



## ANÁLISIS MOLECULAR DE LA TRANSMISIBILIDAD DE CEPAS DE *M. Tuberculosis* MULTIFARMACORRESISTENTE EN POBLACIÓN DEL ESTADO DE JALISCO

Gladys López(1), Guadalupe Gonzalez(1), Martín López(3), Gustavo Mora(2), Manuel Sandoval(3), Juan Villanueva(3), David Miranda(1), Carlos Vazquez(4) e Ikuri Alvarez(1). 1. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del estado de Jalisco, 2. Colegio de Posgraduados, 3. Laboratorio Estatal de Salud Pública, 4.- INDRE. Guadalajara Jalisco, 44258. gladys.fcq@gmail.com

*Palabras clave: M. Tuberculosis, MIRU-VNTR, Spoligotyping*

**Introducción.** Una de las mayores problemáticas en la tuberculosis es la transmisión y diseminación de los bacilos infectantes por lo que una variedad de métodos han sido utilizados para visualizar los polimorfismos en cepas del complejo *M. Tuberculosis*, entre ellos la técnica de SPOLIGOTYPING y de MIRU – VNTR (1) permite indicar posibles asociaciones epidemiológicas, detectar brotes sospechosos y distinguir de reinfección exógena de un caso de reactivación en recaídas (2)

El objetivo del presente trabajo es evaluar la variabilidad genética de las cepas presentes en el estado de Jalisco así como observar la diseminación de las mismas en la población

**Metodología.** Se recibieron muestras de tuberculosis activa del CEESLAB, se inactivó por la técnica de ebullición y se extrajo el DNA mediante la técnica de CTAB. Después de este paso se realizaron las técnicas de genotipificación Spoligotyping (3) y MIRU- VNTR(4) como se a descrito anteriormente. Una vez que se obtienen los datos de ambas técnicas se realizaron dendogramas en la página [www.miru-vntrplus.org.mx](http://www.miru-vntrplus.org.mx) para evaluar asociaciones entre las cepas

**Resultados.** Se obtuvieron 90 muestras en el estudio de estas 69 fueron farmacorresistentes (33 monorresistentes, 10 polirresistentes, 9 MDR, 17 reincidentes y 19 sensibles); la media de edad fue de 42.8 años y en hombres se observó una mayor incidencia.

Mediante la técnica de Spoligotyping se determinó la presencia de varias familias como T1 (25.63%), H (7.93%), MANU (4.76%), X (3.17%), LAM y EAI5 (1.68%), así como huérfanos (53.96%), lo cual es de gran relevancia ya que podrían ser cepas endémicas de México. Se realizó el panel de 24 mirus para realizar un análisis más completo y se comparó con lo que se observó al realizar el análisis con 12, 15 y 24 locus con o sin spoligotyping, el dendograma se muestra en la figura 1



Fig. 1. Comparación de dendograma NJ entre el análisis de MIRU 15 y MIRU 24

Cuando se comparó el resultado de los análisis de los mirus en 12, 15 y 24 se observó que la formación de clusters para cada una iba cambiando considerablemente, esto debido a la especificidad que se tiene al incrementar el número de locus y al utilizar éstas dos técnicas de genotipificación, lo cual se había reportado que al utilizar sólo la técnica de Spoligotyping el índice de formación clonal era de 0.85, al utilizar MIRU de 24 locus y Spoligotyping la especificidad aumentaba a 0.99. (5)

En el dendograma se observó de igual manera que no había dos cepas iguales, por lo que se concluye que las cepas no se transmiten de manera activa en la población, si no que la variabilidad es dada debido a la falta de apego al tratamiento.

En la técnica de MIRU- VNTR se observó que existen primers que no son polimórficos para nuestra población, por lo que nosotros proponemos que con solo 13 MIRUS (424, 577, 802, 960, 1955, 2163, 2165, 2401, 2996, 3192, 3690, 4052 y 4156), se pueden obtener los mismos resultados que con el set de 24 locus.

**Conclusiones.** Los resultados sugieren que las cepas de *M. Tuberculosis* con resistencia al tratamiento en el estado de Jalisco pudieran no estar transmitiéndose entre la población analizada de manera directa.

**Agradecimiento.** Se agradece a CONACYT por el apoyo para el financiamiento del estudio a través del proyecto SALUD-2012-01-180574

### Bibliografía.

- 1.- Kramer K, van Soolingen D, Frothingham R, Haas W, Hermans P, Martín C, Palittapongpim P, Plikaytis B, Riley L, Yakus M, Musser J y van Embden J. (1999). *J clin Microbiol.* 37 (8). 2607 – 2618.
- 2.- Supply P, Allix C, Lesjean S, Cardoso M, Rüsch S, Willery E, Savine E, de Haas P, van Deutekom H, Roring S, Bifani P, Kurepina N, Kleiswirth B, Sola C, Rastogi N, Vatin V, Gutierrez M, Fauville M, Niemann S, Skuce R, Kremer K, Loch C, van Soolingen D.(2006). *J. Clin. Microbiol.* 44 (12). 4498 – 4510.
- 3.- 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). *J. Clin. Microbiol.* 35 (4). 907 – 914.
- 4.- Supply P, Mazars E, Lesjean S, Vincent V, Gicquel B y Loch C. (2000). *Molecular Microbiology.* 36 (3). 762 – 771.
- 5.- Pitondo S, Barreto A, Jolley K, Fujimura L, da Costa A. *Journal of Microbiological Methods.* 93 (2013) 42-48