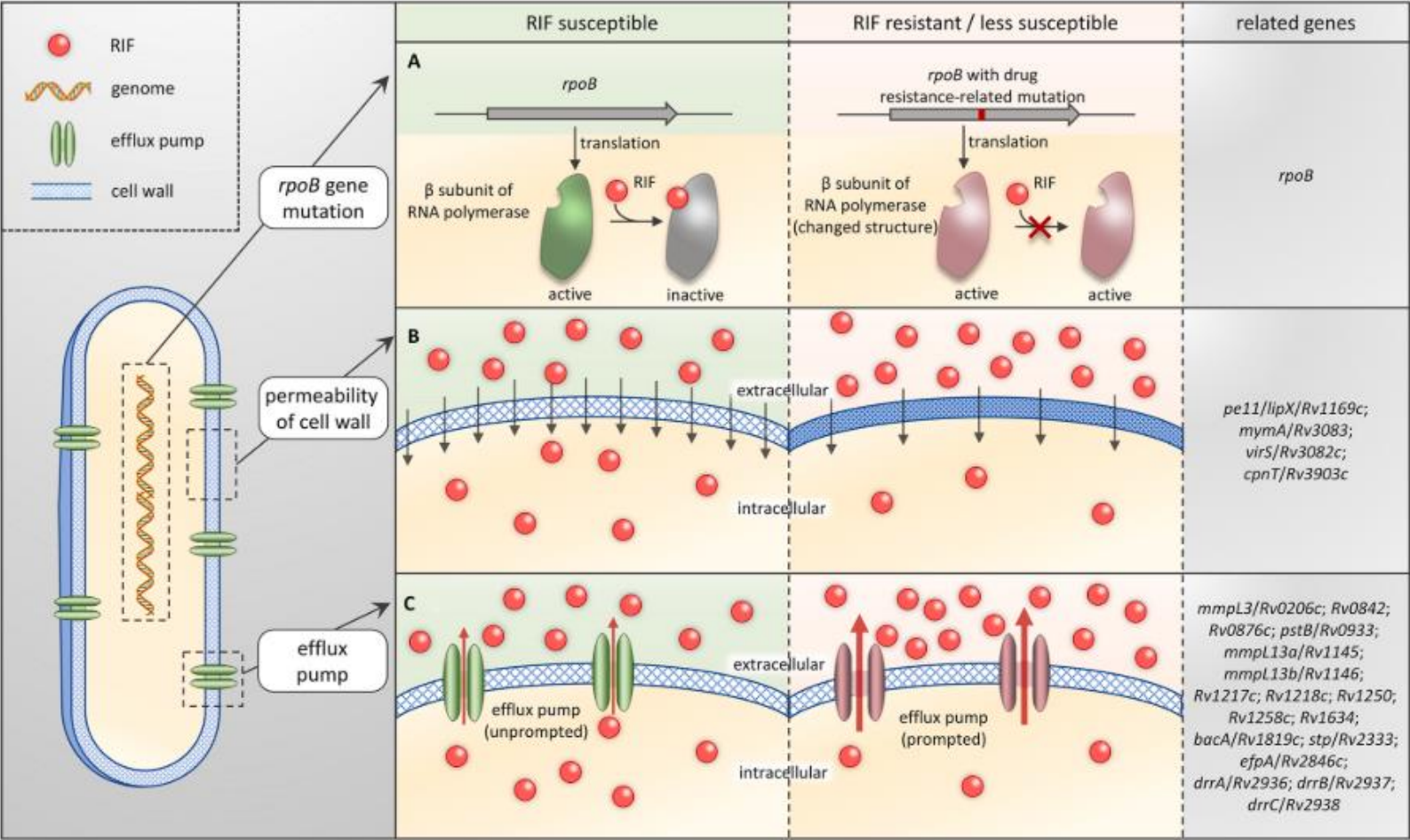
Research Laboratories, Lepetit S.p.A., Milan (Italy)

Rifampicin*: A New Orally Active Rifamycin**

N. MAGGI, C.R. PASQUALUCCI, R. BALLOTTA and P. SENSI

Summary

The synthesis of rifampicin (3-(4-methyl-piperazinyl-iminomethyl) rifamycin SV) starting from 3-formyl rifamycin SV is described. Rifampicin is a new rifamycin highly effective by oral administration in experimental infections induced by gram-positive and gram-negative bacteria and in experimental tuberculosis. Its chemical behaviour, physico-chemical properties and spectrophotometric assay method are also reported.



Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2025 Aug 31;24:48. doi: [10.1186/s12941-025-00816-5](https://doi.org/10.1186/s12941-025-00816-5)

Guías y manuales OMS

Population-based resistance of *Mycobacterium tuberculosis* isolates to pyrazinamide and fluoroquinolones: results from a multicountry surveillance project



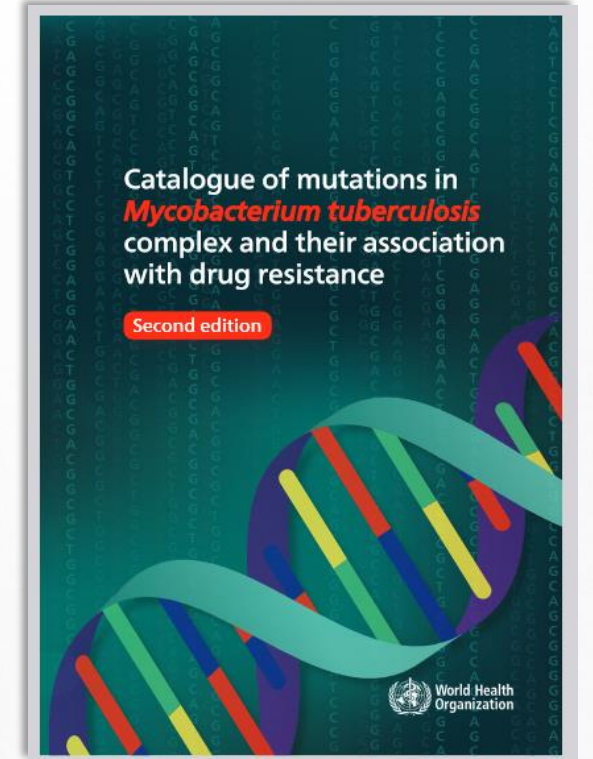
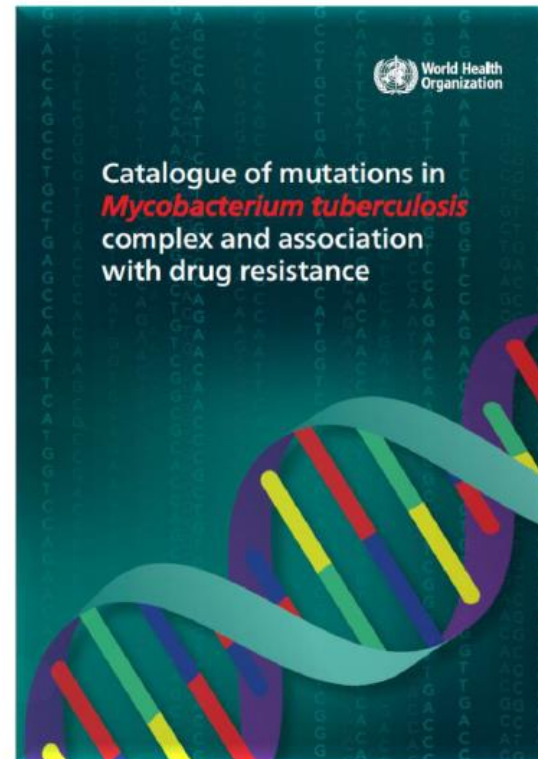
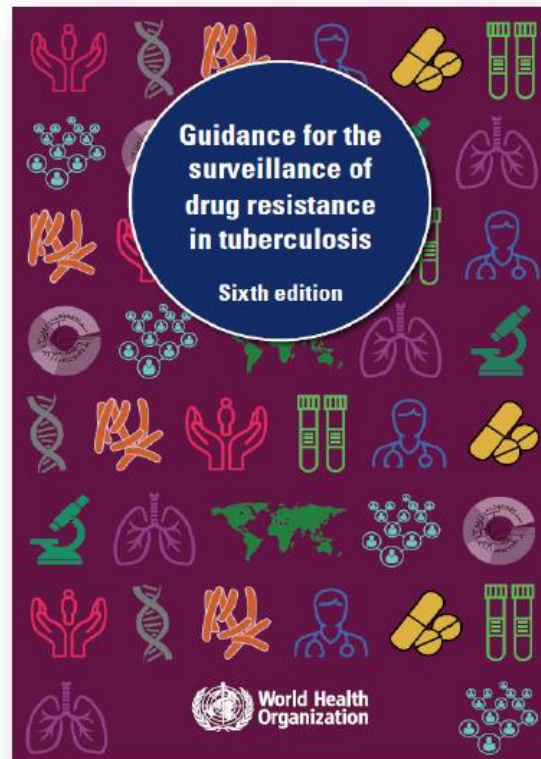
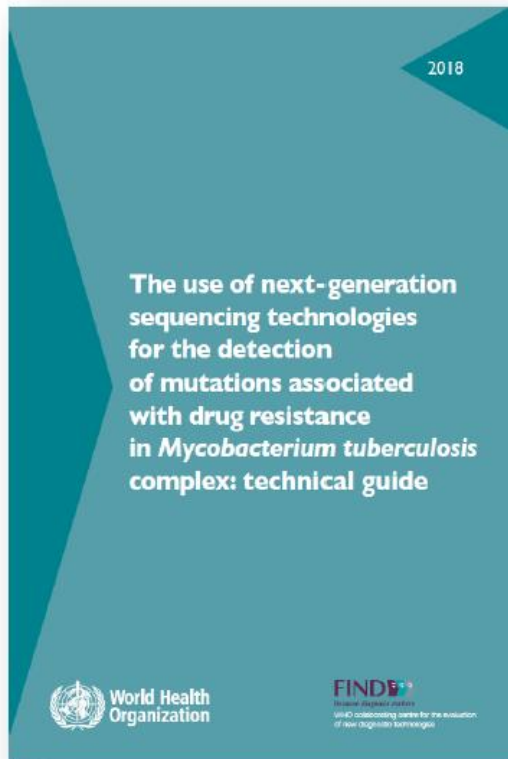
Matteo Zignol, Anna S Dean, Natavan Alikhanova, Sönke Andres, Andrea Maurizio Cabibbe, Daniela Maria Cirillo, Andrei Dadu, Andries Dreyer, Michèle Driesen, Christopher Gilpin, Rumina Hasan, Zahra Hasan, Sven Hoffner, Ashaque Husain, Alamdar Hussain, Nazir Ismail, Mostofa Kamal, Mikael Mansjö, Lindiwe Mvusi, Stefan Niemann, Shaheed V Omar, Ejaz Qadeer, Leen Rigouts, Sabine Ruesch-Gerdes, Marco Schito, Mehriban Seyfaddinova, Alena Skrahina, Sabira Tahseen, William A Wells, Ya Diul Mukadi, Michael Kimerling, Katherine Floyd, Karin Weyer, Mario C Ravigione



Genetic sequencing for surveillance of drug resistance in tuberculosis in highly endemic countries: a multi-country population-based surveillance study



Matteo Zignol*, Andrea Maurizio Cabibbe*, Anna S Dean*, Philippe Glaziou, Natavan Alikhanova, Cecilia Ama, Sönke Andres, Anna Barbova, Angeli Borbe-Reyes, Daniel P Chin, Daniela Maria Cirillo, Charlotte Colvin, Andrei Dadu, Andries Dreyer, Michèle Driesen, Christopher Gilpin, Rumina Hasan, Zahra Hasan, Sven Hoffner, Alamdar Hussain, Nazir Ismail, S M Mostofa Kamal, Faisal Masood Khanzada, Michael Kimerling, Thomas Andreas Kohl, Mikael Mansjö, Paolo Miotto, Ya Diul Mukadi, Lindiwe Mvusi, Stefan Niemann, Shaheed V Omar, Leen Rigouts, Marco Schito, Ivita Sela, Mehriban Seyfaddinova, Girts Skenders, Alena Skrahina, Sabira Tahseen, William A Wells, Alexander Zhurilo, Karin Weyer, Katherine Floyd, Mario C Ravigione



Clasificación mutaciones Catálogo de OMS



ASOCIADA A RESISTENCIA

Existe evidencia sólida que relaciona la mutación con resistencia al fármaco.



Se interpreta como **RESISTENCIA** al fármaco correspondiente.



NO ASOCIADA A RESISTENCIA

Existe evidencia sólida de que la mutación no está asociada a resistencia.



Se interpreta como **SENSIBLE** al fármaco correspondiente.



SIGNIFICANCIA INCIERTA

La evidencia disponible no permite establecer claramente su asociación con resistencia.

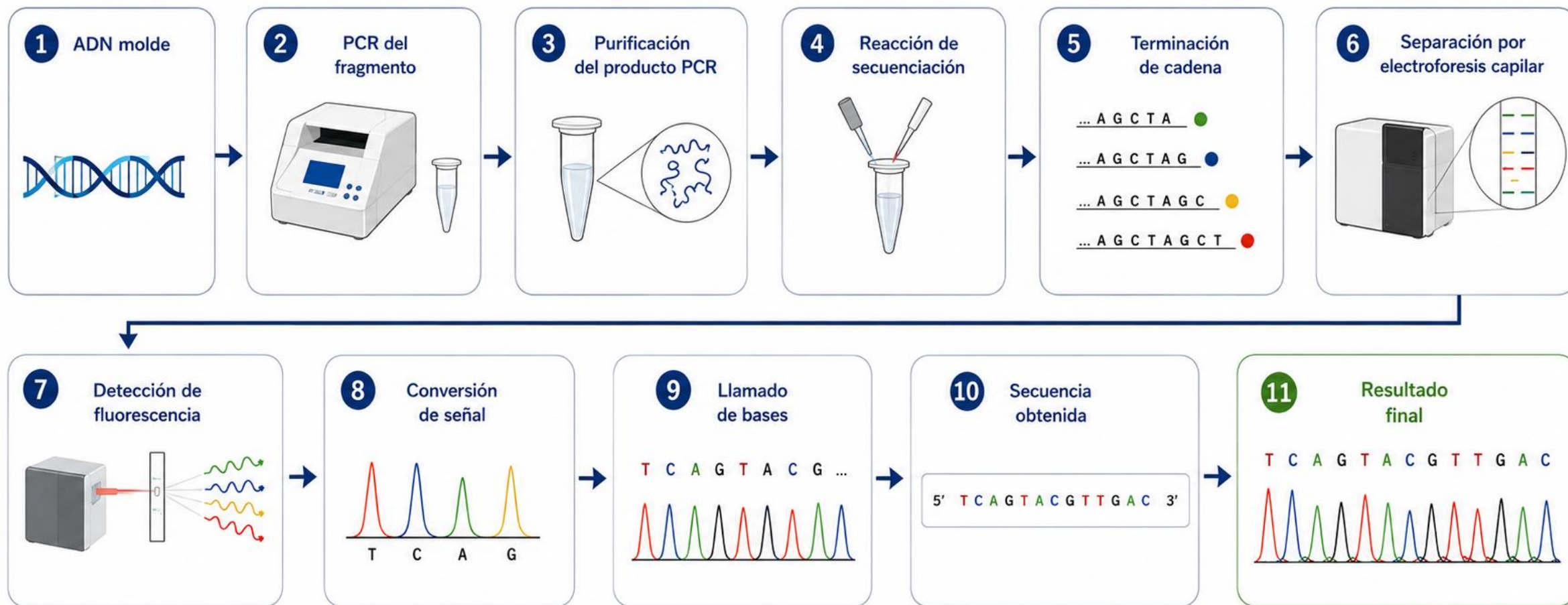


No se puede predecir el fenotipo de resistencia. Considerar correlación clínica y, si es posible, pruebas fenotípicas.

© 2015 Pearson Education, Inc. or its affiliate(s). All rights reserved. Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings, 101 Philip Drive, Assinippi Park, New York, NY 10984-2135



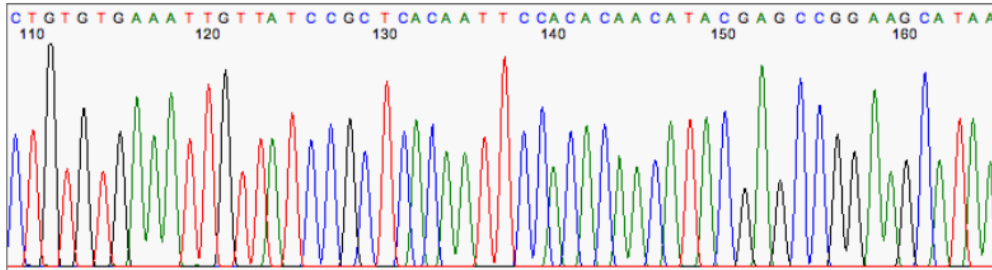
FLUJO DE SECUENCIACIÓN SANGER



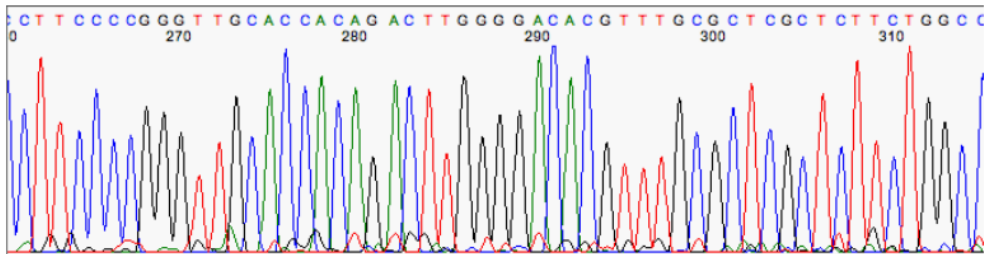
Cromatogramas y subpoblaciones en Método de Sanger

Ruido

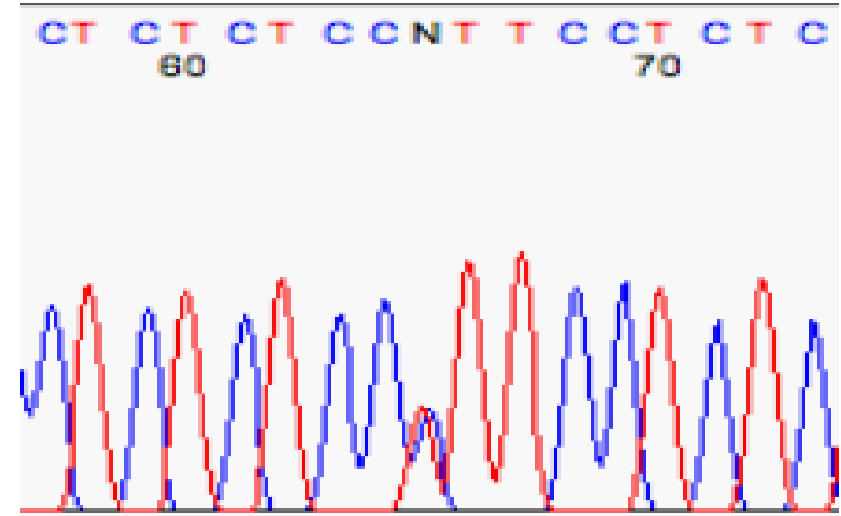
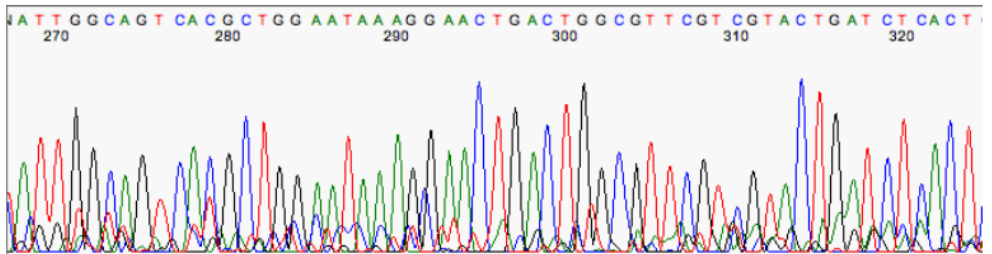
En teoría un cromatograma siempre debería ser perfecto, pero no siempre es así.



Un buen cromatograma.

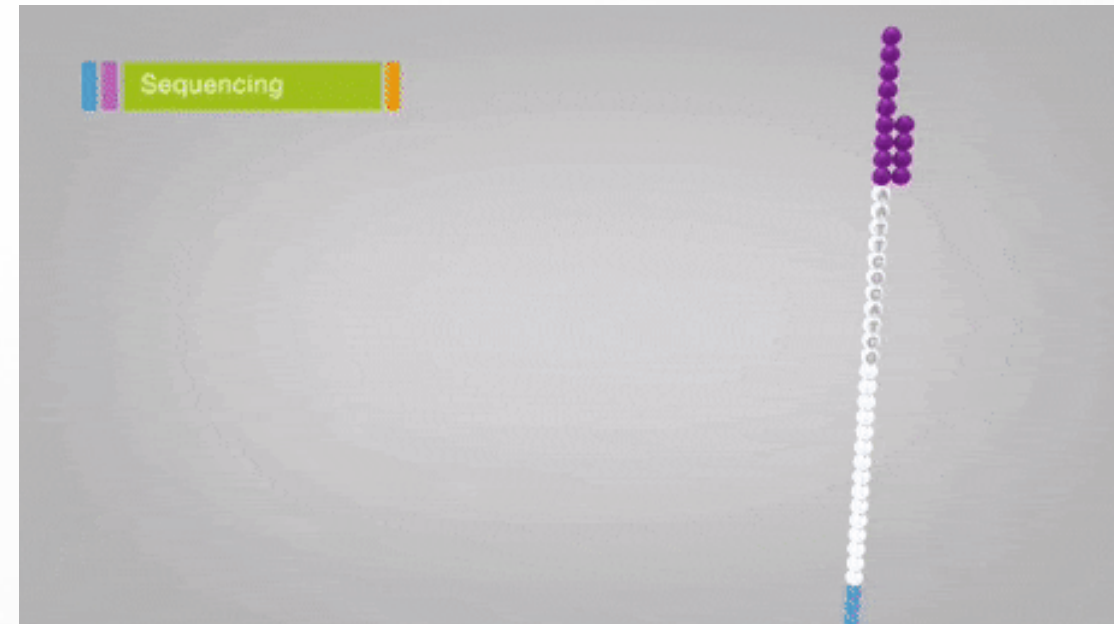
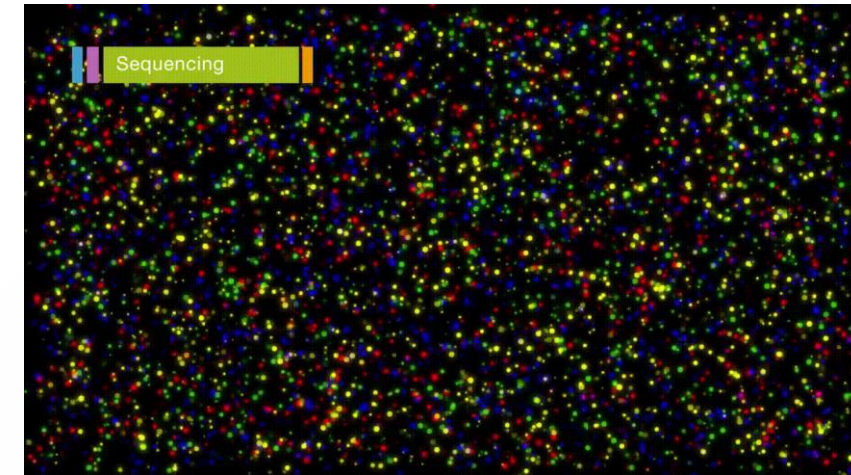
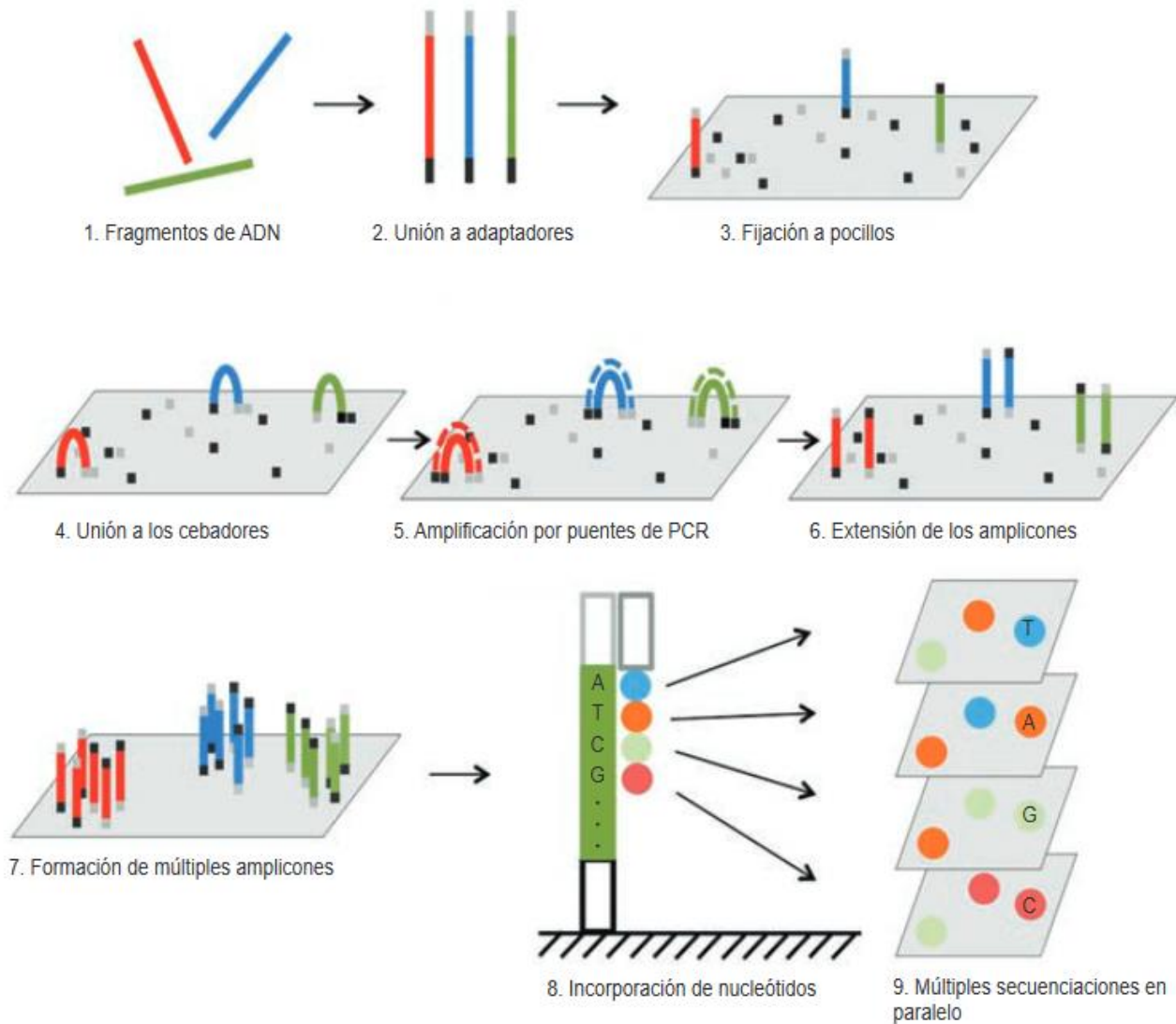


Cromatograma con algo de ruido.

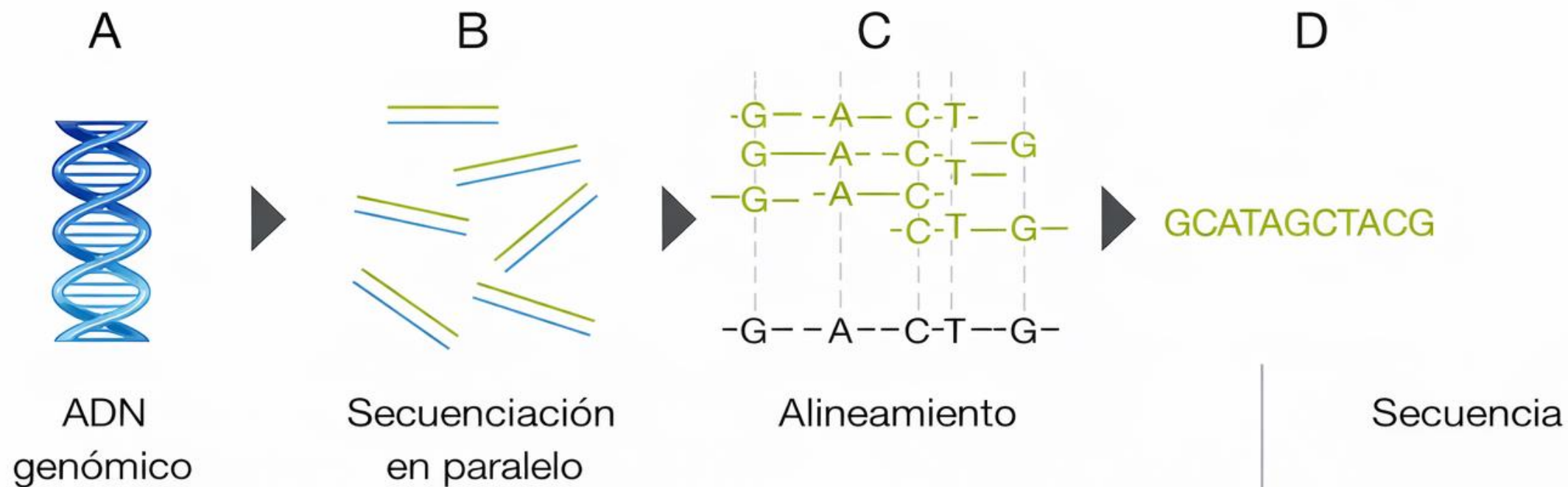


rpoB: S450L

Secuenciación Next generation sequencing (NGS)



Secuenciación Next generation sequencing (NGS)



— Fragmentos de ADN

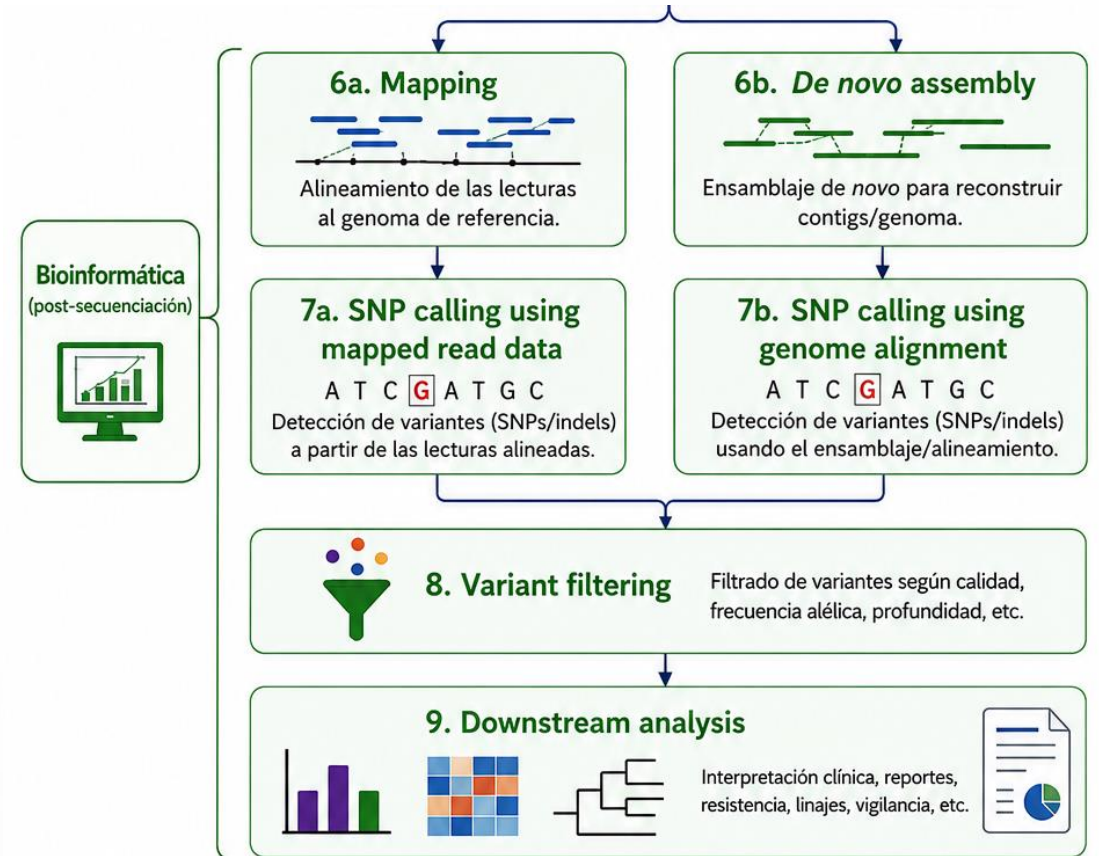
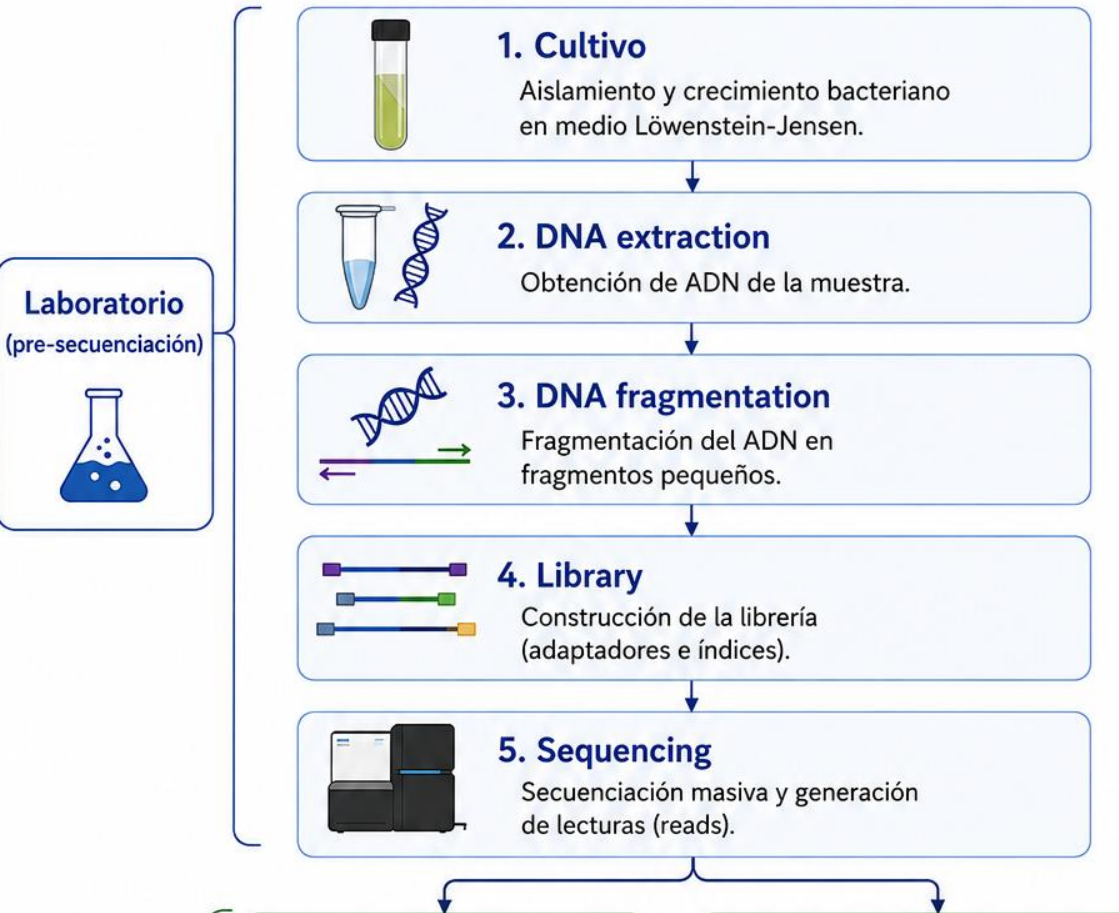
— Lecturas de secuenciación

----- Genoma de referencia

Flujo de trabajo tNGS



Flujo de trabajo WGS



Target – NGS Kit Deeplex

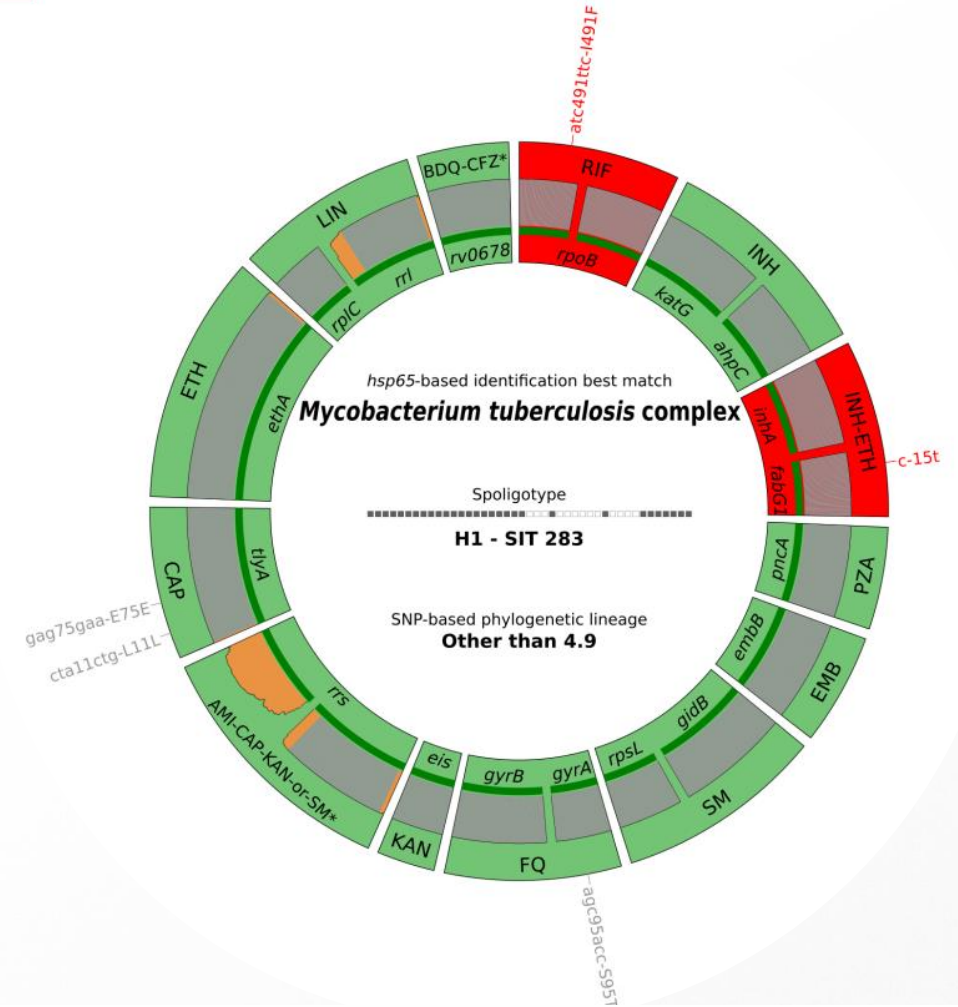


The Deeplex[®] Myc-TB

15 Fármacos

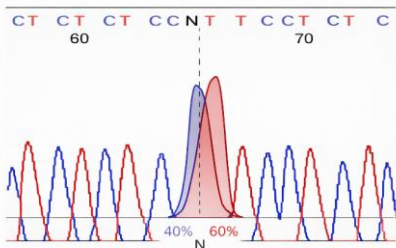
Sensibilidad
de detección
de subpoblación
3%

>100
Identificación
de MNT



Drug resistance associated variants³

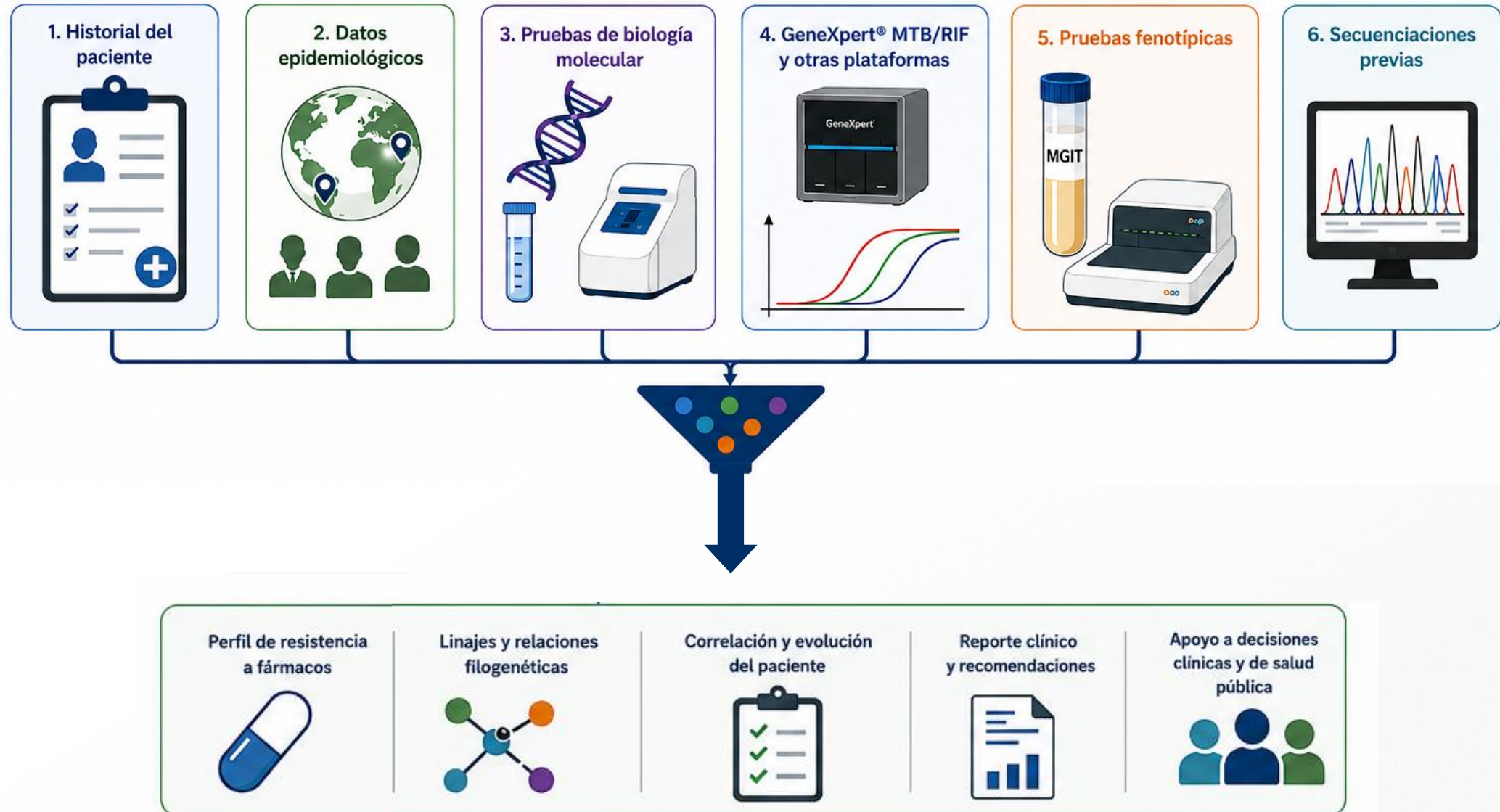
Gene	Genomic position	Codon change	% Variant	Dx-score	AA change	Drug*	Confidence	Resistance level	Reference
<i>fabG1</i>	1673425	c-15t	99.970	3401.75	n/a	ETH	Associated with resistance	Resistant	WHO 2023
<i>fabG1</i>	1673425	c-15t	99.970	3401.75	n/a	INH	Associated with resistance	Low	WHO 2023
<i>rpoB</i>	761277	atc491ttc	99.860	3102.00	l491F	RIF	Associated with resistance	Resistant	WHO 2023



Objetivos genómicos asociados a la resistencia a fármacos en *Mycobacterium tuberculosis* y sus fármacos correspondientes. (* genes completos)

Objetivos genómicos	Fármacos
<i>rpoB</i>	Rifampicina
<i>inhA</i>	Isoniazida, etionamida
<i>fabG1</i>	Isoniazida, etionamida
<i>katG</i>	Isoniazida
<i>ahpC</i>	Isoniazida
<i>pncA</i> *	Pirazinamida
<i>embB</i>	Etambutol
<i>gidB</i> *	Estreptomicina, amikacina, kanamicina, capreomicina
<i>rpsL</i> *	Estreptomicina, amikacina, kanamicina, capreomicina
<i>eis</i>	Kanamicina
<i>tlyA</i> *	Capreomicina
<i>gyrA</i>	Fluoroquinolonas
<i>gyrB</i>	Etionamida
<i>ethA</i> *	Linezolid
<i>rv0678</i> *	Bedaquilina, clofazimina

Informe de resultados Deeplex - WGS



Informe de resultados Deeplex NGS



Xpert Ultra:
Resistencia detectada

Xpert XDR:
**Resistencia detectada
Isoniacida**

RESULTADO ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD				
FÁRMACO	REGIÓN	GEN	MUTACIÓN	INTERPRETACIÓN
Rifampicina	Rv0667	rpoB	H445C	Resistencia detectada
Isoniacida	Rv1908c	katG	Sin mutación	-----
Isoniacida	Rv1484	inhA	c. -15C>T	Resistencia detectada
Pirazinamida	Rv2043c	pncA	Sin mutación	Resistencia no detectada
Etambutol	Rv3795	embB	M306I	Resistencia detectada
Fluoroquinolonas	Rv0006	gyrA	Sin mutación	Resistencia no detectada
Fluoroquinolonas	Rv0005	gyrB	Sin mutación	Resistencia no detectada
Aminoglucósidos	rrs	rrs	Sin mutación	Resistencia no detectada
Capreomicina	Rv1694	tlyA	Sin mutación	Resistencia no detectada
Kanamicina	Rv2416c	eis	Sin mutación	Resistencia no detectada
Linezolid	rrl	rrl	Sin mutación	Resistencia no detectada
Linezolid	Rv0701	rplC	Sin mutación	Resistencia no detectada
Bedaquilina/Clofazimina	Rv0678	Rv0678	Sin mutación	Resistencia no detectada

rpoB: H445C

inhA: c. -15C>T

embB: M306I

Informe de resultados Deeplex NGS



Xpert Ultra:
Resistencia detectada

Xpert XDR:
**Resistencia NO
detectada Isoniacida**

RESULTADO ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD				
FÁRMACO	REGIÓN	GEN	MUTACIÓN	INTERPRETACIÓN
Rifampicina	Rv0667	rpoB	S450L	Resistencia detectada
Isoniacida	Rv1908c	katG	F102fs	Resistencia detectada
Isoniacida	Rv1484	inhA	Sin mutación	-----
Pirazinamida	Rv2043c	pncA	Sin mutación	Resistencia no detectada
Etambutol	Rv3795	embB	Sin mutación	Resistencia no detectada
Fluoroquinolonas	Rv0006	gyrA	Sin mutación	Resistencia no detectada
Fluoroquinolonas	Rv0005	gyrB	Sin mutación	Resistencia no detectada
Aminoglucósidos	rrs	rrs	Sin mutación	Resistencia no detectada
Capreomicina	Rv1694	tlyA	Sin mutación	Resistencia no detectada
Kanamicina	Rv2416c	eis	Sin mutación	Resistencia no detectada
Bedaquilina/Clofazimina	Rv0678	Rv0678	Sin mutación	Resistencia no detectada
Linezolid	rrl	rrl	Sin mutación	Resistencia no detectada
Linezolid	Rv0701	rplC	Sin mutación	Resistencia no detectada

***rpoB*: H445C**

***katG*: F102fs**

Informe de resultados Deeplex NGS



Xpert Ultra:
**Resistencia NO
detectada**

Xpert XDR:
**Resistencia
detectada Isoniacida**

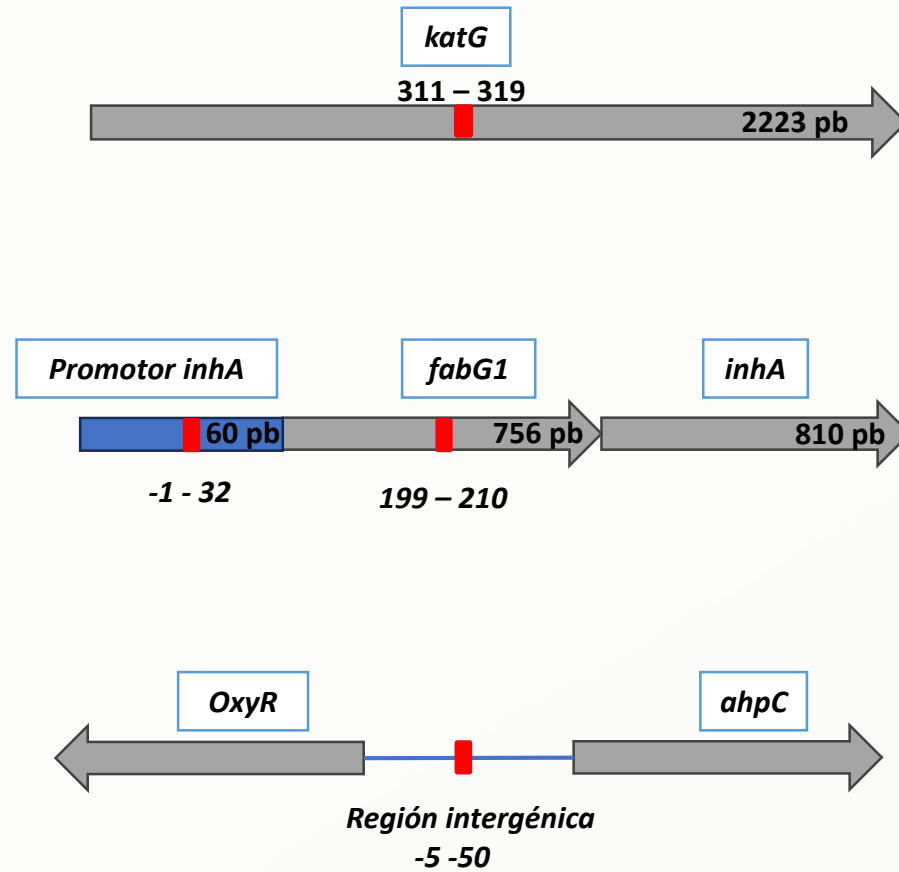
RESULTADO ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD				
FÁRMACO	REGIÓN	GEN	MUTACIÓN	INTERPRETACIÓN
Rifampicina	Rv0667	rpoB	I491F	Resistencia detectada
Isoniacida	Rv1908c	katG	Sin mutación	-----
Isoniacida	Rv1484	inhA	c. -15C>T	Resistencia detectada
Pirazinamida	Rv2043c	pncA	Sin mutación	Resistencia no detectada
Etambutol	Rv3795	embB	Sin mutación	Resistencia no detectada
Fluoroquinolonas	Rv0006	gyrA	Sin mutación	Resistencia no detectada
Fluoroquinolonas	Rv0005	gyrB	Sin mutación	Resistencia no detectada
Aminoglucósidos	rrs	rrs	Sin mutación	Resistencia no detectada
Capreomicina	Rv1694	tlyA	Sin mutación	Resistencia no detectada
Kanamicina	Rv2416c	eis	Sin mutación	Resistencia no detectada
Bedaquilina/Clofazimina	Rv0678	Rv0678	Sin mutación	Resistencia no detectada
Linezolid	Rv0701	rplC	Sin mutación	Resistencia no detectada
Linezolid	rrl	rrl	Sin mutación	Resistencia no detectada

rpoB: I491F

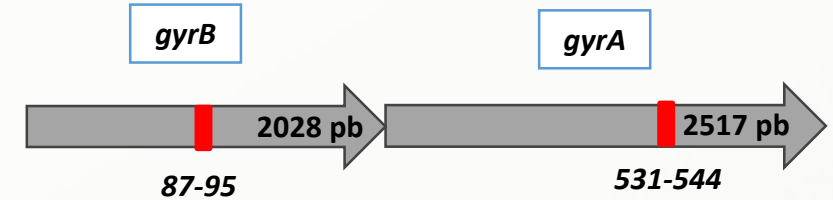
inhA: c. -15C>T

Esquema de genes Xpert ultra y Xpert XDR

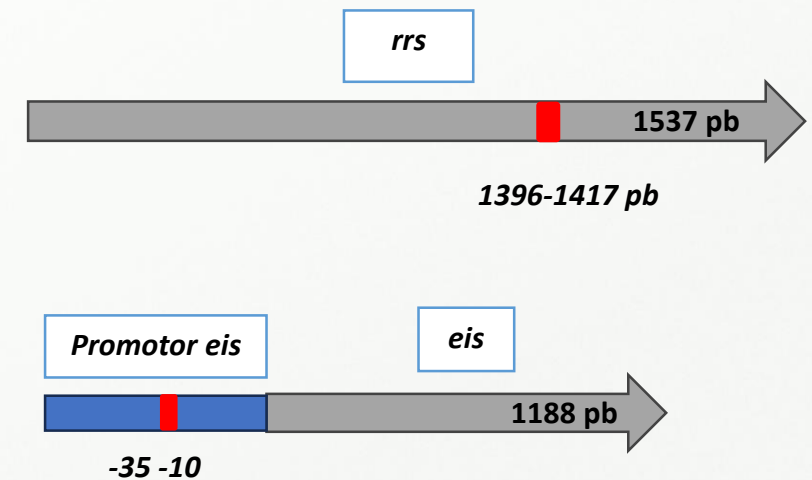
Isoniacida



Fluoroquinolonas



Amikacina - Kanamicina - Capreomicina



Esquema de gen *rpoB* y sonda Xpert ultra

Rifampicin Resistance Determining Region

1

Gene *rpoB* (3519 pb / 1173 codones)

3519 pb

RRDR 88 (pb) 426 – 452 aa (1521 a 1599 pb)

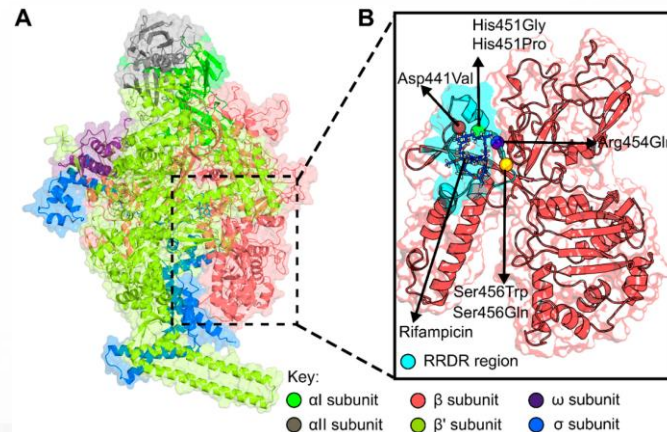
	TTC	TTC	GGC	ACC	AGC	CAG	CTG	AGC	CAA	TTC	ATG	GAC	CAG	AAC	AAC	CCG	CTG	TCG	GGG	TTT	GAC	CCA	CAA	GCG	CCG	ACT	GTC	GGG	CCC
	Phe	Phe	Gly	Thr	Ser	Gln	Leu	Ser	Gln	Phe	Met	Asp	Gln	Asn	Asn	Pro	Leu	Ser	Gly	Phe	Asp	Pro	Gln	Ala	Pro	Thr	Val	Gly	Pro
<i>E. coli</i>	507	508	509	510	511	512	513	514	515	516	517	518	519	520	521	522	523	524	525	526	527	528	529	530	531	532	533	534	535
<i>M. tuberculosis</i>	426	427	428	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445	446	447	448	449	450	451	452	453	454

Sonda 1

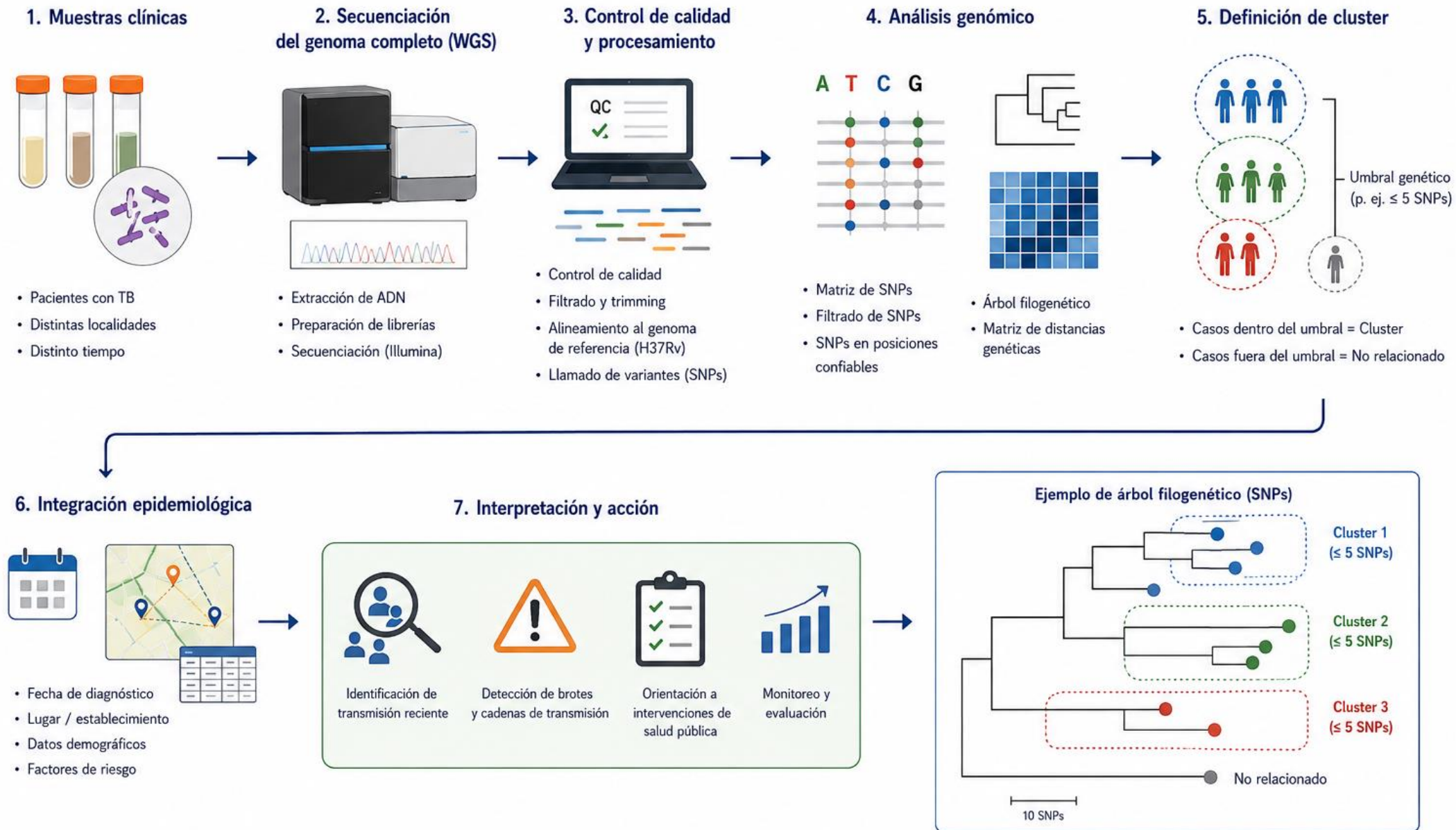
Sonda 2

Sonda 3

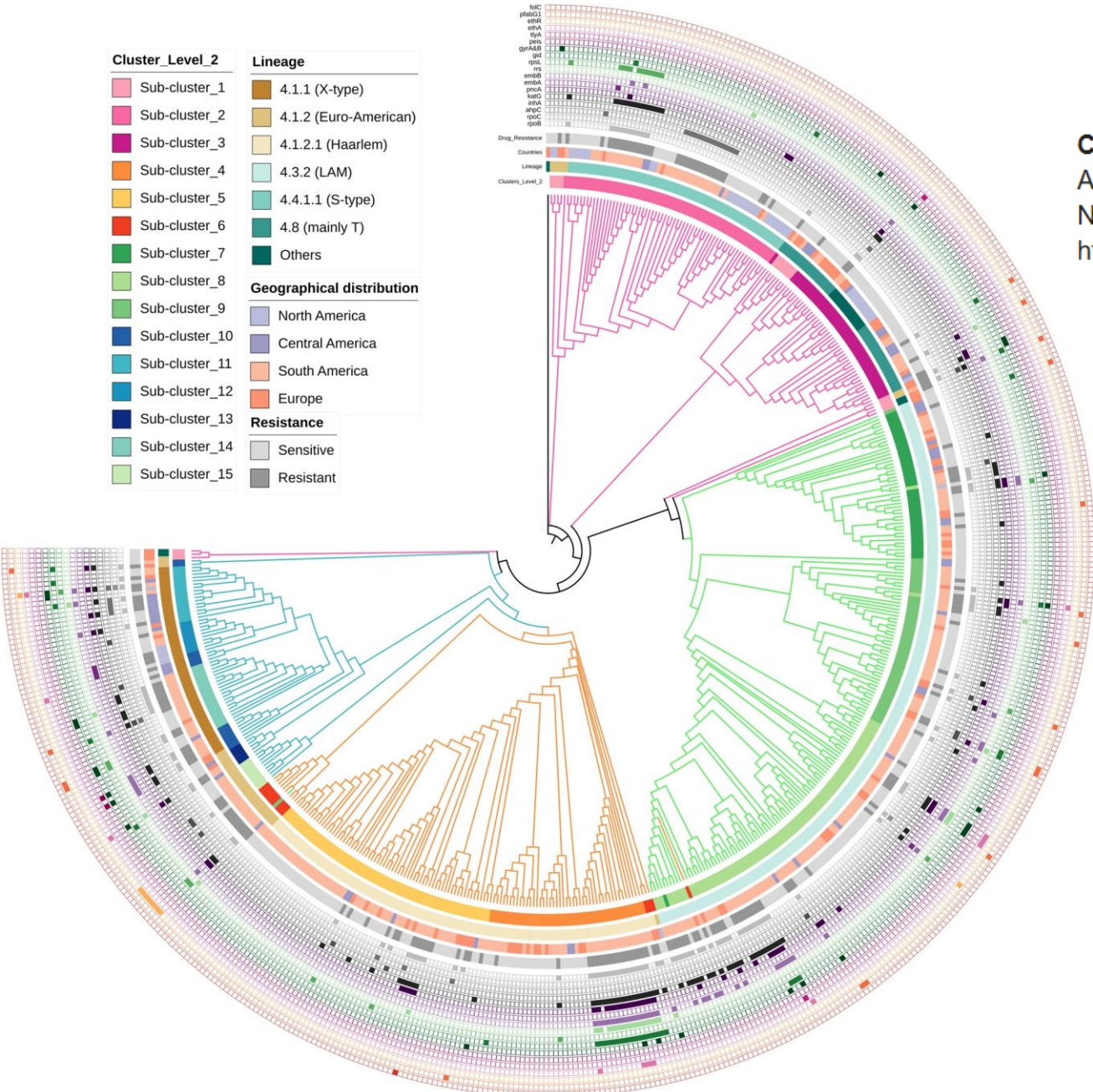
Sonda 4



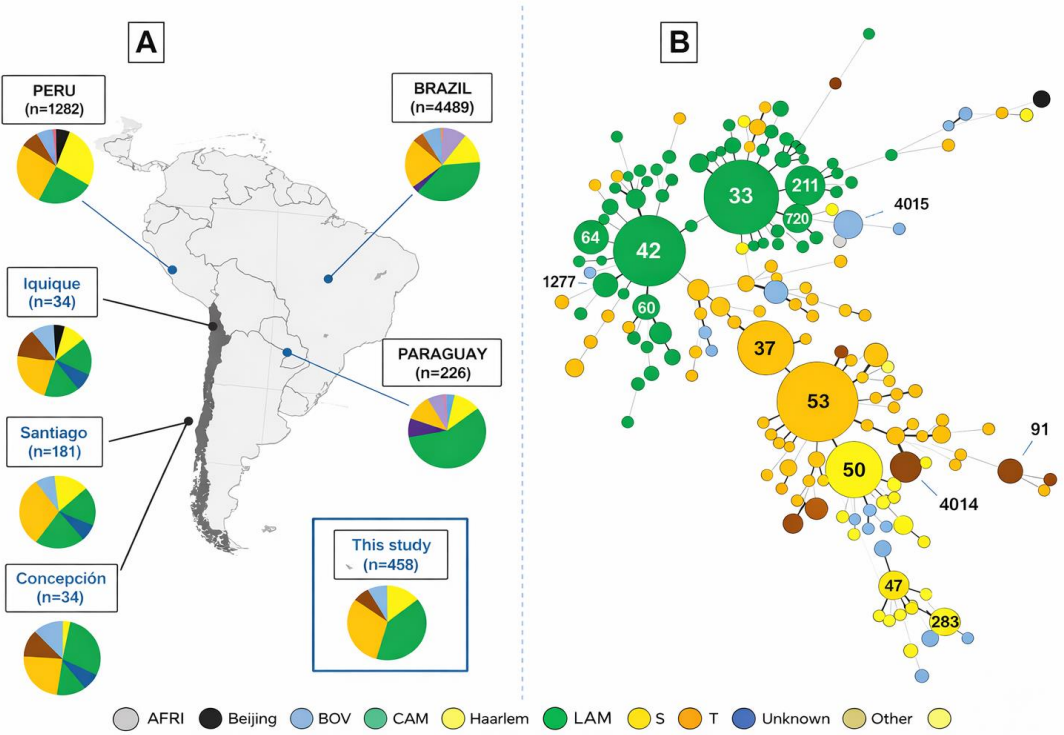
ESTUDIO DE CLUSTER DE TUBERCULOSIS MEDIANTE WGS



Genoma completo y vigilancia filogeográfica



Citation: Lagos J, Couvin D, Arata L, Tognarelli J, Aguayo C, Leiva T, et al. (2016) Analysis of *Mycobacterium tuberculosis* Genotypic Lineage Distribution in Chile and Neighboring Countries. PLoS ONE 11(8): e0160434. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160434>





**> Comprometidos
> con la Salud
> de Chile**

Gracias