

© 2023 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).
TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 26: 1-13, 2023.
<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2023.563>

Diversidad genética del Complejo de *Mycobacterium tuberculosis*: implicaciones clínicas y epidemiológicas

Anaximandro Gómez-Velasco^{1*}, Carmen Amelia Molina-Torres², Lucio Vera-Cabrera²,
Alied Bencomo-Alarm³, Sergio G. Muñoz-Jiménez³, Héctor Javier Sánchez-Pérez⁴,
Cristina Gordillo-Marroquín⁴, Christian D. Córdova-Solis⁵, Natán Enríquez-Ríos⁶,
Dorian Buridán Nuñez Ovilla⁷, Carlos Sánchez-Oropeza⁸,
Juan Carlos Nájera Ortíz⁹ y René Armando Rodríguez Suárez¹⁰

¹*Depto. de Ecología Humana, Cinvestav-IPN, Unidad Mérida, Km. 6 Antigua carretera a Progreso. 97310, Mérida, Yucatán, México.

²Lab. Interdisciplinario de Investigación Dermatológica, Hospital Universitario José E. González, Universidad Autónoma de Nuevo León, México. ³Lab. de Micobacterias, Programa de Prevención y Control de la Tuberculosis, región Altos de Chiapas, Instituto de Salud del Edo. de Chiapas (ISECH) ⁴Depto. de Salud, El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México.

⁵Programa Estatal de Prevención y Control de la Tuberculosis del Edo. de Chiapas, (ISECH), ⁶Depto. de Enfermedades Transmisibles y no Transmisibles, ISECH, Tuxtla Gtz., Chis., México, ⁷Clínica de Tuberculosis del Hospital Regional de Alta especialidad Ciudad Salud Chiapas, ⁸Coordinador del Programa de Prevención y Control de la Tuberculosis, Distrito de Salud No. VII, Tapachula, Chis., México, ⁹Facultad de Ciencias Odontológicas y Salud Pública, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Tuxtla Gtz., Chis., México,

¹⁰Programa de Micobacteriosis, Servicios de Salud, Mérida, Edo. de Yucatán, México. E-mail: *anaximandro.gomez@cinvestav.mx

RESUMEN

El complejo de *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) es uno de los patógenos con mayor éxito evolutivo por su alta transmisión en las poblaciones humanas. En el 2022, la OMS estimó que aproximadamente 10.6 millones de personas desarrollaron la fase activa de la enfermedad, principalmente la forma pulmonar (tuberculosis pulmonar, TBP), y alrededor de 1.6 millones, más, fallecieron debido a la tuberculosis (TB). Diversas técnicas con base en el genotipo y la secuencia del genoma de *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tb*) han permitido entender su historia evolutiva y comprender las causas de su propagación mundial. El análisis y las comparaciones de la secuencia de los genomas completos indican que el CMTB se compone de nueve linajes, algunos están específicamente adaptados a los humanos y otros a los animales. La presencia de la mayoría de los linajes en África, hace de este continente el origen del CMTB. Los estudios del genoma del CMTB también han hecho posible la identificación de los genes implicados en su virulencia y patogenicidad, así como en el largo proceso co-evolutivo con su principal hospedero, el ser humano. En esta revisión se describe la diversidad genotípica y fenotípica del CMTB y sus implicaciones clínicas y epidemiológicas.

Palabras clave: complejo de *Mycobacterium tuberculosis*, diversidad genética, diversidad fenotípica, evolución.

The genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis*: clinical and epidemiological outcomes.

ABSTRACT

The *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) is a successful human pathogen. In 2022, approximately 10.6 million people have developed the active phase of the disease, and around 1.6 million people died due to tuberculosis (TB). The deciphering of the genome of *M. tb* has helped us to understand its evolutionary history and the causes underlying its worldwide spread. Using various genotyping methods and whole-genome sequencing techniques indicate that the *M. tb* complex is grouped in nine lineages, some are specifically adapted to humans, while others are animal-adapted lineages. The presence of most of the lineages in Africa makes this continent the most likely place of MTBC origin. Studies of the genome of *M. tb* have also assisted in the identification of genes involved in its virulence, pathogenicity, and the long co-evolutionary process with its main host, the human being. In this review of selected literature, we describe the genotypic and phenotypic diversity of the MTBC and its clinical and epidemiological implications.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis* complex, genotypic diversity, phenotypic diversity, evolution.

Artículo recibido el 14 de noviembre del 2022.

Artículo aceptado el 23 de junio del 2023.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias del género *Mycobacterium* son Gram positivas porque con la formación transitoria del complejo del cristal violeta-lugol y, con el uso del hidróxido de potasio-etanol como decolorante, adquieren una coloración azul (Barksdale & Kim, 1977), además tienen un alto contenido de guanina-citosina (GC) en su genoma (60-70%), su forma es bacilar y son ácido-alcohol resistentes (Gupta, Lo & Son, 2018). Sin embargo, al efectuar una comparación del genoma de nueve especies de las bacterias Gram negativas, cinco de las Gram positivas, y una de Archaea, se ubica la filogenia de *M. tuberculosis* cercana al grupo de bacterias Gram negativas (Fu & Fu-Liu, 2002).

Las micobacterias poseen un alto contenido de ácidos grasos de entre 70-90 átomos de carbono, ácidos micólicos y una diversidad de lípidos solubles y extraíbles (Minnikin *et al.*, 2015). En general, las micobacterias son saprófitas de vida libre están bien adaptadas a diferentes hábitats, como el suelo y los ambientes acuáticos. Se han descrito aproximadamente 188 especies dentro del género *Mycobacterium* (Gupta *et al.*, 2018). *M. tuberculosis* (*M. tb*), *M. bovis*, y *M. leprae* se han aislado principalmente de los humanos y los animales (Gupta *et al.*, 2018). Sin embargo, recién se ha determinado la presencia del DNA de *M. leprae* en el suelo, lo que sugiere que este ambiente sería un “reservorio transitorio” (Tió-Coma *et al.*, 2019).

La tuberculosis (TB) ha afectado y acompañado a la humanidad por cientos de años. Evidencias paleobiológicas indican la existencia de la TB en el Neolítico. Por ejemplo, un estudio identificó dos restos óseos de humanos con la enfermedad de Pott que datan entre 5400-4800 a.C. y que fueron localizados en la región de Saxony-Anhalt, Alemania. Mediante análisis moleculares de más restos óseos se identificó el elemento de inserción (IS6110), un marcador molecular para la identificación del complejo de *M. tb*, en otras ocho muestras (Hershkovitz *et al.*, 2015).

En los siglos XVIII y XIX en Europa Occidental, la TB se convirtió en una epidemia con una tasa de mortalidad anual de hasta 900 muertes por cada 100,000 habitantes por año. Durante la “industrialización”, la enfermedad se asoció con la concentración de la mano de obra y los entornos socioeconómicos deficientes que favorecieron la continua transmisión de *M. tb* (Barberis, Bragazzi, Galluzo, & Martini 2017).

Para entender la evolución, epidemiología y patobiología de la TB es imprescindible conocer la historia evolutiva del *Homo sapiens*, su principal hospedero, y el de *M. tb*. El desarrollo de las técnicas genotípicas y secuenciación del genoma completo han revelado que la epidemia mundial actual de la TB está impulsada por una diversidad genética de las cepas de *M. tb* agrupadas en nueve linajes y con una distribución diferencial, algunas adaptadas específicamente a los humanos, y otras a los

animales. Se ha propuesto un proceso de coevolución entre el *H. sapiens* y el complejo de *M. tb*, demostrado por sus historias evolutivas paralelas y cambios demográficos desde su origen en el continente africano, hasta su expansión global. En esta revisión, describimos la diversidad genética actual de los nueve linajes del complejo de *M. tuberculosis* (CMTB), y discutimos algunas implicaciones clínicas y epidemiológicas.

DIVERSIDAD GENÉTICA GLOBAL DEL COMPLEJO DE *Mycobacterium tuberculosis*

La TB es una enfermedad infecciosa causada principalmente por especies agrupadas dentro del CMTB (Gagneux, 2018). Estas especies se caracterizan por compartir el 99.95% de su DNA (Gagneux, 2018). Sin embargo, las especies que pertenecen a este complejo presentan características fenotípicas importantes, como la preferencia por un hospedero. Algunas especies están adaptadas al hombre, y otras son capaces de transmitir la infección a las especies de distintos hospederos (Tabla I). Las especies que infectan principalmente a los humanos son: *M. tb*, *M. africanum* y *M. canettii*, en lo que se refiere a *M. bovis* puede transmitirse entre humanos, el ganado vacuno y otros animales silvestres (Gagneux, 2018). Las micobacterias agrupadas dentro del CMTB aisladas primariamente de animales son: *M. microti*, *M. pinnipedii*, *M. caprae*, *M. orygis*, *M. mungi*, y *M. suricattae*. También se han aislado micobacterias de los chimpancés (Brites *et al.*, 2018).

Con base en la identidad de sus nucleótidos, a *M. canettii* también se le considera parte del CMTB; sin embargo, *M. canettii* probablemente es una micobacteria ambiental que ocasionalmente causa infecciones oportunistas en los humanos (Koeck *et al.*, 2011). Nuevos miembros del CMTB que infectan a los animales han sido aislados recientemente en África, lo que sugiere que la diversidad de especies podría ser mayor de lo que se pensaba (Brites *et al.*, 2018; Semuto Ngabonziza *et al.*, 2020). Muchos de los nombres de las especies del CMTB adaptadas a los animales se propusieron originalmente en función del animal del que se aislaron por primera vez (Brites *et al.*, 2018). Por ejemplo, *M. orygis* se identificó por primera vez en un órix cautivo, pero desde entonces se ha aislado de muchas especies hospedadoras diferentes, incluidos los humanos (Brites *et al.*, 2018). Por lo tanto, el rango real de los hospederos de *M. orygis* aún no está definido. De manera similar, para muchas de las especies adaptadas a los animales del CMTB, solo unas pocas representantes han sido aisladas hasta ahora (por ejemplo, sólo una en el caso del bacilo del chimpancé), lo que limita las inferencias con respecto al rango de los hospederos de estas micobacterias (Tabla I).

El desarrollo de diversos métodos basados en el genotipo, como el análisis de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (Otal, Martín, Vincent-Lévy-Frebault, Thierry & Gicquel, 1991), la espoligotipificación (Kamerbeek *et al.*, 1997), el número variable de repeticiones en tándem de las unidades

Tabla I. Especies descritas del CMTB y sus principales hospederos.

Espece	Tamaño del genoma (en pares de bases)	Principales hospederos
<i>M. tb</i> H37Rv	4,411,529	Infecta principalmente a los humanos (Cole <i>et al.</i> , 1998). La cepa H37RV ha sido el modelo de estudio de <i>M. tb</i> . Se aisló originalmente en 1905 y llamó la atención por su notable virulencia en el modelo del conejillo de indias, característica distintiva utilizada en la clasificación de la “tuberculosis humana” a principios del siglo XX. En 1934, H37 se disoció en dos distintas cepas, las “virulentas” (Rv) y las “avirulentas” (Ra) (Kubica, Kim & Dunbar, 1972).
<i>M. africanum</i>	4,389,314	Principal causante de la TB en los humanos en África y en los animales (principalmente en los cerdos y en las vacas) (Yeboah-Manu <i>et al.</i> , 2017).
<i>M. canettii</i>	4,482,059	Raros casos de TB en humanos. Aislados principalmente de la región africana. Su modo de transmisión es diferente a <i>M. tb</i> , porque no se han detectado casos de infección de humano a humanos. Es posible que tenga un reservorio acuático (Koeck <i>et al.</i> , 2011).
<i>M. bovis</i> AF212297	4,345,492	Infecta animales domésticos (como el ganado bovino) y silvestres (como el venado), pero también humanos. De esta especie se ha derivado la cepa <i>M. bovis</i> BCG, una cepa variante de laboratorio utilizada en la vacunación y en instilaciones vesicales en pacientes con neoplasia de vejiga (Garnier <i>et al.</i> , 2003). Esta especie tiene resistencia natural a la pirazinamida, uno de los fármacos utilizados para el tratamiento de la TB.
<i>M. microti</i> OV254	4,400,000	Causante de la TB en roedores, llamas, musarañas, gatos y otros mamíferos, incluidas personas con un sistema inmunológico débil (Smith, Crawshaw, Parry & Birtles, 2009).
<i>M. pinnipedii</i>	4,325,454	Tiene un amplio espectro de hospederos; cepas que se han aislado principalmente de lobos y focas marinos, aunque también es patógena de conejos, leopardos de montaña, llamas, tapir brasileño, ganado vacuno, y humanos (Cousins <i>et al.</i> , 2003; Riojas, McGough, Rider-Riojas, Rastogi & Hazbón, 2018; Silva-Pereira <i>et al.</i> , 2019).
<i>M. caprae</i>	4,304,630	Infecta principalmente a las cabras, pero también se han encontrado casos en los humanos (Prodinge, Indra, Koksalan, Kilicaslan & Richter, 2014).
<i>M. orygis</i>	4,282,660	Aislados en órix, gacelas, venados, antílopes, búfalos (van Ingen <i>et al.</i> , 2012).
<i>M. mungi</i>	4,348,520	Aislado en mangostas (Alexander, Larsen, Robbe-Austerman, Stuber & Camp, 2016).
<i>M. suricattae</i>	4,257,289	Infecta principalmente suricatas (Dippenaar <i>et al.</i> , 2015).
<i>Bacilo del chimpancé</i>	No se ha determinado el tamaño de su genoma	Esta cepa fue aislada en Costa de marfil (Coscolla <i>et al.</i> , 2013).

repetitivas interesparadas en las micobacterias (MIRU-VNTR) (Supply *et al.*, 2006), la secuenciación multilocus (Baker, Brown, Maiden & Drobniewski, 2004), la secuenciación del genoma completo (Cole *et al.*, 1998) y el análisis del genoma comparativo (Gagneux, 2018).

Varios estudios que han analizado la diversidad genética de las cepas clínicas aisladas de todo el mundo, indican que *M. tb* es la especie con mayor distribución global. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el 2022, *M. tb* infectó alrededor de 10.6 millones de personas, y se le atribuye, sólo por debajo del COVID-19, el mayor número de muertes por un solo patógeno, con una estimación de 1.6 millones de defunciones en ese año (WHO, 2022). *M. africanum* es la otra

especie que más infecta a los humanos, seguida por *M. canettii* y *M. bovis* (Gagneux, 2018).

Con lo expuesto, la pregunta es si existen varias especies dentro del CMTB, ¿por qué solamente una de ellas tiene mayor éxito adaptativo? Para responder esta pregunta, es necesario conocer la historia evolutiva del CMTB. La opinión actual es que el CMTB surgió como un patógeno profesional, una especie de “*Mycobacterium* adaptada al ambiente”, y que posteriormente, se adaptó gradualmente a un medio intracelular (VanderVen, Huang, Rohde & Rusell, 2016). *M. tb* ha desarrollado varios mecanismos para evadir la respuesta inmune y replicarse en los macrófagos. Un ejemplo de esta evasión es la inhibición de la formación de los fagolisosomas por medio de la producción

y activación de las proteínas tirosina fosfatasa (PtpA y PtpB, protein tyrosine phosphatases A and B, por sus siglas en inglés), que son un grupo de enzimas que eliminan a los grupos fosfato de los residuos de la tirosina fosforilados con una función reguladora de las proteínas de los macrófagos del hospedero (Bach, Papavinasundaram, Wong, Hmama & Av-Gay, 2008). PtpA desfosforila VPS33B (host vacuolar protein sorting 33B, por sus siglas en inglés) y, dado que es una proteína del hospedero involucrada en el tráfico de vesículas, actúa como un regulador clave de la fusión de las membranas en la vía endocítica, lo que conduce a la inhibición de la fusión fagosoma-lisosoma (Bach *et al.*, 2008). Además, PtpA se une a la subunidad H de la V-ATPasa de los macrófagos para bloquear el tráfico de la V-ATPasa y la acidificación de los fagosomas (Wong, Bach, Sun, Hmama & Av-Gay, 2011).

M. tb sintetiza una familia de lípidos, los *dimicocerosatos* de *tiocerosol*, que forman parte de su compleja pared celular, e intervienen en la modulación del sistema inmunológico del hospedero durante la patogénesis, que incluye la invasión de macrófagos, el enmascaramiento de patrones moleculares asociados a los patógenos, la resistencia a la muerte por óxido nítrico y la prevención del reclutamiento de macrófagos activados en el sitio de la infección (Quigley *et al.*, 2017). Así mismo, el operón *mce4* de *M. tb*, codifica una subfamilia de transportadores dependientes de la ATP o transportadores ABC (del inglés ATP-binding cassette) (Casali & Riley, 2007), permitiéndole al patógeno la importación de colesterol para derivar en carbono y en energía a partir de la membrana del hospedero (Pandey & Sasseti, 2008) y, por otro lado, el producto del gen *hscA*, que codifica para una hidrolasa que degrada con eficiencia al grupo catecol del colesterol e indican que el colesterol adquirido del hospedero es importante para la supervivencia del bacilo en los macrófagos (Yam *et al.*, 2009). Estas y otras características fisiológicas de *M. tb* representan su patogenicidad intracelular altamente especializada.

Previo a la disponibilidad de herramientas de secuenciación masiva y de los análisis de genómica comparativa, se propuso que el origen evolutivo del CMTB procedía de *M. bovis*. Esta hipótesis, basada solamente en el fenotipo, planteaba que los humanos adquirimos el bacilo de la TB durante el periodo Neolítico (aproximadamente hace 10,000-15,000 años) a partir de la domesticación de los animales, por lo que se formuló que *M. tb* descendía de *M. bovis* (Brosch *et al.*, 2002). Sin embargo, el análisis del genoma de *M. bovis* demuestra que esta especie ha perdido varios genes que aún están presentes en el genoma de *M. tb* (Garnier *et al.*, 2003).

Un estudio en el que se analizó la secuencia de varios genes (*katG*, *gyrB*, *gyrA*, *rpoB*, *hsp65*, *sodA*, y *16S rRNA*) de 37 cepas de *M. tb* aisladas de varios países de África y Europa, propuso una nueva hipótesis: la aparición de un ancestro común para las especies que integran el CMTB, denominado

M. prototuberculosis (Gutierrez *et al.*, 2005). Este estudio también formuló que *M. tb* posiblemente tuvo su origen hace tres millones de años y que pudo haber infectado a los primeros homínidos presentes en África.

Recientemente se ha determinado el posible origen de *M. bovis* a través de la reconstrucción filogenómica de 3,364 cepas aisladas en 35 países (Loiseau *et al.*, 2020). Los autores del estudio proponen que *M. bovis* tuvo su origen geográfico en el África Oriental y que posiblemente el ancestro común de este bacilo evolucionó en el periodo del siglo III al siglo XII d.C. Dos hipótesis se han formulado sobre el origen de *M. bovis*. La primera sugiere que *M. bovis* surgió después de la introducción del ganado, beneficiándose del desarrollo del pastoreo africano, hasta expandirse dentro del continente. De manera alternativa, *M. bovis* apareció en el Oriente y fue introducida en África junto con el ganado (Loiseau *et al.*, 2020).

Varios estudios también han sugerido un origen monofilético (grupo de especies que descienden de un mismo antepasado común y que incluye todos los descendientes de esta especie troncal) del CMTB (Bottai, Stinear, Supply & Brosch, 2014; Brosch *et al.*, 2002; Comas *et al.*, 2013; Gutierrez *et al.*, 2005; Hershberg *et al.*, 2008) han determinado que: (i) *M. canettii* es una especie basal, es decir que se separó tempranamente del resto del CMTB, seguido de *M. africanum*; (ii) la TB humana es causada principalmente por *M. tb* y *M. africanum*; (iii) tras el establecimiento del ancestro del CMTB como patógeno “profesional”, el complejo evolucionó en nueve linajes, unos se adaptaron a los humanos y otros a varios mamíferos silvestres y domésticos (Tabla II).

Con el desarrollo de técnicas a partir del genotipo, y más reciente la secuenciación completa del genoma, ha sido posible construir la historia evolutiva, estructura genética poblacional y la filogeografía del CMTB (Bottai *et al.*, 2014; Brites *et al.*, 2018; Brosch *et al.*, 2002; Gupta *et al.*, 2018). Las inserciones y deleciones genéticas dentro del genoma, conocidas como polimorfismos de secuencia larga (PSL), fueron usadas inicialmente para caracterizar la evolución y filogeografía del CTMB (Brosch *et al.*, 2002). A partir de 100 cepas analizadas, se realizaron las primeras reconstrucciones evolutivas de la estructura genética poblacional del CMTB, y se determinó que albergaban la ausencia (delección) o presencia de 21 regiones variables en su genoma: 14 fueron denominadas regiones de diferencia genética (RDG1-14), 6 regiones fueron llamadas RvD1-5 (tomando como referencia la cepa H37Rv) y una región TbD1 (Brosch *et al.*, 2002). Este análisis permitió determinar que 46 cepas de *M. tb* aisladas de 30 países diferentes (incluidas las cepas Haarlem, Beijing y aislados de África) conservaban todas las RDG (Brosch *et al.*, 2002). Así mismo, se determinó que 40 cepas de *M. tb* tenían una delección específica denominada TbD1, lo que sugiere que estas cepas tienen un ancestro común (Brosch *et al.*, 2002).

Tabla II. Distribución geográfica y características genéticas y clínicas de las cepas circulantes actuales del CMTB.

Linaje	Distribución Geográfica	Características genéticas	Diferencias en la presentación de la TB
1 (Indo-oceánico)	Este de África, Centro-Sur- y Sureste de Asia	RD239	En comparación con las cepas del linaje 2 y 3, estas cepas producen altos niveles de IFN-gamma. No se han aislado de sitios extrapulmonares.
2 (este de Asia, incluye la familia Beijing)	Centro y Este de Asia, Europa Oriental, y SudÁfrica	TbD1, RD105	Asociadas a sitios extrapulmonares; con pérdida de peso en el hospedero más rápido que el linaje 6; cepas asociadas en casos de recaída, falla en el tratamiento, y presencia de fiebre en los primeros meses de tratamiento.
3 (África Oriental-India)	Este y Centro de África, y Sureste de Asia	TbD1, RD750	Asociadas a infección extrapulmonar; en comparación con el linaje 4, estas cepas producen altos niveles de moléculas anti-inflamatorias
4 Euro-Americano	Asia, Europa, África y las Américas	TbD1, pks15/1	Asociadas a la producción de la alfa-1-glicoproteína y proteína C-reactiva, alta concentración de neutrófilos; produce baja masa corporal en el hospedero en comparación del linaje 1; asociadas principalmente a tuberculosis pulmonar (TBP).
5 (África Occidental, <i>M. africanum</i>)	África Occidental	RD9, RD711	Menor tasa de progresión a la enfermedad en comparación con <i>M. tb</i> .
6 (África Occidental, <i>Mycobacterium africanum</i>)	África Occidental	RD9, RD7, RD8, RD10, RD702	Menor tasa de progresión a la enfermedad en comparación con <i>M. tb</i> ; cepas aisladas principalmente de sitios extrapulmonares.
7 (Etiopía)	Etiopía	RD3, RD11, 10 pb en el gen <i>mmpL9</i> , 27 pb en <i>lppH</i> , 1.3 kb en <i>lppO-sseB</i> , 3.3. kb en <i>Rv3467-rmbLB2-mhpE</i>	Representa una rama filogenética intermedia entre los linajes antiguos y modernos de <i>M. tb</i> . Las cepas de este linaje causan síntomas leves en lugar de graves (forma subclínica), por lo que los pacientes esperan más tiempo antes de buscar atención médica, además de que las colonias de estas cepas son más pequeñas en comparación con las de otras de <i>M. tb</i> de la misma región.
8	Ruanda y Uganda	Ausencia en su genoma de las siguientes regiones: el gene <i>cobF</i> - involucrada en la síntesis de cobalamina/vitamina B12, la región PhiRv1 de 9.3 kb (RD3), así como segmentos de 10.0 kb y 8.5 kb correspondientes a RD14 y RD5, que comprenden los genes <i>plcABC</i> y <i>plcD</i> .	Solamente dos cepas han sido analizadas, por lo que se desconoce la patología que causa este linaje.
9	África Oriental (una cepa aislada en la República de Djibout, tres en Somalia y uno aislado en Europa, pero se desconoce el origen del paciente).	El análisis por espoligotipos determinó que las cepas aisladas en Somalia tienen un patrón único de SIT, y las otras cepas también tienen un patrón de SIT solo que extremadamente raros. El análisis genómico de las cepas de este linaje determinó: (i) deleción de una región que abarca desde Rv1762c hasta Rv1765. Sin embargo, esta región no es un marcador filogenético robusto porque se pueden encontrar deleciones parciales superpuestas en otros linajes. Específicamente, Rv1762c también está ausente en <i>Mycobacterium orygis</i> .	No existe información clínica, epidemiológica y experimental de estas cepas que describan sus características fenotípicas (virulencia, tasa de transmisión y fármaco-resistencia, entre otras).

Sin embargo, la presencia o ausencia de las regiones RvD fue muy variable en las cepas analizadas.

Por otro lado, cinco cepas de *M. canettii* analizadas tenían las regiones RDG, RvD y TbD1 conservadas, sin embargo, se observó una delección específica (RD^{can}) (Brosch *et al.*, 2002). La presencia de las regiones RDG, RvD y TbD1 en el genoma de *M. canettii*, así como de sus características fenotípicas (morfología de la colonia y contenido de su pared celular) sugiere que divergió de un ancestro común a *M. tb* (Brosch *et al.*, 2002). *M. bovis* fue la especie que más variación presentó en RDG, con cinco grupos distintos, pero la región RvD se conservó en todas las cepas analizadas. Once cepas de *M. africanum* aisladas del África Occidental carecían de la región RD9, pero tenían las regiones RvD y TbD1 (Brosch *et al.*, 2002).

De esta manera, usando PSL en combinación con los estudios de la genómica comparativa se definió que las especies del CMTB se clasifican en nueve linajes (Tabla II). En sentido estricto, los linajes L1, L2, L3, L4 y L7 pertenecen a *M. tb*, a diferencia de L5 y L6 que se conocen tradicionalmente como *M. africanum* del África Occidental 1 (aislados en los países del Golfo de Guinea Ecuatorial: en Burkina Faso, en Camerún, en República del Congo, en Nigeria, en Ghana y en el Congo) y 2 (aislados principalmente de Uganda), respectivamente (Yeboah-Manu, de Jong & Gehre, 2017). Las cepas adaptadas a los humanos exhiben una estructura de la población filogeográfica que corresponden a una íntima correlación evolutiva, con algunos linajes que ocurren a nivel mundial y otros que muestran restricción geográfica (Gagneux, 2018). Los linajes L2 y L4 son los más extendidos a nivel mundial, sin embargo, el linaje L2 domina principalmente en el este de Asia. Las cepas de los linajes L1 y L3 se han aislado principalmente en regiones alrededor del Océano Índico. Los linajes L5 y L6 están altamente restringidos al África occidental, y L7 se encuentra casi exclusivamente en Etiopía (Firdessa *et al.*, 2013; Gagneux, 2018; Yimer *et al.*, 2015). Se ha descrito un octavo linaje a partir de la reconstrucción y comparación filogenómica de dos cepas aisladas en pacientes de Ruanda y Uganda (Ngabonziza *et al.*, 2020). La comparación con otros genomas del CMTB indica que la divergencia del linaje 8 precedió a partir de la pérdida de la región del genoma *cobF*, involucrada en la síntesis de cobalamina/vitamina B12, y la delección de genes (que comprende aproximadamente 30 mil pares de bases) en un ancestro común posterior compartido por todos los otros linajes del CMTB conocidos (Ngabonziza *et al.*, 2020). Este descubrimiento apoya aún más un origen de África Oriental para el CMTB y proporciona pistas moleculares adicionales sobre la reducción del genoma ancestral asociada con la adaptación a un estilo de vida del patógeno (Ngabonziza *et al.*, 2020). El linaje 9 comprende solo cinco cepas aisladas en Somalia, en la República de Djibouti y en una cepa aislada en Europa (Coscolla *et al.*, 2021).

Según la presencia o ausencia de la región de delección específica 1 (TbD1), una región genómica que consiste en 2,153 pb, el CMTB se puede dividir en cepas “ancestrales” y “modernas” (Bottai *et al.*, 2020). La región TbD1 contiene los genes *mmpS6* y *mmpL6* (mycobacterial membrane protein large proteins) (Bottai *et al.*, 2020). Los genes de este operón codifican para una familia de proteínas denominada resistencia a la división por nodulación (resistance-nodulation-cell division, RND por sus siglas en inglés) las cuales están asociadas al transporte de lípidos, de glicolípidos, de transporte de hierro y la eliminación de compuestos tóxicos para *M. tb* (Ma *et al.*, 2022). Los linajes que no contienen esta región son menos susceptibles al estrés oxidativo y a condiciones de hipoxia que, en última instancia, les ha conferido ventajas adaptativas para sobrevivir en el hospedero (Bottai *et al.*, 2020; Ma *et al.*, 2022).

Por otro lado, las cepas que no tienen la región TbD1 se han denominado evolutivamente “modernas”, en comparación con las cepas que sí tienen la región, que colectivamente se han denominado cepas “ancestrales o antiguas”. Esta subdivisión ha sido confirmada por otros estudios (Gagneux, 2012; Galagan, 2014; Coscolla, 2017; Gagneux, 2018; Drain *et al.*, 2018). Los linajes 1, 5, 6 y 7, “linajes animales” (*M. bovis*, *M. microti* y *M. pinnipedi*) y *M. canettii* se incluyen en el grupo ancestral CMTB (con la región TbD1), en cuanto a los linajes 2, 3 y 4 constituyen el grupo moderno (sin la región TbD1). Así mismo, se ha demostrado que, contrariamente a la hipótesis establecida, los linajes animales (*M. bovis* y *M. microti*) y *M. africanum* se han separado del progenitor de los linajes ancestrales de *M. tb* (Gagneux, 2018). El hallazgo de que *M. canettii* y los linajes ancestrales de *M. tb* no muestran ninguna de las delecciones observadas en los linajes animales, sugiere que el bacilo de la TB era originalmente un patógeno humano (Coscolla, 2017; Gagneux, 2018).

Se ha planteado que el origen geográfico y evolutivo del CMTB es el continente africano por lo siguiente: (i) *M. canettii* y *M. africanum*, especies basales, se han aislado principalmente en este continente (Comas *et al.*, 2013; Hershberg *et al.*, 2008); (ii) África alberga la mayor diversidad genética del CMTB adaptados a los humanos en el mundo (Gagneux, 2018); y (iii) se ha determinado que los *Homo sapiens* de África son “filogenéticamente ancestrales” y albergan la mayor parte de la diversidad genética humana conocida (Stringer, 2016). Con base en estas observaciones, se propuso que el CMTB se originó en África y acompañó a las migraciones de los seres humanos hace aproximadamente 70,000 años (Comas *et al.*, 2013).

IMPLICACIONES CLÍNICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DEL CMTB

¿Cómo la diversidad genética del CMTB se traduce en diversidad fenotípica?, o, de otra manera ¿cuál es el impacto clínico y epidemiológico de la diversidad genética del CMTB?

Desde la perspectiva de salud pública, conocer y comprender las relaciones entre el genotipo y el fenotipo de las especies del CMTB, tiene el potencial de influir en las estrategias de prevención y control de la TB en el futuro.

IMPLICACIONES CLÍNICAS

Un distintivo de la TB es su variabilidad en las consecuencias clínicas y epidemiológicas de la infección por *M. tb*. Solo alrededor del 5% de los individuos infectados (en ausencia de condiciones predisponentes como VIH-SIDA, desnutrición, diabetes y otras enfermedades que comprometen el sistema inmunológico) desarrollarán la forma activa, o TB activa (Cadena, Fortune & Flynn, 2017). De igual forma, la gravedad de la TB activa puede ser muy variada y mostrar diferentes patrones de afectación pulmonar y extrapulmonar (Cadena *et al.*, 2017). La patología de la TB también difiere de acuerdo con la edad y el sexo de la persona infectada.

La diversidad genética de *M. tb* influye en las interacciones con el sistema inmunológico del hospedero con consecuencias en la patogénesis de la enfermedad. Las cepas de *M. tb* muestran una variación sustancial en su virulencia e inmunogenicidad, lo que en última instancia afecta su capacidad de inducir o acelerar la forma activa de la enfermedad (Coscolla & Gagneux, 2010; Gagneux *et al.*, 2006; López *et al.*, 2003; Tientcheu *et al.*, 2017).

Diferentes cepas de *M. tb* inducen a respuestas inmunes innatas y adaptativas diferenciales a través de múltiples efectores (Tientcheu *et al.*, 2017). Se ha demostrado que las cepas modernas de *M. tb* (linajes 2, 3, 4) inducen la expresión de las citocinas pro-inflamatorias en células mononucleares de sangre periférica humana, su producción es a bajos niveles y su expresión es retardada; además, se replican más rápidamente en ratones infectados con aerosol, y son más virulentas en los ratones en comparación con las cepas de *M. tb* más antiguas (Tientcheu *et al.*, 2017). Un ejemplo característico es la cepa HN878 de la familia Beijing del linaje 2, que se ha asociado a múltiples brotes de TB humana, y es altamente virulenta en modelos de ratones y conejos (Merker *et al.*, 2015). La cepa HN878 produce un glicolípido fenólico específico en su pared celular e induce a respuestas inmunes innatas y adaptativas diferentes a otras cepas (Merker *et al.*, 2015). En contraste, en un estudio donde se comparó la progresión de la enfermedad con tres cepas representativas de los linajes 2, 4 y 6, las infecciones con cepas antiguas del linaje 6 tuvieron la característica de tener poblaciones bacterianas muy bajas en un modelo primate no humano, *Callithrix jacchus*; en este modelo animal se contabilizó un menor número de unidades formadoras de colonias (Via *et al.*, 2013). Así mismo, estas cepas producen respuestas diferenciales de células T en humanos, en comparación con las cepas de un linaje moderno, y se han asociado con una virulencia y una progresión reducida a la enfermedad (de Jong *et al.*, 2008; Tientcheu *et al.*, 2014; Via *et al.*, 2013). Como resultado de estas observaciones, se ha propuesto que, a medida

que las poblaciones humanas se expandieron rápidamente, la *M. tb* pudo haber desarrollado mecanismos de progresión y transmisión más rápida de la enfermedad (Brites *et al.*, 2018; Coscolla & Gagneux, 2010; Gagneux, 2018). De esta manera, la diversidad genética de *M. tb* influye en la respuesta inmune del hospedero y, en consecuencia, en la progresión de la forma latente a la forma activa de la enfermedad.

En un individuo, la infección por *M. tb* puede existir en diversos microambientes dentro del pulmón, lo que induce a una heterogeneidad fenotípica de los bacilos. Se ha descrito que *M. tb* puede infectar diversos tipos de células del hospedero (Tientcheu *et al.*, 2017). Esta heterogeneidad celular influye en la respuesta inmune y en el desarrollo de la infección: del estado latente pasa por un espectro clínico, incipiente y subclínico, hasta desarrollarse la forma activa de la enfermedad, ya sea pulmonar o extrapulmonar (Drain *et al.*, 2018). Por otro lado, existen casos, principalmente de personas infectadas con VIH-SIDA, en los que la TB se comporta clínicamente de manera diferente, exhibiendo sintomatología poco habitual, a pesar de la presencia del bacilo y su proliferación en diferentes tejidos, incluso de diseminación de manera sistémica, y que solo han sido posible detectarlas con técnicas muy sensibles, como la tomografía de emisión de positrones combinada con tomografía axial computarizada y usando el compuesto fluorescente radioactivo 18F-fluoro-2-desoxi-glucosa (FDG) (Drain *et al.*, 2018). Varios estudios han reportado que pacientes co-infectados con VIH-SIDA y *M. tb* son asintomáticos, es decir no presentan tos o fiebre, tienen rayos X normales, baciloscopías negativas, diferentes niveles de inmunosupresión (determinado por la menor o mayor concentración de CD4, en un rango de 200 células por mililitro), y con una induración (respuesta de hipersensibilidad retardada mediada por células, principalmente linfocitos T, y que se manifiesta como una reacción local en la piel) de ≥ 5 mm después de aplicar la prueba de tuberculina (Mtei *et al.*, 2005; Naidoo *et al.*, 2022; Oni *et al.*, 2011; Swaminathan, Paramasivan, Kumar, Mohan & Venkatesan, 2004). Lo antes descrito, define la existencia de un espectro de resultados clínicos en el hospedero, que se manifiesta con diversos síntomas, así como distintas respuestas inmunes, patológicas y microbiológicas. Este espectro se ha observado a nivel individual y poblacional (Cadena *et al.*, 2017).

En el último reporte de la OMS, se estima que en el 2021 se presentaron 450,000 casos de tuberculosis-multi-drogo resistente (MDR-TB), también llamadas cepas resistentes a rifampicina, RR-TB, cepas que, como su nombre lo indica, son resistentes a los medicamentos de primera línea (hasta el momento) más importantes contra la TB: la rifampicina y la isoniazida, y de las cuales se considera que, aproximadamente 190,000 muertes fueron por estas cepas (WHO, 2022). La mayoría de las cepas asociadas a una fármaco-resistencia han sido descritas y estudiadas y provienen a su vez de los estudios en los linajes 2 y 4.

En el linaje 2 se encuentran agrupadas las cepas del sublinaje Beijing, de distribución global y asociadas a MDR-TB (Merker *et al.*, 2015). Se ha propuesto que las cepas de este sublinaje poseen ventajas selectivas en comparación con las cepas de otros linajes del CMTB, y estas características comprenden una mayor capacidad para adquirir resistencia a los medicamentos, hipermutabilidad, mayor transmisibilidad, hipervirulencia y/o progresión más rápida a la enfermedad después de la infección (Glynn *et al.*, 2002; Merker *et al.*, 2015; Parwati, van Crevel & van Soolingen, 2010). Las cepas de este sublinaje están asociadas a mutaciones en los siguientes genes: *rpoB*, en el codon S531L, y *katG*, en el codon 315 (Parwati *et al.*, 2010). Por otro lado, en las cepas Beijing también se han identificado mutaciones en otros genes asociados a fármaco resistencia y a la virulencia, y que se encuentran bajo selección positiva, característica que ha favorecido a la expansión de estas cepas. Su análisis genómico ha permitido determinar las siguientes familias de genes: *mce* (mammalian cell entry, por sus siglas en inglés), *vapBC* (virulence-associated protein, por sus siglas en inglés), genes que están asociados a la virulencia y modulación de la respuesta inmune y control del crecimiento, respectivamente. Adicionalmente, se ha determinado que la mutación en el operón *kdpDE*, contiene un grupo de genes que codifica a las proteínas de traducción de señales, fue identificado en un sub-grupo de las cepas Beijing causante de un brote epidemiológico en Rusia (Merker *et al.*, 2015). Otro gen de interés es el *mut2* (Rv1160), que está involucrado en la reparación del DNA, pero algunas mutaciones en este gen se han asociado con la elevación de tasas de mutación (Ebrahimi-Rad *et al.*, 2003; Merker *et al.*, 2015). Por otro lado, las cepas Beijing también poseen una característica específica en su pared celular: *in vitro* estas cepas producen un glicolípido fenólico específico e inducen a respuestas inmunes innatas y adaptativas diferentes a otras cepas (Parwati *et al.*, 2010).

A diferencia de los otros linajes del CMTB adaptados a los humanos, los miembros del linaje 4 se encuentran en altas frecuencias en todos los continentes (Brynildsrud *et al.*, 2018; Stucki *et al.*, 2016). El linaje 4 comprende al menos diez sublinajes, que difieren en su distribución geográfica. De especial interés dentro de este linaje son las cepas del sublinaje KZN, nombre asignado debido a su origen geográfico KwaZulu-Natal, Sudáfrica, originalmente conocidas como F15/LAM4/KZN. Este sublinaje llamó la atención debido a que un grupo de personas se infectaron con esta cepa en el período 2002-2006 (Gandhi *et al.*, 2010; Shah *et al.*, 2017). En todos estos pacientes, las cepas eran resistentes a isoniazida, rifampicina, kanamicina y fluoroquinolonas. Estas cepas ahora se conocen como cepas extremadamente resistentes a los medicamentos (XDR-TB) (Gandhi *et al.*, 2010), que se caracterizan por mutaciones en los genes *katG* (S315T), *rpoB* (L452P), *gyrA* (A90V), *rrs* (a1401g) y dos mutaciones adicionales en *rpoB* (D435G, I1106T) (Brown *et al.*, 2019). Análisis genómicos comparativos determinaron las mutaciones

secuenciales desde la cepa ancestral hasta la cepa XDR-TB. El primer paso hacia la resistencia a los medicamentos fue: en la isoniazida y la estreptomycinina, seguida del etambutol y la etionamida, la rifampicina y la pirazinamida y, por último a la kanamicina y la ofloxacina (Cohen *et al.*, 2015; Ioerger *et al.*, 2009).

IMPLICACIONES EPIDEMIOLÓGICAS

Se conoce que las diversas variantes del CMTB adaptadas a los humanos difieren en virulencia, en progresión de la enfermedad y en su potencial de transmisión. Por lo tanto, se supone que estas diferencias fenotípicas reflejan las distintas historias demográficas de sus respectivas poblaciones de hospederos humanos (Gagneux, 2018). En los párrafos anteriores mencionamos que las cepas de los linajes 2 y 4 son responsables de la mayoría de los casos de TB en el mundo. El linaje 2, que incluye a la familia de las cepas Beijing, probablemente tuvo su origen en el este de Asia, y se le ha asociado en repetidas ocasiones con la resistencia a los medicamentos anti-tuberculosis de primera línea (Merker *et al.*, 2015). En comparación con la cepa de *M. tb* H37Rv, las cepas del linaje 2 inducen a una respuesta inmunopatológica distinta en los modelos murinos, con áreas más grandes de neumonía y relativamente menos tejido pulmonar granulomatoso (Merker *et al.*, 2015). Estas discrepancias en la inmunopatología se han relacionado, al menos parcialmente, con las diferencias en la producción de distintos glicolípidos de la pared celular (glicolípido fenólico) que dan como resultado la activación diferencial de los receptores tipo Toll y las respuestas inflamatorias (Merker *et al.*, 2015). En lo que se refiere a las cepas del linaje 4 se encuentran distribuidas en todos los continentes con alta incidencia de TB (Stucki *et al.*, 2016). Este linaje tiene una frecuencia alta de distribución respecto a los otros y varía de acuerdo con las distintas regiones geográficas en donde tiene presencia: (i) en Norteamérica y el Caribe tiene una frecuencia del 20% respecto al linaje 6 (< 6%); (ii) en el Sur de América representa una frecuencia del 49.3% respecto al linaje 2 (26.7%); (iii) en Europa del este tiene una frecuencia del 24%; y (iv) en África tiene un porcentaje de distribución del 36% respecto al linaje 2 (21.5%) (Demay *et al.*, 2012). Por lo tanto, es el linaje más extendido geográficamente y el que más causa TB humana, demostrando el éxito de transmisión de sus cepas (Stucki *et al.*, 2016).

En un análisis más detallado de las diferencias genéticas dentro del linaje 4, basado en la secuenciación genómica y la comparación de polimorfismos de un solo nucleótido, se encontró que existen diez sublinajes: tres se presentan en los cinco continentes, otros cuatro están restringidos geográficamente en las regiones de África y Asia y, los tres restantes tienen una distribución geográfica más amplia (Stucki *et al.*, 2016). En este sentido, la restricción geográfica de los genotipos específicos de *M. tb* podría reflejar la adaptación local de estas variantes a las poblaciones de hospederos humanos correspondientes. Esta asociación simpátrica de hospedero-patógeno en la TB humana

es compatible con los sublinajes “locales” y respalda la hipótesis de que estos sublinajes representan “especialistas ecológicos” (Brites et al., 2018; Coscolla et al., 2021; Gagneux, 2018). Por el contrario, los tres sublinajes “globales” podrían representar especies generalistas capaces de infectar y causar la enfermedad en poblaciones humanas diferentes (Brites et al., 2018; Coscolla et al., 2021; Gagneux, 2018). A su vez, la distinta distribución geográfica de los sublinajes generales y especialistas se deben a factores biológicos intrínsecos (por ejemplo, diversidad de los epítomos de *M. tb*), a factores extrínsecos (como la migración humana europea y a la colonización), o a ambos (Tabla II).

CONCLUSIONES

Las características moleculares, evolutivas, clínicas y epidemiológicas del CMTB descritas en este artículo destacan por su éxito evolutivo. Diversos métodos genotípicos y los estudios de genómica comparativa han permitido definir la historia evolutiva, filogeografía y la genética estructural del CMTB en nueve linajes. Cada linaje ejerce diferentes presiones en las poblaciones humanas en cuanto a la parte inmunológica, a los estados clínicos de la enfermedad, a la capacidad de transmisión y al desarrollo de la fármaco-resistencia. En general, la diversidad genética y fenotípica del CMTB tiene impacto directo en la prevención y control de la TB por estar implicadas en: (i) los principales brotes de TB; (ii) la aparición de cepas resistentes a los medicamentos; y, (iii) al nivel de virulencia y progresión hacia una enfermedad activa (las más virulentas muestran una progresión más rápida hacia este tipo de enfermedad en los humanos y en los modelos animales).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen los comentarios y observaciones de los revisores anónimos que ayudaron a mejorar este trabajo.

REFERENCIAS

- Alexander, K. A., Larsen, M. H., Robbe-Austerman, S., Stuber, T. P. & Camp, P. M. (2016). Draft Genome Sequence of the *Mycobacterium tuberculosis* Complex Pathogen *M. mungi*, Identified in a Banded Mongoose (*Mungos mungo*) in Northern Botswana. *Genome Announcements*, **4(4)**. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00471-16>
- Bach, H., Papavinasundaram, K. G., Wong, D., Hmama, Z. & Av-Gay, Y. (2008). *Mycobacterium tuberculosis* virulence is mediated by PtpA dephosphorylation of human vacuolar protein sorting 33B. *Cell Host & Microbe*, **3(5)**, 316-322. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.03.008>
- Baker, L., Brown, T., Maiden, M. C. & Drobniewski, F. (2004). Silent nucleotide polymorphisms and a phylogeny for *Mycobacterium tuberculosis*. *Emerging Infectious Diseases*, **10(9)**, 1568-1577.
- Barberis, I., Bragazzi, N. L., Galluzzo, L. & Martini, M. (2017). The history of tuberculosis: From the first historical records to the isolation of Koch's bacillus. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, **58(1)**, E9-E12.
- Barksdale, L. & Kim, K. S. (1977). *Mycobacterium. Bacteriological Reviews*, **41(1)**, 217-372.
- Bottai, D., Frigui, W., Sayes, F., Di Luca, M., Spadoni, D., Pawlik, A., Zoppo, M., Orgeur, M., Khanna, V., Hardy, D., Mangenot, S., Barbe, V., Medigue, C., Ma, L., Bouchier, C., Tavanti, A., Larrouy-Maumus, G. & Brosch, R. (2020). TbD1 deletion as a driver of the evolutionary success of modern epidemic *Mycobacterium tuberculosis* lineages. *Nature Communications*, **11(1)**, 684. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14508-5>
- Bottai, D., Stinear, T. P., Supply, P. & Brosch, R. (2014). Mycobacterial Pathogenomics and Evolution. *Microbiology Spectrum*, **2(1)**, MGM2-0025-2013. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MGM2-0025-2013>
- Brites, D., Loiseau, C., Menardo, F., Borrell, S., Boniotti, M. B., Warren, R., Dippenaar, A., Parsons, S. D. C., Beisel, C., Behr, M. A., Fyfe, J. A., Coscolla, M. & Gagneux, S. (2018). A New Phylogenetic Framework for the Animal-Adapted *Mycobacterium tuberculosis* Complex. *Frontiers in Microbiology*, **9**, 1-9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02820>
- Brosch, R., Gordon, S. V., Marmiesse, M., Brodin, P., Buchrieser, C., Eiglmeier, K., Garnier, T., Gutierrez, C., Hewinson, G., Kremer, K., Parsons, L. M., Pym, A. S., Samper, S., Soolingen, D. & Cole, S. T. (2002). A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **99(6)**, 3684-3689. <https://doi.org/10.1073/pnas.052548299>
- Brown, T. S., Challagundla, L., Baugh, E. H., Omar, S. V., Mustaev, A., Auld, S. C., Shah, N. S., Kreiswirth, B. N., Brust, J. C. M., Nelson, K. N., Narechania, A., Kurepina, N., Mlisana, K., Bonneau, R., Eldholm, V., Ismail, N., Kolokotronis, S.-O., Robinson, D. A., Gandhi, N. R. & Mathema, B. (2019). Pre-detection history of extensively drug-resistant tuberculosis in KwaZulu-Natal, South Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **116(46)**, 23284-23291. <https://doi.org/10.1073/pnas.1906636116>
- Brynildsrud, O. B., Pepperell, C. S., Suffys, P., Grandjean, L., Monteserin, J., Debech, N., Bohlin, J., Alfsnes, K., Pettersson, J. O.-H., Kirkeleite, I., Fandinho, F., da Silva, M. A., Perdigao, J., Portugal, I., Viveiros, M., Clark, T., Caws, M., Dunstan, S., Thai, P. V. K., Lopez, B., Ritacco, V., Kitchen, A., Brown, T. S., van Soolingen, D., O'Neill, M. B., Holt, K. E., Feil, E. J., Mathema, B., Balloux, F. & Eldholm, V. (2018). Global expansion of *Mycobacterium tuberculosis* lineage 4 shaped by colonial migration and local adaptation. *Science Advances*, **4(10)**, eaat5869. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aat5869>
- Cadena, A. M., Fortune, S. M. & Flynn, J. L. (2017). Heterogeneity in tuberculosis. *Nature Reviews Immunology*, **17(11)**, 691-702. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.69>
- Casali, N. & Riley, L. W. (2007). A phylogenomic analysis of the Actinomycetales mce operons. *BMC Genomics*, **8(1)**, 60. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-60>

- Cohen, K. A., Abeel, T., McGuire, A. M., Desjardins, C. A., Munsamy, V., Shea, T. P., Walker, B. J., Bantubani, N., Almeida, D.V., Alvarado, L., Chapman, S. B., Mvelase, N. R., Duffy, E. Y., Fitzgerald, M. G., Govender, P., Gujja, S., Hamilton, S., Howarth, C., Larimer, J. D., Earl, A. M., Maharaj, K., Pearson, M. D., Priest, M. E., Zeng, Q., Padayatchi, N., Grosset, J., Young, S. K., Wortman, J., Mlisana, K. P., O'Donnell, M. R., Birren, B. W., Bishai, W. R., Pym, A. S. & Earl, A. M. (2015). Evolution of Extensively Drug-Resistant Tuberculosis over Four Decades: Whole Genome Sequencing and Dating Analysis of *Mycobacterium tuberculosis* Isolates from KwaZulu-Natal. *PLOS Medicine*, **12(9)**, e1001880. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001880>
- Cole, S. T., Brosch, R., Parkhill, J., Garnier, T., Churcher, C., Harris, D., Gordon, S. V., Eiglmeier, K., Gas, S., Barry, C. E., Tekaiia, F., Badcock, K., Bashman, D., Brown, D., Chillingworth, T., Connor, R., Davies, R., Devlin, K., Feltwell, T., Gentles, S., Hamlin, N., Holroyd, S., Hornsby, T., Jagels, K., Krogh, A., McLean, J., Moule, S., Murphy, L., Oliver, K., Osborne, J., Quail, M. A., Rajandream, M. A., Rogers, J., Rutter, S., Seeger, K., Skelton, J., Squares, R., Squares, S., Sulston, J. E., Taylor, K., Whitehead, S. & Barrell, B. G. (1998). Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*, **393(6685)**, 537-544. <https://doi.org/10.1038/31159>
- Comas, I., Coscolla, M., Luo, T., Borrell, S., Holt, K. E., Kato-Maeda, M., Parkhill, J., Malla, B., Berg, S., Thwaites, G., Yeboah-Manu, D., Bothamley, G., Mei, J., Wei, L., Bentley, S., Harris, S. R., Niemann, S., Diel, R., Aseffa, A., Gao, Q., Young, D. & Gagneux, S. (2013). Out-of-Africa migration and Neolithic coexpansion of *Mycobacterium tuberculosis* with modern humans. *Nature Genetics*, **45(10)**, 1176-1182. <https://doi.org/10.1038/ng.2744>
- Coscolla, M. (2017). Biological and Epidemiological Consequences of MTBC Diversity. En S. Gagneux (Ed.), *Strain Variation in the Mycobacterium tuberculosis Complex: Its Role in Biology, Epidemiology and Control* (pp. 95-116). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-64371-7_5
- Coscolla, M. & Gagneux, S. (2010). Does *M. tuberculosis* genomic diversity explain disease diversity? *Drug Discovery Today. Disease Mechanisms*, **7(1)**, e43-e59. <https://doi.org/10.1016/j.ddmec.2010.09.004>
- Coscolla, M., Gagneux, S., Menardo, F., Loiseau, C., Ruiz-Rodriguez, P., Borrell, S., Otchere, I. D., Asante-Poku, A., Asare, P., Sánchez-Busó, L., Gehre, F., Sanoussi, C. N., Antonio, M., Affolabi, D., Fyfe, J., Beckert, P., Niemann, S., Alabi, A. S., Grobusch, M. P., Kobbe, R., Parkhill, J., Beisel, C., Fenner, L., Böttger, E. C., Meehan, C. J., Harris, S. R., de Jong, B. C., Yeboah-Manu, D. & Brites, D. (2021). Phylogenomics of *Mycobacterium africanum* reveals a new lineage and a complex evolutionary history. *Microbial Genomics*, **7(2)**. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000477>
- Coscolla, M., Lewin, A., Metzger, S., Maetz-Renssing, K., Calvignac-Spencer, S., Nitsche, A., Dabrowski, P. W., Radonic, A., Niemann, S., Parkhill, J., Couacy-Hymann, E., Feldman, J., Comas, I., Boesch, C., Gagneux, S. & Leendertz, F. H. (2013). Novel *Mycobacterium tuberculosis* complex isolate from a wild chimpanzee. *Emerging Infectious Diseases*, **19(6)**, 969-976. <https://doi.org/10.3201/eid1906.121012>
- Cousins, D. V., Bastida, R., Cataldi, A., Quse, V., Redrobe, S., Dow, S., Duignan, P., Murray, A., Dupont, C., Ahmed, N., Collins, D. M., Butler, W. R., Dawson, D., Rodriguez, D., Loureiro, J., Romano, M. I., Alito, A., Zumarraga, M. & Bernardelli, A. (2003). Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium pinnipedii* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **53(Pt 5)**, 1305-1314. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02401-0>
- de Jong, B. C., Hill, P. C., Aiken, A., Awine, T., Antonio, M., Adetifa, I. M., Jackson-Sillah, D. J., Fox, A., Deriemer, K., Gagneux, S., Borgdorff, M. W., McAdam, K. P. W. J., Corrah, T., Small, P. M. & Adegbola, R. A. (2008). Progression to active tuberculosis, but not transmission, varies by *Mycobacterium tuberculosis* lineage in The Gambia. *The Journal of Infectious Diseases*, **198(7)**, 1037-1043. <https://doi.org/10.1086/591504>
- Demay, C., Liens, B., Burguière, T., Hill, V., Couvin, D., Millet, J., Mokrousov, I., Sola, C., Zozio, T. & Rastogi, N. (2012). SITVITWEB--a publicly available international multimarker database for studying *Mycobacterium tuberculosis* genetic diversity and molecular epidemiology. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, **12(4)**, 755-766. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.02.004>
- Dippenaar, A., Parsons, S. D. C., Sampson, S. L., van der Merwe, R. G., Drewe, J. A., Abdallah, A. M., Siame, K. K., Gey van Pittius, N. C., van Helden, P. D., Pain, A. & Warren, R. M. (2015). Whole genome sequence analysis of *Mycobacterium suricattae*. *Tuberculosis*, **95(6)**, 682-688. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2015.10.001>
- Drain, P. K., Bajema, K. L., Dowdy, D., Dheda, K., Naidoo, K., Schumacher, S. G., Ma, S., Meermeier, E., Lewinsohn, D. M. & Sherman, D. R. (2018). Incipient and Subclinical Tuberculosis: A Clinical Review of Early Stages and Progression of Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, **31(4)**, e00021-18 <https://doi.org/10.1128/CMR.00021-18>
- Ebrahimi-Rad, M., Bifani, P., Martin, C., Kremer, K., Samper, S., Rauzier, J., Kreiswirth, B., Blazquez, J., Jouan, M., van Soolingen, D. & Gicquel, B. (2003). Mutations in putative mutator genes of *Mycobacterium tuberculosis* strains of the W-Beijing family. *Emerging Infectious Diseases*, **9(7)**, 838-845. <https://doi.org/10.3201/eid0907.020803>
- Firdessa, R., Berg, S., Hailu, E., Schelling, E., Gumi, B.,

- Erenso, G., Gadisa, E., Kiros, T., Habtamu, M., Hussein, J., Zinsstag, J., Robertson, B. D., Ameni, G., Lohan, A. J., Loftus, B., Comas, I., Gagneux, S., Tschopp, R., Yamuah, L., Hewinson, G., Gordon, S. V., Young, D. B. & Aseffa, A. (2013). Mycobacterial lineages causing pulmonary and extrapulmonary tuberculosis, Ethiopia. *Emerging Infectious Diseases*, **19**(3), 460-463. <https://doi.org/10.3201/eid1903.120256>
- Fu, L. M. & Fu-Liu, C. S. (2002). Is *Mycobacterium tuberculosis* a closer relative to Gram-positive or Gram-negative bacterial pathogens? *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, **82**(2-3), 85-90. <https://doi.org/10.1054/tube.2002.0328>
- Gagneux, S. (2012). Host-pathogen coevolution in human tuberculosis. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, **367**(1590), 850-859. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0316>
- Gagneux, S. (2018). Ecology and evolution of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nature Reviews Microbiology*, **16**(4), 202-213. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.8>
- Gagneux, S., DeRiemer, K., Van, T., Kato-Maeda, M., Jong, B. C. de, Narayanan, S., Nicol, M., Niemann, S., Kremer, K., Gutierrez, M. C., Hilty, M., Hopewell, P. C. & Small, P. M. (2006). Variable host-pathogen compatibility in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**(8), 2869-2873. <https://doi.org/10.1073/pnas.0511240103>
- Galagan, J. E. (2014). Genomic insights into tuberculosis. *Nature Reviews Genetics*, **15**(5), 307-320. <https://doi.org/10.1038/nrg3664>
- Gandhi, N. R., Nunn, P., Dheda, K., Schaaf, H. S., Zignol, M., van Soolingen, D., Jensen, P. & Bayona, J. (2010). Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: A threat to global control of tuberculosis. *Lancet*, **375**(9728), 1830-1843. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60410-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60410-2)
- Garnier, T., Eiglmeier, K., Camus, J.-C., Medina, N., Mansoor, H., Pryor, M., Duthoy, S., Grondin, S., Lacroix, C., Monsempe, C., Simon, S., Harris, B., Atkin, R., Doggett, J., Mayes, R., Keating, L., Wheeler, P. R., Parkhill, J., Barrell, B. G., Cole S.T., Gordon, S., V. & Hewinson, R., G. (2003). The complete genome sequence of *Mycobacterium bovis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**(13), 7877-7882. <https://doi.org/10.1073/pnas.1130426100>
- Glynn, J. R., Whiteley, J., Bifani, P. J., Kremer, K. & van Soolingen, D. (2002). Worldwide occurrence of Beijing/W strains of *Mycobacterium tuberculosis*: A systematic review. *Emerging Infectious Diseases*, **8**(8), 843-849. <https://doi.org/10.3201/eid0805.020002>
- Gupta, R. S., Lo, B. & Son, J. (2018). Phylogenomics and Comparative Genomic Studies Robustly Support Division of the Genus *Mycobacterium* into an Emended Genus *Mycobacterium* and Four Novel Genera. *Frontiers in Microbiology*, **9**(67), 1-11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00067>
- Gutierrez, M. C., Brisse, S., Brosch, R., Fabre, M., Omaiš, B., Marmiesse, M., Supply, P. & Vincent, V. (2005). Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathogens*, **1**(1), e5. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0010005>
- Hershberg, R., Lipatov, M., Small, P. M., Sheffer, H., Niemann, S., Homolka, S., Roach, J. C., Kremer, K., Petrov, D. A., Feldman, M. W. & Gagneux, S. (2008). High functional diversity in *Mycobacterium tuberculosis* driven by genetic drift and human demography. *PLoS Biology*, **6**(12), e311. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060311>
- Hershkovitz, I., Donoghue, H. D., Minnikin, D. E., May, H., Lee, O.Y.-C., Feldman, M., Galili, E., Spigelman, M., Rothschild, B. M. & Bar-Gal, G. K. (2015). Tuberculosis origin: The Neolithic scenario. *Tuberculosis*, **95**(Suppl 1), S122-S126. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2015.02.021>
- Ioerger, T. R., Koo, S., No, E.-G., Chen, X., Larsen, M. H., Jr, W. R. J., Pillay, M., Sturm, A. W. & Sacchetti, J. C. (2009). Genome Analysis of Multi- and Extensively-Drug-Resistant Tuberculosis from KwaZulu-Natal, South Africa. *PLOS ONE*, **4**(11), e7778. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007778>
- Kamerbeek, J., Schouls, L., Kolk, A., van Agterveld, M., van Soolingen, D., Kuijper, S., Bunschoten, A., Molhuizen, H., Shaw, R., Goyal, M. & van Embden, J. (1997). Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *Journal of Clinical Microbiology*, **35**(4), 907-914.
- Koeck, J.-L., Fabre, M., Simon, F., Daffé, M., Garnotel, E., Matan, A. B., Jérôme, P., Bernatas, J.-J., Buisson, Y. & Pourcel, C. (2011). Clinical characteristics of the smooth tubercle bacilli *Mycobacterium canettii* infection suggest the existence of an environmental reservoir. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **17**(7), 1013-1019. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03347.x>
- Kubica, G. P., Kim, T. & Dunbar, F. (1972). Designation of strain H37Rv as the neotype of *Mycobacterium tuberculosis*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **22**(2), 99-106.
- Loiseau, C., Menardo, F., Aseffa, A., Hailu, E., Gumi, B., Ameni, G., Berg, S., Rigouts, L., Robbe-Austerman, S., Zinsstag, J., Gagneux, S. & Brites, D. (2020). An African origin for *Mycobacterium bovis*. *Evolution, Medicine, and Public Health*, **2020**(1), 49-59. <https://doi.org/10.1093/emph/eoaa005>
- López, B., Aguilar, D., Orozco, H., Burger, M., Espitia, C., Ritacco, V., Barrera, L., Kremer, K., Hernandez-Pando, R., Huygen, K. & van Soolingen, D. (2003). A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes. *Clinical and Experimental Immunology*, **133**(1), 30-37. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2003.02171.x>

- Ma, R., Farrell, D., Gonzalez, G., Browne, J. A., Nakajima, C., Suzuki, Y. & Gordon, S. V. (2022). The TbD1 Locus Mediates a Hypoxia-Induced Copper Response in *Mycobacterium bovis*. *Frontiers in Microbiology*, **14**(13):817952. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.817952>
- Merker, M., Blin, C., Mona, S., Duforet-Frebouret, N., Lecher, S., Willery, E., Blum, M. G. B., Rüscher-Gerdes, S., Mokrousov, I., Aleksic, E., Allix-Béguec, C., Antierens, A., Augustynowicz-Kopeć, E., Ballif, M., Barletta, F., Beck, H. P., Barry, C. E., Bonnet, M., Borroni, E., Campos-Herrero, I., Cirillo, D., Cox, H., Crowe, S., Crudu, V., Diel, R., Drobniński, F., Fauville-Dufaux, M., Gagneux, S., Ghebremichael, S., Hanekom, M., Hoffner, S., Jiao, W. W., Kalon, S., Kohl, T. A., Kontsevaya, I., Lillebæk, T., Maeda, S., Nikolayevskyy, V., Rasmussen, M., Rastogi, N., Samper, S., Sanchez-Padilla, E., Savic, B., Shamputa, I. C., Shen, A., Sng, L. H., Stakenas, P., Toit, K., Varaine, F., Vukovic, D., Wahl, C., Warren, R., Supply, P., Niemann, S. & Wirth, T. (2015). Evolutionary history and global spread of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage. *Nature Genetics*, **47**(3), 242-249. <https://doi.org/10.1038/ng.3195>
- Minnikin, D. E., Lee, O.Y.-C., Wu, H. H. T., Besra, G. S., Bhatt, A., Nataraj, V., Rothschild, B. M., Spigelman, M. & Donoghue, H. D. (2015). Ancient mycobacterial lipids: Key reference biomarkers in charting the evolution of tuberculosis. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, **95**(Suppl 1), S133-139. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2015.02.009>
- Mtei, L., Matee, M., Herfort, O., Bakari, M., Horsburgh, C. R., Waddell, R., Cole, B. F., Vuola, J. M., Tvaroha, S., Kreiswirth, B., Pallangyo, K. & von Reyn, C. F. (2005). High rates of clinical and subclinical tuberculosis among HIV-infected ambulatory subjects in Tanzania. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, **40**(10), 1500-1507. <https://doi.org/10.1086/429825>
- Naidoo, K., Moodley, M. C., Hassan-Moosa, R., Dookie, N., Yende-Zuma, N., Perumal, R., Dawood, H., Mvelase, N. R., Mathema, B. & Karim, S. A. (2022). Recurrent Subclinical Tuberculosis Among Antiretroviral Therapy-Accessing Participants: Incidence, Clinical Course, and Outcomes. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, **75**(9), 1628-1636. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac185>
- Ngabonziza, J. C. S., Loiseau, C., Marceau, M., Jouet, A., Menardo, F., Tzfadia, O., Antoine, R., Niyigana, E. B., Mulders, W., Fissette, K., Diels, M., Gaudin, C., Duthoy, S., Ssengooba, W., André, E., Kaswa, M. K., Habimana, Y. M., Brites, D., Affolabi, D., Mazarati, J. B., de Jong, B. C., Rigouts, L., Gagneux, S., Meehan, C. J. & Supply, P. (2020). A sister lineage of the *Mycobacterium tuberculosis* complex discovered in the African Great Lakes region. *Nature Communications*, **11**(1), 2917. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16626-6>
- Oni, T., Burke, R., Tsekela, R., Bangani, N., Seldon, R., Gideon, H. P., Wood, K., Wilkinson, K. A., Ottenhoff, T. H. M. & Wilkinson, R. J. (2011). High prevalence of subclinical tuberculosis in HIV-1-infected persons without advanced immunodeficiency: Implications for TB screening. *Thorax*, **66**(8), 669-673. <https://doi.org/10.1136/thx.2011.160168>
- Otal, I., Martín, C., Vincent-Lévy-Frebault, V., Thierry, D. & Gicquel, B. (1991). Restriction fragment length polymorphism analysis using IS6110 as an epidemiological marker in tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology*, **29**(6), 1252-1254. <https://doi.org/10.1128/jcm.29.6.1252-1254.1991>
- Pandey, A. K. & Sassetti, C. M. (2008). Mycobacterial persistence requires the utilization of host cholesterol. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**(11), 4376-4380. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711159105>
- Parwati, I., van Crevel, R. & van Soolingen, D. (2010). Possible underlying mechanisms for successful emergence of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains. *The Lancet Infectious Diseases*, **10**(2), 103-111. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70330-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70330-5)
- Prodinger, W. M., Indra, A., Koksalan, O. K., Kilicaslan, Z. & Richter, E. (2014). *Mycobacterium caprae* infection in humans. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, **12**(12), 1501-1513. <https://doi.org/10.1586/14787210.2014.974560>
- Quigley, J., Hughitt, V. K., Velikovskiy, C. A., Mariuzza, R. A., El-Sayed, N. M. & Briken, V. (2017). The Cell Wall Lipid PDIM Contributes to Phagosomal Escape and Host Cell Exit of *Mycobacterium tuberculosis*. *MBio*, **8**(2). <https://doi.org/10.1128/mBio.00148-17>
- Riojas, M. A., McGough, K. J., Rider-Riojas, C. J., Rastogi, N. & Hazbón, M. H. (2018). Phylogenomic analysis of the species of the *Mycobacterium tuberculosis* complex demonstrates that *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti* and *Mycobacterium pinnipedii* are later heterotypic synonyms of *Mycobacterium tuberculosis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **68**(1), 324-332. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002507>
- Shah, N. S., Auld, S. C., Brust, J. C. M., Mathema, B., Ismail, N., Moodley, P., Mlisana, K., Allana, S., Campbell, A., Mthiyane, T., Morris, N., Mpangase, P., van der Meulen, H., Omar, S. V., Brown, T. S., Narechania, A., Shaskina, E., Kapwata, T., Kreiswirth, B. & Gandhi, N. R. (2017). Transmission of Extensively Drug-Resistant Tuberculosis in South Africa. *The New England Journal of Medicine*, **376**(3), 243-253. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1604544>
- Silva-Pereira, T. T., Ikuta, C. Y., Zimpel, C. K., Camargo, N. C. S., de Souza Filho, A. F., Ferreira Neto, J. S., Heinemann, M. B. & Guimarães, A. M. S. (2019). Genome sequencing of *Mycobacterium pinnipedii* strains: Genetic characterization and evidence of superinfection in a South American sea lion (*Otaria flavescens*). *BMC Genomics*, **20**(1), 1030. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6407-5>

- Smith, N. H., Crawshaw, T., Parry, J. & Birtles, R. J. (2009). *Mycobacterium microti*: More diverse than previously thought. *Journal of Clinical Microbiology*, **47**(8), 2551-2559. <https://doi.org/10.1128/JCM.00638-09>
- Stringer, C. (2016). The origin and evolution of *Homo sapiens*. *Philos Trans R Soc. Lond B Biol. Sci.*, **371**(1698):20150237. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0237>
- Stucki, D., Brites, D., Jeljeli, L., Coscolla, M., Liu, Q., Trauner, A., Fenner, L., Rutaihua, L., Borrell, S., Luo, T., Gao, Q., Kato-Maeda, M., Ballif, M., Egger, M., Macedo, R., Mardassi, H., Moreno, M., Tundo Vilanova, G., Fyfe, J., Globan, M., Thomas, J., Jamieson, F., Guthrie, J. L., Asante-Poku, A., Yeboah-Manu, D., Wampande, E., Ssengooba, W., Joloba, M., Henry Boom, W., Basu, I., Bower, J., Saraiva, M., Vaconcellos, S. E. G., Suffys, P., Koch, A., Wilkinson, R., Gail-Bekker, L., Malla, B., Ley, S. D., Beck, H. P., de Jong, B. C., Toit, K., Sanchez-Padilla, E., Bonnet, M., Gil-Brusola, A., Frank, M., Penlap Beng, V. N., Eisenach, K., Alani, I., Wangui Ndung'u, P., Revathi, G., Gehre, F., Akter, S., Ntoumi, F., Stewart-Isherwood, L., Ntinginya, N. E., Rachow, A., Hoelscher, M., Cirillo, D. M., Skenders, G., Hoffner, S., Bakonyte, D., Stakenas, P., Diel, R., Crudu, V., Moldovan, O., Al-Hajoj, S., Otero, L., Barletta, F., Jane Carter, E., Diero, L., Supply, P., Comas, I., Niemann, S. & Gagneux, S. (2016). *Mycobacterium tuberculosis* lineage 4 comprises globally distributed and geographically restricted sublineages. *Nature Genetics*, **48**(12), 1535-1543. <https://doi.org/10.1038/ng.3704>
- Supply, P., Allix, C., Lesjean, S., Cardoso-Oelemann, M., Rüsche-Gerdes, S., Willery, E., Savine, E., de Haas, P., van Deutekom, H., Roring, S., Bifani, P., Kurepina, N., Kreiswirth, B., Sola, C., Rastogi, N., Vatin, V., Gutierrez, M. C., Fauville, M., Niemann, S., Skuc, R., Kremer, K., Loch, C. & van Soolingen, D. (2006). Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Clinical Microbiology*, **44**(12), 4498-4510. <https://doi.org/10.1128/JCM.01392-06>
- Swaminathan, S., Paramasivan, C. N., Kumar, S. R., Mohan, V. & Venkatesan, P. (2004). Unrecognised tuberculosis in HIV-infected patients: Sputum culture is a useful tool. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, **8**(7), 896-898.
- Tientcheu, L. D., Koch, A., Ndengane, M., Andoseh, G., Kampmann, B. & Wilkinson, R. J. (2017). Immunological consequences of strain variation within the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *European Journal of Immunology*, **47**(3), 432-445. <https://doi.org/10.1002/eji.201646562>
- Tientcheu, L. D., Sutherland, J. S., de Jong, B. C., Kampmann, B., Jafali, J., Adetifa, I. M., Antonio, M., Dockrell, H. M. & Ota, M. O. (2014). Differences in T-cell responses between *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium africanum*-infected patients. *European Journal of Immunology*, **44**(5), 1387-1398. <https://doi.org/10.1002/eji.201343956>
- Tió-Coma, M., Wijnands, T., Pierneef, L., Schilling, A. K., Alam, K., Roy, J. C., Faber, W. R., Menke, H., Pieters, T., Stevenson, K., Richardus, J. H. & Geluk, A. (2019). Detection of *Mycobacterium leprae* DNA in soil: Multiple needles in the haystack. *Scientific Reports*, **9**(1), 3165. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39746-6>
- van Ingen, J., Rahim, Z., Mulder, A., Boeree, M. J., Simeone, R., Brosch, R. & van Soolingen, D. (2012). Characterization of *Mycobacterium orygis* as *M. tuberculosis* complex subspecies. *Emerging Infectious Diseases*, **18**(4), 653-655. <https://doi.org/10.3201/eid1804.110888>
- VanderVen, B. C., Huang, L., Rohde, K. H. & Russell, D. G. (2016). The Minimal Unit of Infection: *Mycobacterium tuberculosis* in the Macrophage. *Microbiology Spectrum*, **4**(6). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.TBTB2-0025-2016>
- Via, L. E., Weiner, D. M., Schimel, D., Lin, P. L., Dayao, E., Tankersley, S. L., Cai, Y., Coleman, M. T., Tomko, J., Paripati, P., Orandle, M., Kastenmayer, R. J., Tartakovsky, M., Rosenthal, A., Portevin, D., Eum, S. Y., Lahouar, S., Gagneux, S., Young, D. B., Flynn, J. L. & Barry, C. E. (2013). Differential virulence and disease progression following *Mycobacterium tuberculosis* complex infection of the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Infection and Immunity*, **81**(8), 2909-2919. <https://doi.org/10.1128/IAI.00632-13>
- WHO. (2022). *Global Tuberculosis Report 2022*. WHO. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021>
- Wong, D., Bach, H., Sun, J., Hmama, Z. & Av-Gay, Y. (2011). *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase (PtpA) excludes host vacuolar-H⁺-ATPase to inhibit phagosome acidification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**(48), 19371-19376. <https://doi.org/10.1073/pnas.1109201108>
- Yam, K. C., D'Angelo, I., Kalscheuer, R., Zhu, H., Wang, J.-X., Snieckus, V., Ly, L. H., Converse, P. J., Jacobs, W. R., Strynadka, N. & Eltis, L. D. (2009). Studies of a ring-cleaving dioxygenase illuminate the role of cholesterol metabolism in the pathogenesis of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathogens*, **5**(3), e1000344. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000344>
- Yeboah-Manu, D., de Jong, B. C. & Gehre, F. (2017). The Biology and Epidemiology of *Mycobacterium africanum*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **1019**, 117-133. https://doi.org/10.1007/978-3-319-64371-7_6
- Yimer, S. A., Norheim, G., Namouchi, A., Zegeye, E. D., Kinander, W., Tønjum, T., Bekele, S., Mannsåker, T., Bjune, G., Aseffa, A. & Holm-Hansen, C. (2015). *Mycobacterium tuberculosis* Lineage 7 Strains Are Associated with Prolonged Patient Delay in Seeking Treatment for Pulmonary Tuberculosis in Amhara Region, Ethiopia. *Journal of Clinical Microbiology*, **53**(4), 1301-1309. <https://doi.org/10.1128/JCM.03566-14>