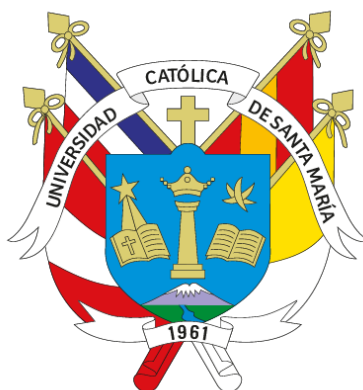


Universidad Católica de Santa María

Escuela de Postgrado

Doctorado en Ciencias de la Salud



**Linajes de *Mycobacterium tuberculosis* identificados mediante la
técnica MIRU-VTNR en cepas cultivadas en la región
Arequipa**

Tesis presentada por el maestro:

Manrique Sam, Maria Cecilia

ORCID: 0000-0001-5229-0810

Para optar el grado académico de Doctor en Ciencias de la Salud

Asesor (a):

Dr. Villanueva Salas, José Antonio

ORCID: 0000-0001-6050-0101

Arequipa - Perú

2025

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
ESCUELA DE POSTGRADO
DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR DE TESIS

Arequipa, 28 de Enero del 2025

Dictamen: 013776-C-EPG-2025

Visto el borrador del expediente 013776, presentado por:

2019000092 - MANRIQUE SAM MARIA CECILIA

Titulado:

**LINAJES DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS IDENTIFICADOS MEDIANTE LA TÉCNICA
MIRU-VTNR EN CEPAS CULTIVADAS EN LA REGIÓN AREQUIPA**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

**30401320 - FARFAN DELGADO MIGUEL FERNANDO
DICTAMINADOR**



**29698155 - MIRANDA PINTO ALEJANDRO RUTHBALDO
DICTAMINADOR**



**16423061 - FERNANDEZ FERNANDEZ FERNANDO ALBERTO
DICTAMINADOR**



**29318266 - GUTIERREZ MORALES JAVIER HERBERT
DICTAMINADOR**



**29266386 - AZALGARA LAZO PATRICIO GONZALO
DICTAMINADOR**



Linajes de Mycobacterium tuberculosis identificados mediante la técnica MIRU-VTNR en cepas cultivadas en la región Arequipa

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

INDICE DE SIMILITUD

17%

FUENTES DE INTERNET

7%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	noithatductinh.vn	Fuente de Internet	1%
2	www.scielo.org.co	Fuente de Internet	1%
3	repositorio.unal.edu.co	Fuente de Internet	1%
4	repositorio.ucsm.edu.pe	Fuente de Internet	1%
5	tesis.ucsm.edu.pe	Fuente de Internet	1%
6	core.ac.uk	Fuente de Internet	<1%
7	www.tuberculosis.minsa.gob.pe	Fuente de Internet	<1%
8	gresis.osc.int	Fuente de Internet	<1%

Dedicatoria

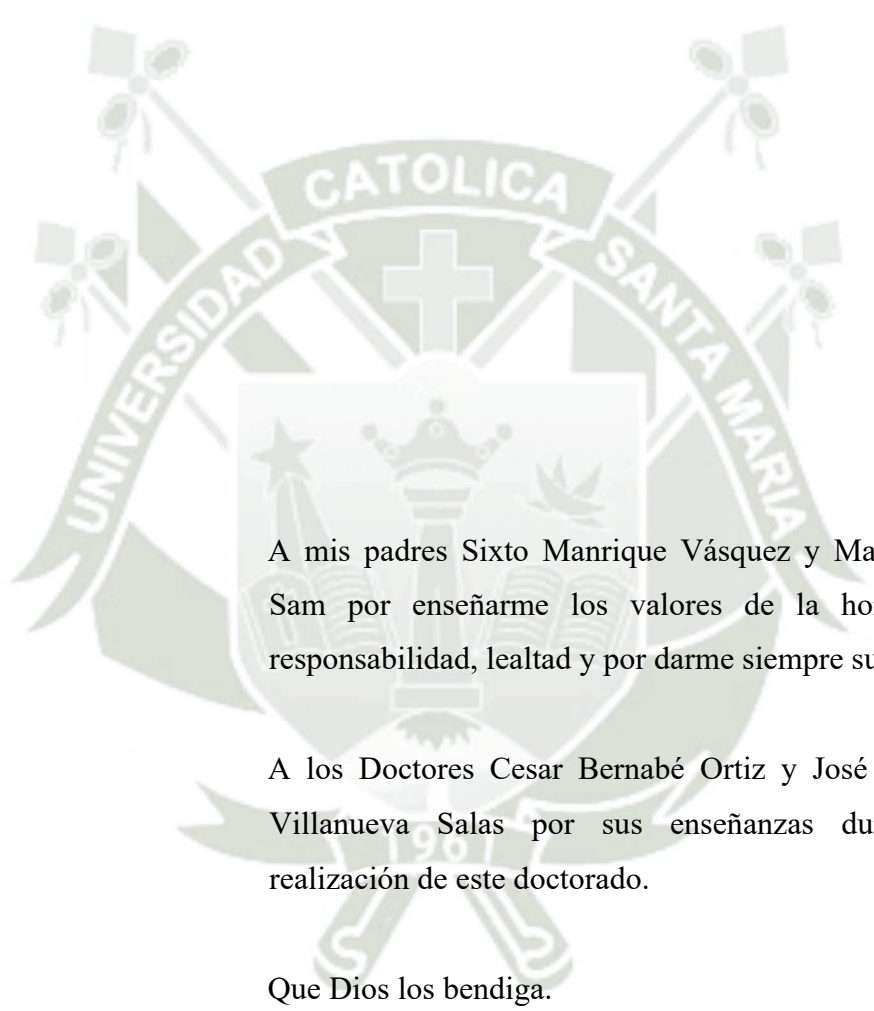


A mis seres queridos que ya no están conmigo
Manuela, Fortunata, Olga, Gilberto y Cecilia quienes
siempre están presentes en mi corazón.

A mis hijos Alejandra, Alfredo y Diego por estar
siempre conmigo y brindarme su apoyo.

Que Dios los bendiga.

AGRADECIMIENTOS



A mis padres Sixto Manrique Vásquez y María Rosa Sam por enseñarme los valores de la honestidad, responsabilidad, lealtad y por darme siempre su apoyo.

A los Doctores Cesar Bernabé Ortiz y José Antonio Villanueva Salas por sus enseñanzas durante la realización de este doctorado.

Que Dios los bendiga.

AGRADECIMIENTOS



Agradecer al financiamiento del Proyecto Concytec – Banco Mundial y a la Unidad Ejecutora Prociencia por darme la oportunidad de realizar el Doctorado en Ciencias de la Salud.

RESUMEN

La tuberculosis es una de las primeras causas de muerte en el mundo causada por el *Mycobacterium tuberculosis*, esta bacteria afecta principalmente a los pulmones y a pesar de ser una enfermedad curable y prevenible, aún no puede ser controlada por las diferentes economías en el mundo. Según la Organización Mundial de la Salud en el año 2023 a causa de esta enfermedad fallecieron 1,25 millones de personas en todo el planeta. En los últimos años la incidencia de tuberculosis ha disminuido, sin embargo, la tuberculosis drogo resistente, ha ido en aumento lo que representa una amenaza a la salud pública a nivel mundial. Caracterizar molecularmente a esta micobacteria nos ayudará a tener una base de datos propia de nuestra región, datos que podrán ser utilizados para apoyar a programas de control de la tuberculosis mediante la vigilancia epidemiológica molecular.

La técnica MIRU-VNTR (Unidades Repetitivas Intercaladas Micobacterianas-Número Variable de Repeticiones en Tándem) es una técnica molecular de genotipado que permite tipificar a esta micobacteria, esta técnica se basa en la identificación del número de repeticiones de regiones polimórficas MIRU-VNTR. Se analizaron 54 aislados procedentes de pacientes de la región Arequipa con diagnóstico de tuberculosis, se utilizó la técnica del fenol-cloroformo para la extracción de DNA, se usó la secuencia de inserción IS6110 para verificar que el DNA extraído correspondía al *Mycobacterium tuberculosis*, posteriormente se amplificaron los 24 MIRU-VNTR, se usaron primers específicos, los productos de las amplificaciones se sometieron a electroforesis en un gel de agarosa al 2.5%, a 90V. Se elaboró una tabla de datos con los resultados los que fueron analizados en la base de datos MIRU-VNTR^{plus} 24 y 12 Loci. La base de datos 24 loci asignó un linaje filogenético a 14 aislados que corresponden al 25.93 % de las muestras y el 74.07% de las muestras restante que corresponde a 40 aislados no se les asignó ningún linaje. Al 20.37% de los aislados se les asignó el linaje Haarlem, al 3,31% se les asignó *Múltiple Matches* y al 1.85% se le asignó el linaje UgandaI, los MIRU-VNTR que presentaron mayor diversidad alélica fueron: MIRU20, QUB26, QUB11b y QUB 4156. El MIRU-VNTR que presentó un mayor número de alelos fue el MIRU QUB26. Los aislados drogo resistentes no formaron clúster ni tampoco se les asignó un linaje conocido a una distancia genética 0.17.

Palabras Clave: Tuberculosis, MIRU-VNTR

ABSTRACT

Tuberculosis is one of the leading causes of death in the world caused by *Mycobacterium tuberculosis*, this bacterium mainly affects the lungs and despite being a curable and preventable disease, it still cannot be controlled by the different economies in the world. According to the World Health Organization, in 2023, 1.25 million people died worldwide from this disease. In recent years, the incidence of tuberculosis has decreased, however, drug-resistant tuberculosis has been increasing, which represents a threat to public health worldwide. Molecular characterization of this mycobacterium will help us to have a database of our region, data that can be used to support tuberculosis control programs through molecular epidemiological surveillance.

The MIRU-VNTR technique (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units-Variable Number of Tandem Repeats) is a molecular genotyping technique that allows typing MT. This technique is based on the identification of the number of repeats of MIRU-VNTR polymorphic regions. Fifty-four isolates from patients in the Arequipa region with a diagnosis of tuberculosis were analyzed, the phenol-chloroform technique was used for DNA extraction, the insertion sequence IS6110 was used to verify that the extracted DNA corresponded to *Mycobacterium tuberculosis*, later the 24 MIRU-VNTR were amplified, specific primers were used, the products of the amplifications were subjected to electrophoresis in a 2.5% agarose gel, at 90V. A data table was prepared with the results, which were analyzed in the MIRU-VNTRplus 24 and 12 Loci database. The 24 loci database assigned a phylogenetic lineage to 14 isolates that correspond to 25.93% of the samples and the remaining 74.07% of the samples that correspond to 40 isolates were not assigned any lineage. 20.37% of the isolates were assigned the Haarlem lineage, 3.31% were assigned *Multiple Matches* and 1.85% were assigned the UgandaI lineage. The MIRU-VNTRs that presented the greatest allelic diversity were: MIRU20, QUB26, QUB11b and QUB 4156. The MIRU-VNTR that presented the highest number of alleles was MIRU QUB26. The multiresistant isolates did not form a cluster nor were they assigned a known lineage (genetic distance 0.17).

Key Words: Tuberculosis, *MIRU-VNTR*

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS	3
HIPÓTESIS	3
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	
1.1 Tuberculosis.....	4
1.2 Diagnóstico de Tuberculosis.....	5
1.3 Diagnóstico Molecular de la Tuberculosis.....	6
1.4 Genoma del <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	8
1.5 Marcadores Moleculares para estudio del <i>Mycobacterium Tuberculosis</i>	8
1.6 Tuberculosis Drogo resistente	10
1.7 Antecedentes Investigativos	11
CAPÍTULO II: METODOLOGÍA	
2.1 Población de Estudio.....	13
2.2 Técnicas de Laboratorio.....	14
2.3 Análisis de Datos.....	17
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
3.1 Secuencia de Inserción IS6110.....	22
3.2 Tipificación 24 MIRU-VTNR.....	23
3.3 Linajes de aislados de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	26
3.4 Tipificación 12 MIRU-VTNR.....	28
3.5 Diversidad Alélica <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	31

3.6 Aislados Multidrogo resistentes *Mycobacterium tuberculosis*..... 32

CONCLUSIONES 38

RECOMENDACIONES 39

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 40

ANEXOS



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Concentraciones de DNA por muestras	15
Tabla 2.	Temperatura de hibridación de los <i>primer</i>	17
Tabla 3.	Pesos de referencia y unidades de repetición MIRU-VTNR	18
Tabla 4.	Técnica 24 MIRU-VTNR/12 MIRU-VTNR	19
Tabla 5.	Perfiles MIRU-VTNR 24 loci	25
Tabla 6.	Identificación del linaje set 24 MIRU-VTNR <i>plus</i>	27
Tabla 7.	Linajes presentes en la población de estudio 24 Loci MIRU-VTNR	28
Tabla 8.	Identificación del linaje set 12 MIRU-VTNR <i>plus</i>	29
Tabla 9.	Linajes presentes en la población de estudio 12 Loci MIRU-VTNR	30
Tabla 10.	Diversidad alélica MIRU-VTNR	31
Tabla 11.	24 MIRU-VTNR en aislados drogo resistente	33
Tabla 12.	Linajes de aislados drogo resistentes a 0.6 de distancia genética	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Identificación de la secuencia I S6110.....	23
Figura 2. VTNR 48	24
Figura 3. MIRU-VTNR ETRA (2165)	33



LISTA DE ABREVIATURAS

A	Base nitrogenada Adenina
G	Base nitrogenada Guanina
C	Base nitrogenada Citosina
T	Base nitrogenada Timina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
Alelo	Diferentes formas de presentación de un Gen o secuencia de DNA
Electroforesis	Separación de moléculas de DNA por medio de una gradiente
Pb	Pares de bases
Primer	Secuencia de DNA usada para amplificar un fragmento de DNA
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa.
TB	Tuberculosis
MDR-TB	Tuberculosis multi resistente.
XDR-TB	Tuberculosis ampliamente resistente.
TAE	Buffer Tris-acetato-EDTA
Vórtex	Agitador o mezclador
RNAsa	Ribonucleasa
MIRU	Unidades Repetitivas Intercaladas Micobacterianas
VTNR	Número Variable de Repeticiones en Tándem

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es un problema de salud pública a nivel mundial a pesar de ser una enfermedad que se puede prevenir y curar es una de las principales causas de mortalidad, ocupa el segundo lugar después de la COVID 19 como causa de muerte producida por agente infeccioso en todo el mundo (1).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el reporte publicado en su página web el 29 de octubre 2024 (*Global Tuberculosis Report*) refiere que en el año 2023 fallecieron 1,25 millones de personas a causa de esta enfermedad y 10,8 millones de personas contrajeron tuberculosis en todo el mundo (2). En la América Latina los casos de tuberculosis han aumentado en comparación con los niveles prepandemia (3).

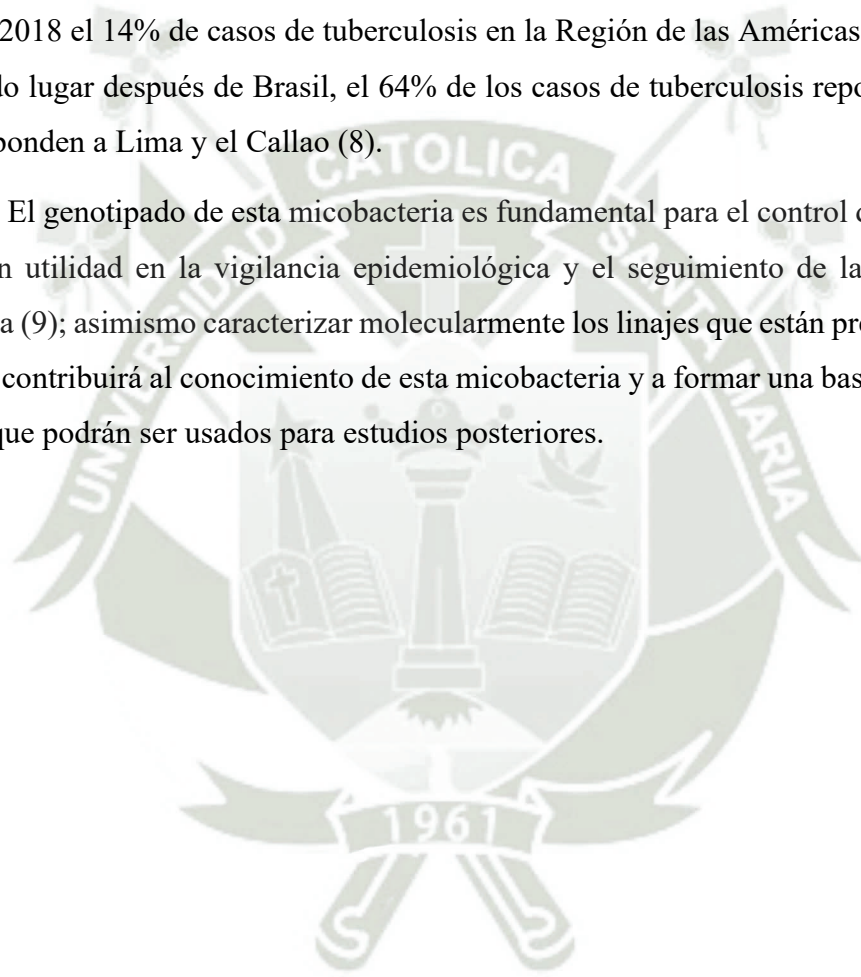
La mayor incidencia de tuberculosis resistente a antibióticos se observa en países que aún experimentan una epidemia de VIH por lo que esta enfermedad toma mayor relevancia, las herramientas moleculares han sido de gran ayuda para el estudio de los mecanismos moleculares de las cepas drogo resistentes (4)(5).

La tuberculosis es una enfermedad sistémica, infecciosa y crónica causada por el *Mycobacterium tuberculosis*, bacilo ácido alcohol resistente que afecta principalmente a los pulmones, pero puede afectar sistemas como el digestivo, linfático, renal y colonizar cualquier órgano de nuestro organismo (6).

Se calcula que la cuarta parte de la población en el mundo está infectada por esta bacteria, a partir del año 2015 la incidencia de tuberculosis fue disminuyendo aproximadamente en un 2% en forma anual, a pesar de esta disminución la tuberculosis sigue generando grandes costos en salud en todos los países. Sin embargo, los casos de drogo resistencia han ido en aumento por lo que la tuberculosis sigue representando una crisis de salud pública y una amenaza para la seguridad sanitaria (7).

Según datos de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) el Perú reportó en el año 2018 el 14% de casos de tuberculosis en la Región de las Américas, ubicándola en el segundo lugar después de Brasil, el 64% de los casos de tuberculosis reportados en el Perú corresponden a Lima y el Callao (8).

El genotipado de esta micobacteria es fundamental para el control de la tuberculosis, de gran utilidad en la vigilancia epidemiológica y el seguimiento de la transmisión esta bacteria (9); asimismo caracterizar molecularmente los linajes que están presentes en nuestra región contribuirá al conocimiento de esta micobacteria y a formar una base de datos propia, datos que podrán ser usados para estudios posteriores.



OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar los linajes de *Mycobacterium tuberculosis* identificados mediante la técnica MIRU-VTNR en cepas cultivadas en la región Arequipa.

Objetivos Específicos

1. Identificar los MIRU-VTNR presentes en cepas cultivadas de *Myobacterium tuberculosis* en la Región Arequipa.
2. Determinar la diversidad alélica de los MIRU-VTNR presentes en cepas cultivadas de *Myobacterium tuberculosis* en la Región Arequipa.

HIPOTESIS

"La técnica MIRU-VNTR permitirá identificar los linajes genéticos predominantes de *Mycobacterium tuberculosis* en las cepas circulantes en la región de Arequipa, proporcionando información precisa sobre la diversidad y distribución de los diferentes linajes presentes en la región."



CAPÍTULO I MARCO TEÓRICO

1.1 Tuberculosis

La tuberculosis es un problema de salud pública en el mundo, la Organización Mundial de la Salud estima que cada año se producen más de 9 millones de casos y mueren 1,5 millones de personas a causa de esta enfermedad (10)(11).

Desde inicios del nuevo milenio la tuberculosis es considerada como una de las enfermedades infecciosas humanas más importantes en el mundo por sus altas tasas de morbimortalidad (12); es una enfermedad que persiste a pesar de los intensos esfuerzos mundiales para su control y erradicación, los primeros reportes de su existencia se remontan al antiguo Egipto (13).

La tuberculosis es una enfermedad sistémica, infecciosa y crónica causada por el *Mycobacterium tuberculosis*, esta micobacteria es un bacilo ácido alcohol resistente que afecta principalmente al sistema respiratorio, estas micobacterias son bacilos inmóviles, aerobios y no formadores de esporas (14). Pueden afectar otros sistemas como el sistema

digestivo, linfático, renal, etc. (15)(6). La tuberculosis es una enfermedad reemergente en países desarrollados y la aparición de la tuberculosis multi resistente (MDR-TB) y la tuberculosis extremadamente resistente (XDR-TB) a los medicamentos son enfermedades aún no controladas en el mundo industrializado (16).

El Perú es uno de los países que presenta un mayor número de casos de tuberculosis en América Latina, se notifican anualmente alrededor de 27,000 casos nuevos de tuberculosis. Las cepas resistentes en los últimos años han ido en aumento complicando las actividades de control y prevención, en los últimos dos años se reportaron en el Perú 1500 pacientes con tuberculosis multi drogo resistente (MDR) por año y casi 100 casos de tuberculosis extremadamente resistentes (XDR) (17).

La tuberculosis en nuestro país es una patología de notificación obligatoria aprobada por Resolución Ministerial N.948-2012/MINSA, el Compendio Normativo sobre la Prevención y Control de la Tuberculosis en el Perú Publicado en el 2019 por el Ministerio de Salud refiere que la tuberculosis es un problema de Salud Pública el que tiene un alto componente social, económico y político por lo que es una prioridad promover esfuerzos para disminuir la incidencia de tuberculosis, orientando sus intervenciones en disminuir en forma progresiva y sostenida los casos de tuberculosis sensible y los de drogo resistencia (18) (19).

Asimismo, el estado peruano promueve la investigación médico-científica y social en temas relacionados a esta enfermedad, sin embargo, los recursos destinados a la investigación en tuberculosis no son suficientes. En el año 2016 se crea La Red Nacional de Investigación de Tuberculosis (RENAI TB) con el objetivo fomentar la investigación en temas de tuberculosis que permitan generar nuevos conocimientos para combatir a esta micobacteria.

1.2 Diagnóstico de tuberculosis.

Mycobacterium tuberculosis es una bacteria de crecimiento lento, esta característica hace que el diagnóstico de esta enfermedad no sea oportuno en algunos casos sobre todo en casos de pacientes con sospecha de tuberculosis extrapulmonar aumentando la propagación de esta enfermedad (20).

Es necesario un diagnóstico temprano y oportuno para el tratamiento eficaz de cualquier enfermedad, para el caso de enfermedades infecciosas un tratamiento oportuno y medidas de cuarentena ayudan a interrumpir las vías de transmisión de las enfermedades infectocontagiosas (21).

La baciloscopia y el cultivo son las pruebas laboratoriales usadas para confirmar el diagnóstico de esta enfermedad, la baciloscopia es un método clásico laboratorial este análisis microscópico de frotis del esputo teñido con la técnica de Ziehl-Neelsen tiene una sensibilidad entre el 50 y 60% en los casos de tuberculosis pulmonar (22).

El método de cultivo para la identificación del *Mycobacterium tuberculosis* es actualmente el estándar de oro para el diagnóstico de esta enfermedad, el resultado de los cultivos demora entre 30 a 45 días o más (23).

Por lo que se hace necesario buscar otros métodos de diagnóstico que nos ayuden a identificar en forma oportuna a esta micobacteria, actualmente se han desarrollado pruebas basadas en métodos de diagnóstico molecular los que han dado buenos resultados sobre todo en casos de tuberculosis extrapulmonar (24).

1.3 Diagnóstico Molecular de la Tuberculosis.

Las técnicas de diagnóstico molecular para la identificación del *Mycobacterium tuberculosis* han demostrado ser de gran utilidad sobre todo en casos donde los métodos convencionales como la baciloscopia y el cultivo son negativos.

Actualmente se vienen utilizando técnicas moleculares para identificar al bacilo de Koch sobre todo en muestras de tuberculosis extrapulmonar donde la baciloscopia y el cultivo no son de utilidad, la técnica de Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) tiene una alta sensibilidad en condiciones adecuadas podría detectar entre 1 a 10 bacilos y su aplicación es posible en todo tipo de muestra biológica (25).

Los nuevos conocimientos sobre el uso de técnicas diagnósticas a nivel molecular facilitan la introducción de nuevos métodos de diagnóstico para esta enfermedad, se puede determinar molecularmente en horas si un paciente tiene Tuberculosis (26).

Los métodos de genotipado del *Mycobacterium tuberculosis* nos facilitan conocer muchos aspectos relacionados a la tuberculosis, inicialmente se consideraba que esta micobacteria era de naturaleza genéticamente mono morfa, pero el desarrollo de

métodos de genotipado que discriminan las cepas en linajes distintivos han demostrado una diversidad no reconocida previamente (27). Inicialmente se usó para la tipificación molecular el fragmento de restricción IS6110 el que fue considerado como el estándar de oro para tipificar al *Mycobacterium tuberculosis* (28)(29), pero actualmente existen otras técnicas con mayor poder de discriminación.

La epidemiología molecular aplicada a la tuberculosis comprende una gran variedad de técnicas las que tienen como objetivo la comparación de los ácidos nucleicos de dos o más cepas. Los métodos de tipificación molecular están basados en el estudio de polimorfismos de secuencias genómicas repetitivas del *Mycobacterium tuberculosis* (30).

Los estudios epidemiológicos se realizan con el objetivo de determinar la naturaleza de las cepas, su origen más probable, caracterizar una epidemia, determinar mutaciones y relacionarlas con la patogenicidad y/o resistencia a los fármacos (31)(32). La aplicación de estas técnicas moleculares nos puede ayudar a identificar reinfección, coinfección y microevolución (20).

Estudios epidemiológicos basados en estas técnicas han determinado que el linaje de *Mycobacterium tuberculosis* Beijing constituye el linaje más predominante en el este Asia, la historia evolutiva y la genética de Beijing se ha estudiado detalladamente durante años y revela el origen probable en China, seguida de una expansión mundial, vinculada parcialmente a una mayor tasa de mutación, resistencia a los medicamentos y asociación con casos de infecciones mixtas (33).

Estos estudios epidemiológicos también son útiles para la supervisión y monitoreo de los programas de control de la tuberculosis (34).

Los primeros estudios epidemiológicos moleculares que utilizaron DNA para diferenciar las cepas micobacterianas mostraron cepas únicas en los cultivos analizados lo que sugirió que las infecciones eran causadas por una sola cepa. Sin embargo, estudios recientes que utilizan nuevas herramientas epidemiológicas moleculares basadas en PCR las que amplifican múltiples secuencias han demostrado una infección simultánea con más de una cepa del *Mycobacterium tuberculosis* (35)(36).

1.4 Genoma del *Mycobacterium Tuberculosis*

En 1998 se publicó por primera vez el genoma completo de *Mycobacterium tuberculosis* (cepa H37Rv), compuesta por 4411529 pb. La relación citocina/guanina se mantiene constante en todo el genoma en un 65.5%, se estima que está compuesto aproximadamente por 4000 genes los que en su mayoría codifican la expresión de enzimas, que están relacionadas a la lipogénesis y lipólisis, esta característica de sintetizar un gran porcentaje de moléculas lipofílicas del *Mycobacterium tuberculosis* la tienen pocas bacterias. Otra característica importante de este genoma que lo diferencia del resto de bacterias es que posee dos familias nuevas de proteínas compuestas mayormente por glicina esta peculiaridad le proporciona una gran variabilidad genética debido a la estructura repetitiva, este genoma es rico en secuencias repetitivas principalmente en secuencias de inserción IS6110 (26).

Las especies de *Mycobacterium tuberculosis* son heterogéneas y se dividen en grupos llamados linajes o genotipos los que se caracterizan por variaciones específicas que se acumulan gradualmente durante el curso de su evolución (37).

Las técnicas moleculares más usadas para el estudio del genoma del *Mycobacterium tuberculosis* son las técnicas MIRU-VTNR y *Spoligotyping*, estas analizan las variaciones existentes en regiones hipervariables (38).

Sin embargo, a medida que la secuenciación del genoma completo (WGS) es cada vez más accesible se espera que los estudios que utilizan esta técnica proporcionen una evaluación más precisa la que ofrecería una mayor especificidad (39).

1.5 Marcadores Moleculares para estudios del *Mycobacterium Tuberculosis*

1.5.1 Métodos de tipificación molecular:

Los métodos de tipificación molecular usados para genotipar al *Mycobacterium tuberculosis* incluyen la secuencia de inserción IS1610, Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), *Spoligotyping* y la técnica MIRU-VTNR estos métodos han contribuido a la comprensión de la transmisión de la tuberculosis cambiando las políticas regionales para su manejo y prevención. El uso de la tipificación molecular de cepas de la tuberculosis como herramienta de salud pública en los programas de control de la tuberculosis está en aumento a nivel mundial (40).

1.5.1.1 Polimorfismo de un único nucleótido (*Single Nucleotide Polymorphism* o SNP) .

Los polimorfismos de un solo nucleótido son considerados como los marcadores moleculares más prometedores, ya que proporcionan una alta resolución y resultados inequívocos, algunos cambios en las secuencias de los nucleótidos pueden ser neutros o pueden modificar la secuencia de aminoácidos afectando la función de las proteínas (41).

En general, los polimorfismos de un solo nucleótido representan diferencias de un solo nucleótido entre al menos dos secuencias de DNA, el término SNP a menudo se usa indistintamente cuando hablamos de mutación, polimorfismo o sustitución. Estrictamente hablando, el cambio en un solo par de bases nitrogenadas se conoce como una mutación puntual y se produce por errores durante la replicación del DNA (42).

1.5.1.2 Tipificación mediante oligonucleótidos complementarios de secuencias espaciadoras (*Spoligotyping*)

Spoligotyping se basa en el estudio de los polimorfismos del DNA del *Mycobacterium tuberculosis*, es un método rápido para el genotipado que utiliza el principio de hibridación inversa (43)(44).

En esta técnica se amplifican las distintas secuencias espaciadoras que existen en el DNA de esta micobacteria, existen 94 secuencias espaciadoras pero, la mayoría de estudios basados en esta técnica usan 43 secuencias espaciadoras (45)(46).

Esta técnica presenta un poder de discriminación menor que el estudio de los patrones de restricción IS6110 o el estudio de unidades repetidas intercaladas en tándem de número variable MIRU-VNTR (47).

1.5.1.3 Unidades Repetidas *Mycobacterium tuberculosis*: MIRU-VNTR

Esta técnica molecular de genotipificación de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* se basa en la amplificación de secuencias MIRU-VNTR, secuencias de

número variable de repeticiones en tándem (VNTR) y de secuencias de DNA denominadas unidades repetitivas intercaladas de micobacteria (MIRU), estas unidades de repeticiones varían en su longitud entre 52 a 77 nucleótidos y es una de las técnicas más usadas para tipificar a este bacilo ácido resistente. Esta técnica se ha utilizado como método estándar internacional para el genotipado de *Mycobacterium tuberculosis*.(48)

Estas secuencias se distribuyen en todo el genoma del *Mycobacterium tuberculosis*, existen 41 MIRU-VNTR, inicialmente para la tipificación por MIRU-VNTR se amplificaban 12 loci, actualmente se amplifican 24 loci MIRU-VNTR los que han sido estandarizados y en conjunto han demostrado un mayor poder de discriminación que la técnica de 12 loci y 15 loci. La tipificación basada en la técnica MIRU-VNTR es rápida y sencilla sus resultados son reproducibles y discriminativos, el resultado se expresa en un código de 24 dígitos, este código permite su comparación a nivel mundial (<http://www.miruvntrplus.org>). Esta base reúne información de 153 países aproximadamente, la información obtenida nos permite comparar y discriminar a nivel de cepa; y a detectar cadenas de transmisión (49).

El uso de la técnica MIRU-VNTR puede ser aplicada para determinar los diferentes genotipos que circulan en una determinada región, así como, determinar cuál o que genotipo predomina en esta. Se puede relacionar el número de repeticiones con determinadas enfermedades concomitantes a la tuberculosis como el VIH como se demostró en la investigación realizada por Sing J. en Nueva Deli donde encontró que el genotipo Beijing era significativamente más frecuente en pacientes con tuberculosis VIH positivos (50).

1.6 Linajes *Mycobacterium tuberculosis*

El acceso universal a un tratamiento de calidad es fundamental para el control de la tuberculosis, la tuberculosis en los últimos 3 años, cobró más vidas humanas causadas por enfermedad infecciosas después de la COVID 19, esta alarmante epidemia viene impulsando el desarrollo de nuevos antimicrobianos, pero las intervenciones en salud orientadas a interrumpir la transmisión de esta enfermedad no han sido eficaces o han tardado en surgir (51).

Los antibióticos en los últimos 70 años han salvado innumerables vidas y han permitido el desarrollo de la medicina moderna. Sin embargo, el uso indebido de los fármacos en las últimas décadas ha generado bacterias resistentes a los antibióticos, creando la necesidad de buscar nuevos tratamientos para abordar las infecciones bacterianas resistentes a estos (52).

La aparición y propagación de la tuberculosis multi resistente (MDR-TB) y la tuberculosis extremadamente resistente a los medicamentos (XDR-TB) se convirtió en una amenaza real para la salud mundial sobre todo en regiones endémicas del VIH (53).

Se define como multi resistente cuando una cepa de tuberculosis es resistente a los dos medicamentos antituberculosos de primera línea como la Rifampicina y la Isoniazida, hablamos de tuberculosis extremadamente resistente cuando una cepa es resistente a una fluoroquinolona y a uno de los tres medicamentos inyectables de segunda línea (54).

El tratamiento de la tuberculosis multi resistente en el programa de manejo de la tuberculosis resistente a los medicamentos, implica un régimen estándar con una fase intensiva de 6 meses y una fase de continuación de 18 meses (55).

El aumento del número de casos de tuberculosis multi resistente, de tuberculosis extremadamente resistente y de tuberculosis totalmente resistente (recientemente reportados en algunos estudios) a los medicamentos genera preocupación sobre esta enfermedad. Estos casos tienen tasas de curación más bajas y niveles de mortalidad más altos (56).

La tuberculosis fármaco resistente, especialmente aquella con resistencia a la Rifampicina se ha convertido en uno de los principales obstáculos para alcanzar el control de la tuberculosis, lo que llevó en los últimos años al desarrollo de nuevos fármacos generando mayores gastos (57)(58).

1.7 Antecedentes Investigativos

Azar Dokht Khosravi Colb., diseñaron un estudio para investigar la diversidad genética entre las cepas MDR de MTB mediante el esquema de tipificación MIRU-VNTR. Un total de 88 aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a los

medicamentos pertenecientes a casos de TB pulmonar se recolectaron en varios centros de referencia de TB en Irán.

La prueba de sensibilidad a los fármacos para la Isoniazida y la Rifampicina se realizó mediante el método de proporción de agar y los aislados de MDR se sometieron a un genotipado utilizando la tipificación MIRU-VNTR basada en locus 12. En el método de proporción de rendimiento, se identificaron 22 aislamientos como MDR.

Al tipificar los aislamientos de MDR utilizando la técnica MIRU-VNTR de 12 loci, se demostró una alta diversidad en las cepas de MDR, que se clasificaron en 20 genotipos diferentes de MIRU-VNTR. Los loci 10 y 26 de MIRU fueron los loci más discriminatorios con 8 y 7 alelos respectivamente; mientras que se encontró que los loci 2, 20, 24 y 39 de MIRU son los menos discriminatorios con 1 y 2 alelos cada uno. En conclusión, la tipificación con la técnica MIRU-VNTR se presenta como una herramienta útil para estudiar la diversidad genética del MDR-MTB en entornos regionales, y ayuda a los sectores de salud a construir un programa preventivo para la TB-MDR. Además, puede detectar una infección mixta que puede facilitar el manejo del tratamiento (75).



CAPÍTULO II METODOLOGÍA

2.1 Población de estudio.

Las muestras fueron obtenidas del laboratorio de referencia de la Gerencia Regional de Salud Arequipa, del laboratorio Referencial del MINSA y de Essalud, se recolectaron 54 muestras las que fueron inactivadas antes de ser llevadas al laboratorio de Investigación de la Universidad Católica Santa María.

Método de Recolección: La recolección de las muestras se hizo en una cabina de bioseguridad tipo III, con un asa de Henle previamente flameada se tomó la muestra, escogiendo una colonia que estuviera totalmente aislada, luego se trasladó la colonia en el tubo Eppendorf (microtubo) que contenía fenol al 5%, se tapó inmediatamente el tubo Eppendorf y se lo colocó en un rack para Eppendorf con tapa.

Método de Transporte: El rack con las muestras se colocó en una caja de tecnopor y finalmente a un cooler para su transporte, la temperatura de transporte fue entre 4 a 12 grados centígrados, las muestras se transportaron al laboratorio de investigación de la Universidad Católica de Santa María para su proceso.

Muestreo: Se seleccionaron al azar los códigos que estaban en los registros de los laboratorios de referencia, se tomaron en cuenta las muestras de pacientes con baciloscopia positiva, posteriormente a ello se dieron estos códigos al encargado del laboratorio de referencia junto con los tubos Eppendorf que contenían fenol al 5%.

2.2 Técnicas de Laboratorio

2.2.1 Inactivación de cepa de *Mycobacterium Tuberculosis*

Las cepas fueron inactivadas previamente con fenol al 5%, se colocó con un asa de Henle una colonia de *Mycobacterium tuberculosis* del medio de cultivo, en un tubo Eppendorf con 500uL de fenol al 5%.

2.2.2 Extracción de DNA

Para la extracción de DNA, se utilizó el método fenol-cloroformo-álcohol isoamílico, al tubo Eppendorf que contenía la muestra con 500uL de fenol al 5% se le añadió el equivalente a 100uL de micro perlas de 500um de diámetro (*Glass beads Scientific industries*) y se llevó al vórtex entre 15 a 20min a 3000rpm.

El sobrenadante se pasó a un nuevo tubo Eppendorf y se agregó 600ul de fenol-cloroformo-álcohol isoamílico en proporción de 25:24:1, se mezcló por inversión y se centrifugó por 10min a 13000rpm, obteniéndose 3 fases.

Se retiró la fase acuosa que contenía el DNA a un nuevo tubo Eppendorf y se le agregó 800uL de isopropanol frío, se mezcló por inversión y se llevó a centrifugar a 13000rpm por 10min, se decantó el sobrenadante y se agregó 500uL de etanol al 75% para lavar el pellet y se centrifugó nuevamente a 13000rpm por 5min, finalmente se eliminó el sobrenadante, se colocaron los tubos Eppendorf en un *termoblock* a 65°C para evaporar el etanol restante, se resuspendió el DNA en 100uL de agua libre de DNAsa y se congeló a -20°C hasta su posterior uso.

Se midió las concentraciones DNA de todas las muestras con un espectrofotómetro (NanoDrop) posteriormente se homogenizaron diluyéndose

con agua libre de DNAsa en los casos que eran necesarios. Las concentraciones finales obtenidas fueron entre 15 a 20ng/uL como se observa en la Tabla 1.

Tabla 1. Concentraciones de DNA por muestras

Muestra	Concentración DNA (ng/uL)	Muestra	Concentración DNA (ng/uL)	Muestra	Concentración DNA (ng/uL)
1	19	19	19	37	16
2	19	20	19	38	17
3	19	21	17	39	19
4	16	22	19	40	18
5	19	23	18	41	17
6	19	24	16	42	18
7	17	25	17	43	17
8	16	26	18	44	17
9	19	27	16	45	18
10	19	28	17	46	17
11	16	29	19	47	18
12	17	30	18	48	17
13	17	31	17	49	16
14	17	32	18	50	17
15	18	33	18	51	19
16	18	34	17	52	18
17	19	35	16	53	17
18	18	36	17	54	18

2.2.3 Confirmación Molecular de Cepas de *Mycobacterium Tuberculosis*

Para confirmar que el DNA extraído correspondía al *Mycobacterium tuberculosis* se amplificó la secuencia de inserción IS6110. Para la amplificación se colocó en un tubo Eppendorf de PCR:

- 1uL de DNA genómico (concentración entre 15-20ng/uL).
- 1uL de *Primer Forward* 0.1nM
- 1uL de *Primer Reverse* 0.1nM
- 15uL *Super Mix 2x*
- 12uL agua libre de DNAsa

Volumen final 30uL.

Los *primer* usados para la amplificación de la secuencia de inserción IS6110 fueron:

- *Forward*: 5'- CCT GCG AGC GTA GGC GTC GG-3'
- *Reverse*: 5'- CTC GTC CAG CGC CGC TTC GG-3'

Condiciones de la PCR:

- Desnaturalización inicial: 95°C por 5min.
- Número de ciclos: 30
 - Desnaturalización 94°C por 1min.
 - Alineación, 65°C por 1min.
 - Extensión 72°C por min.
- Extensión final 72°C por 10min.

Tamaño de la amplificación por PCR: 263pb

El producto de la PCR fue sometido a electroforesis, en un gel de agarosa al 1.5% teñido con *SYB-Safe*, tiempo de corrida 40min. a 100v. las bandas se visualizaron posteriormente en un trans-iluminador.

2.2.4 Amplificación de MIRU-VTNR

Para la amplificación de los MIRU-VNTR, se usaron *primers* específicos para cada MIRU-VTNR, se añadió al tubo de PCR:

- 1uL de DNA (concentración entre 15-20ng/ul)
- 1uL de *Primer Forward* 0.1nM
- 1uL de *Primer Reverse* 0.1nM
- 12.5uL *Super Mix 2x*
- 9.5uL agua libre de DNAsa

Condiciones para la PCR:

- Desnaturalización inicial 95°C por 5min.
- Número de ciclos: 30
 - Desnaturalización 94°C por 1min.
 - Alineación 59°C por 1min.
 - Extensión 72°C por 1min.
- Extensión final 72°C por 10min.

Las temperaturas de hibridación para cada uno de los 24 MIRU-VTNR se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Temperatura de hibridación de los primer

N.	MIRU-VTNR	TEMPERATURA HIBRIDACIÓN
1	MIRU 24, QUB 26	54°C
2	MIRU 20, MIRU 10	58 °C
3	MIRU 49, MIRU 2, MIRU 39, MIRU 23, MIRU 47	59 °C
4	MIRU 48, MIRU 16	61 °C
5	MIRU 46	63 °C
6	LOCUS 1955	52 °C
7	QUB 116	50 °C
8	MIRU 43, MIRU26,	55 °C
9	MIRU 42, MIRU 52, MIRU 27	60 °C
10	MIRU 53, MIRU 31, ETRA	53 °C
11	MIRU 4	62 °C
12	MIRU 40	56 °C

Los productos de la PCR se corrieron por electroforesis en un gel de agarosa al 2.5% teñidos con *SYB-Safe* el tiempo de corrida fue 120min a 90v y las bandas se visualizaron posteriormente en un transiluminador.

Finalmente se determinaron los pesos según los valores que se observan en la Tabla 3 y los datos se analizaron en el programa *MIRU-VTNRplus*.

2.3 Análisis de datos

Los perfiles obtenidos se subieron a las bases de dato *MIRU-VNTRplus* (<https://www.miru-vntrplus.org/MIRU/index.faces>), los perfiles se compararon con los sets de 24 locus y 12 locus, esta base de datos compara los perfiles ingresados con los perfiles de esta base de datos y por coincidencia asigna un linaje a cada perfil hace un *best match* de 5 loci, con un punto de corte de distancia (0,17) entre los aislamientos comparados.

Tabla 3. Pesos de referencia y unidades de repetición MIRU-VTNR

MIRU-VTNR	UNIDAD DE REPETICIÓN (UR)	PESO BASE + 1UR	PB + 1UR REPETICIÓN
MIRU 24 (1)	54	395 + 54	449
MIRU 20 (2)	77	437 + 77	514
VTNR 49 (3)	54	326 + 54	380
VTNR 48 (4)	57	347 + 57	404
VTNR 46 (5)	57	335 + 57	392
MIRU 02 (6)	53	402 + 53	455
MIRU 1955 (7)	57	92 + 57	149
MIRU 2163b (8)	69	77 + 69	106
MIRU 39 (9)	53	540 + 53	593
MIRU 23 (10)	53	150 + 53	203
VTNR 47 (11)	58	247 + 58	305
MIRU 10 (12)	53	482 + 53	535
ETRC (13)	58	171 + 58	229
MTUB04 (14)	51	537 + 51	588
QUB4156 (15)	59	563 + 59	622
MTUB39 (16)	58	272 + 58	330
MIRU 27 (17)	53	498 + 53	551
QUB26 (18)	111	187 + 111	298
MIRU 26 (19)	51	285 + 51	336
MIRU 04 (20)	77	175 + 77	252
MIRU 31 (21)	53	492 + 53	545
MIRU 16 (22)	53	565 + 53	618
ETR A (23)	75	195 + 75	270
MIIRU 40 (24)	54	354 + 54	408

MIRU-VTNR^{plus}, es una herramienta versátil para la identificación de cepas individuales basadas en grandes bases de datos de referencia, esta herramienta cuenta con una colección de cepas que representa los principales linajes de *Mycobacterium tuberculosis*.

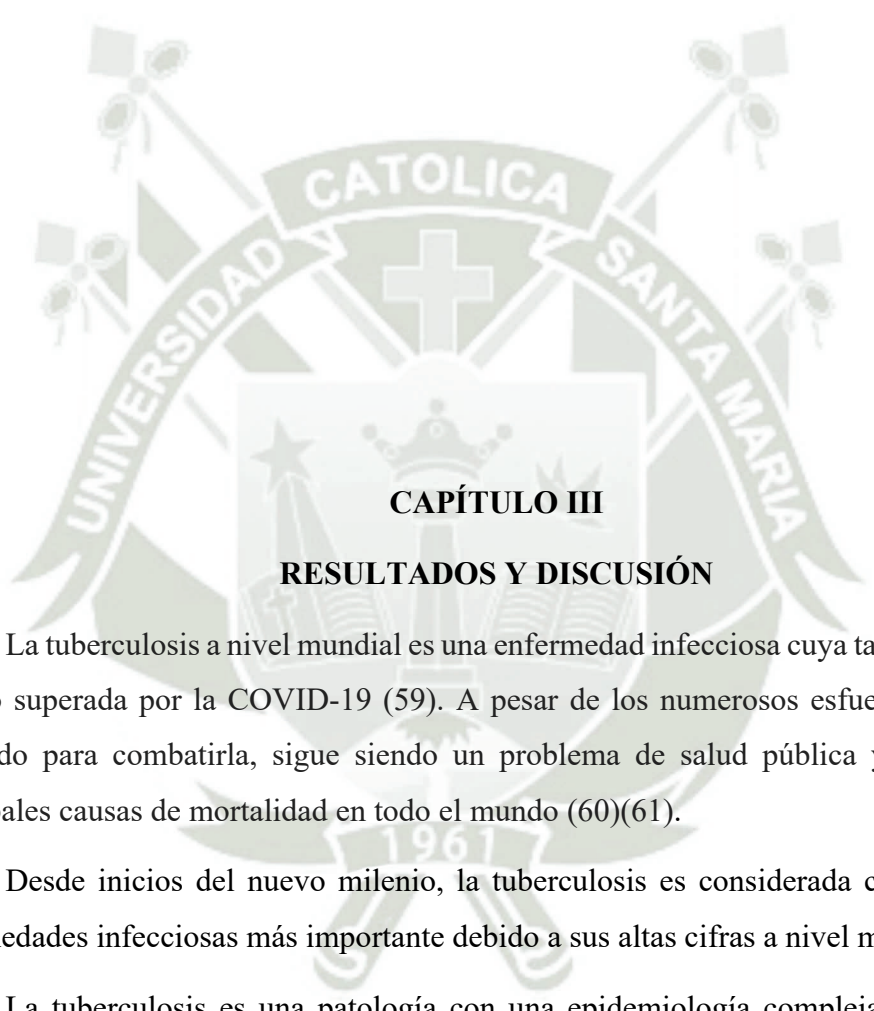
Tabla 4: Técnica 24 MIRU-VTNR/12MIRU-VTNR

MIRU-VTNR	24 MIRU-VTNR	12 MIRU-VTNR
MIRU 24	X	X
MIRU 20	X	X
VTNR 49	X	
VTNR 48	X	
VTNR 46	X	
MIRU 02	X	X
MIRU 1955	X	
MIRU 2163 b	X	
MIRU 39	X	X
MIRU 23	X	X
VTNR 47	X	
MIRU10	X	X
ETRC	X	
MTUB04	X	
QUB4156	X	
MTUB39	X	
MIRU 27	X	X
QUB26	X	
MIRU 26	X	X
MIRU 04	X	X
MIRU 31	X	X
MIRU 16	X	X
ETR A	X	
MIRU 40	X	X

A través de libre acceso con el que cuenta esta herramienta se puede comparar las cepas estudiadas con las cepas de referencia o analizar las cepas sin utilizar el contenido de la base de datos, esta herramienta mantiene en el servidor una nomenclatura universal, cuenta con varios coeficientes de distancias disponibles y los resultados se pueden exportar en varios formatos.

Las muestras estudiadas se pueden analizar con los sets 24 loci, 15 loci y 12 loci, en la Tabla 4 podemos observar los MIRU-VTNR usados en los set 24 y 12 loci que se analizaron en el presente estudio.





CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tuberculosis a nivel mundial es una enfermedad infecciosa cuya tasa de mortalidad es sólo superada por la COVID-19 (59). A pesar de los numerosos esfuerzos que se han realizado para combatirla, sigue siendo un problema de salud pública y es una de las principales causas de mortalidad en todo el mundo (60)(61).

Desde inicios del nuevo milenio, la tuberculosis es considerada como una de las enfermedades infecciosas más importante debido a sus altas cifras a nivel mundial (62)(59).

La tuberculosis es una patología con una epidemiología compleja, por lo que, la tipificación molecular o genotipado de las cepas de *Mycobacterium tuberculosis* es de primordial importancia para poder conocer la diversidad biológica y la evolución de este patógeno, para así, contribuir a la vigilancia epidemiológica mundial de esta enfermedad (63).

La aplicación de técnicas de tipificación molecular permite discriminar bacterias a nivel de cepa, lo que permite abrir las puertas a estudios de epidemiología molecular y aumentar nuestro conocimiento en la transmisión de patógenos en entornos cada vez más complejos (42).

La genotipificación de esta bacteria, nos permite identificar molecularmente los genotipos predominantes en una determinada región, algunos de estos genotipos se pueden diseminar con mayor o menor rapidez y otras cepas se pueden relacionar con resistencia a antibióticos (64).

Con el descubrimiento de los polimorfismos del DNA, la tipificación molecular de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* se ha convertido en una herramienta valiosa para el estudio epidemiológico de esta micobacteria (29).

El uso de la técnica MIRU-VTNR puede mejorar el rastreo de contactos, proporcionar información geográfica de los genotipos circulantes y, por lo tanto, ayuda en la investigación científica de la tuberculosis (65).

3.1 Secuencia de Inserción IS6110

La identificación molecular de organismos bacterianos es realizada en genes o en secuencias altamente conservados en las diferentes especies, pocos son los genes que se conservan entre las especies que pertenecen al mismo género (66)(64).

La secuencia de Inserción IS6110 se encuentra localizada en múltiples sitios del genoma del *Mycobacterium tuberculosis* esta secuencia muestra un alto grado de polimorfismo con respecto al número de copias y los sitios de inserción. Por lo tanto, se considera que el IS6110 es un marcador molecular útil para el diagnóstico y para la tipificación de cepas de esta micobacteria (67)(65).

Como ya se mencionó en la metodología con el objetivo de corroborar que todas las muestras corresponden al *Mycobacterium tuberculosis* se usó la secuencia de inserción IS6110, se identificó la secuencia de IS6110 en el 100% de las muestras analizadas, la Figura 1 nos muestra la amplificación de la secuencia de inserción IS6110.

En todas las muestras analizadas en nuestro estudio se identificó ésta secuencia, en cada gel de agarosa para validar la prueba se colocó un control positivo y un control negativo, para el control positivo se utilizó la cepa de referencia H37Rv.

La secuencia IS6110, se encuentra exclusivamente en los miembros de complejo del *Mycobacterium tuberculosis*, esta característica permite diferenciar a los miembros de este complejo de otras micobacterias (68)(69).

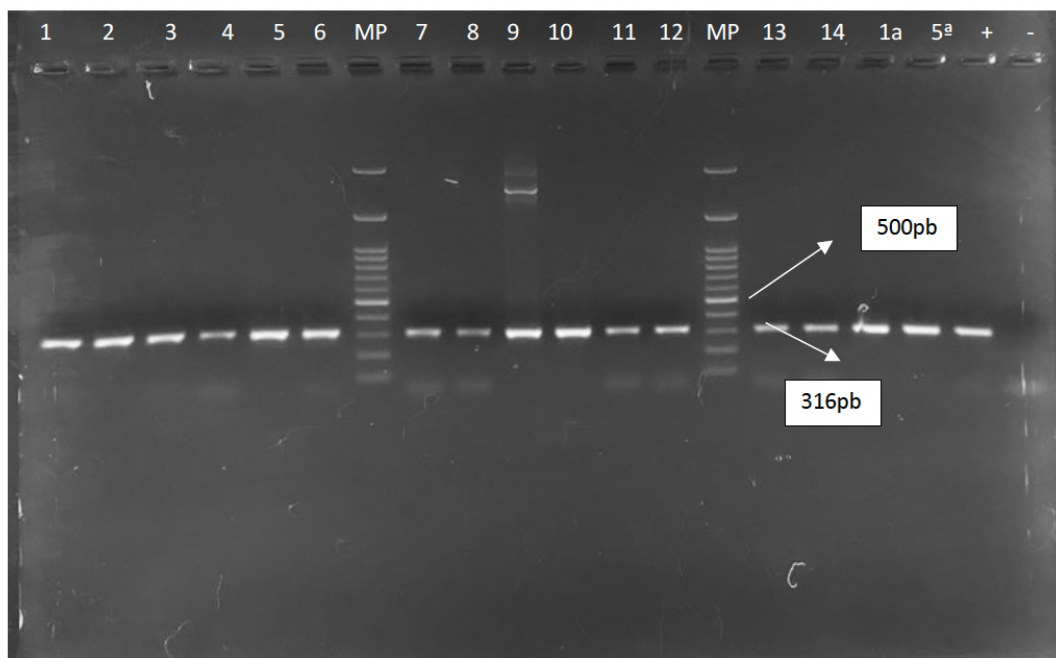


Figura 1. Identificación de la secuencia IS6110.

3.2 Tipificación 24 MIRU-VNTR

La tipificación molecular de los aislados de *Mycobacterium tuberculosis* es cada vez más aceptada como herramienta para facilitar el conocimiento epidemiológico molecular de la tuberculosis con el objeto de contribuir a su prevención y control.

Las herramientas moleculares no solo se centran en la caracterización genética de las bacterias, también son de gran utilidad en la determinación de cadenas de transmisión (70).

La técnica MIRU-VNTR, permite identificar linajes de *Mycobacterium tuberculosis* presentes en una región geográfica mediante la identificación de perfiles resultantes de la combinación de 24, 15 o 12 marcadores moleculares y aportan a su vez información de nuevos perfiles genéticos presentes que circulan en una determinada población humana.

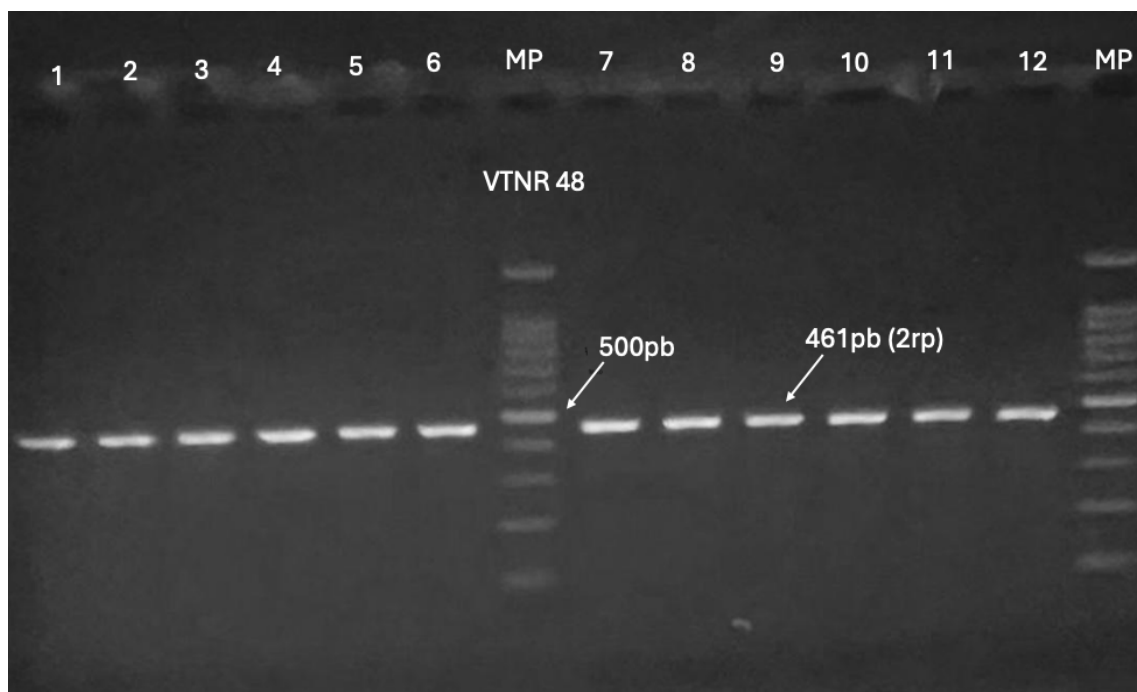


Figura 2. VTNR 48. 12 primeras muestras.

La figura 2 nos muestra los alelos presentes en 12 muestras de cepas aisladas de *Mycobacterium tuberculosis*, se observa al VTNR 48 cuyo peso molecular en pares de bases de las doce muestras corresponde a 2 repeticiones en tándem (461pb).

En el presente estudio se tipificaron molecularmente 54 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* mediante la técnica MIRU-VNTR descrita por Supply (71), solo en 17 aislados se amplificaron los 24 loci referidos en la técnica 24MIRU-VTNR, en los 37 aislados restantes amplificó en algunos casos dos bandas y en otros aislados no se amplificó ninguna banda en un loci determinado como se observa en la Tabla 5.

Tabla 5. Perfiles MIRU-VTNR 24 Loci

ID	154	424	577	580	802	960	1644	1955	2059	2163b	2165	2347	2401	2461	2531	2687	2996	3007	3171	3192	3690	4052	4156	4348
TB01	2	2	3	2	3	4	1	3	2	3	3	4	5	4	5	1	6	1	3	3	2	3	2	2
TB02	2	2	3	2	3	5	3	2	2	4	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	3	6	2	2
TB03	2	2	3	2	3	5	3	2	2	4	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	3	6	2	2
TB04	2	2	4	2	1	2	3	2	-	3	2	2	2	2	6	1	7	3	3	3	4	4	1	2
TB05	2	2	3	2	-	4	3	3	-	6	3	2	4	2	3	1	5	3	3	3	3	6	2	2
TB06	2	2	-	2	3	3	2	3	1,2	3	2	4	2	2	6	1	5	3	1	3	1	7	1	2
TB07	2	2	3	2	3	5	3	-	2	4	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	3	6	2	2
TB08	2	2	3	2	3	4	2	2	1,2	5	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	3	6	2	2
TB09	2	3	4	2	3	3	3	3	-	4	2	4	2	2	6	1	3	3	1	3	1	6	1	2
TB10	2	2	3	2	3	5	3	2	1,2	4	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	3	6	2	2
TB11	2	2	3	2	3	5	3	2	-	3	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	3	6	2	2
TB12	2	2	3	2	2,3	4	3	2	2	4	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	3	6	2	2
TB13	-	-	-	-	-	3,4	-	-	-	-	-	-	-	2	-	1	-	-	3	-	-	-	-	2
TB14	2	2	3	2	4	5	3	2	2	4	3	4	4	2	5	1	6	3	3	3	4	6	2	2
TB15	2	2	3	2	4	5	3	2	2	4	3	4	4	-	5	1	6	3	3	3	4	6	2	2
TB16	2	2	3	2	3	4	2	2	2	5	3	4	4	2	5	1	5	3	3	2	3	6	2	2
TB17	2	1	4	2	5	2	1	3	2	3	2	4	4	2	1	1	5	3	3	2	3	2	1	2
TB18	2	1	3,4	2	3	3	2	2	2	4	3	4	-	2	5	1	5	3	3	2	3	6	2	2
TB19	2	-	-	2	-	4	-	2	-	-	3	4	-	2	5	1	5	3	3	-	3	-	-	2
TB20	2	1	3	1,2	3	4	2	3	1	3	3	2	-	2	3	1	5	3	3	1	3	5	2	2
TB21	2	-	-	2	-	4	-	3	-	3,4	-	-	4	2	3,5	1	-	-	3	-	-	-	-	2
TB22	2	1	4	2	4	3	2	3	2	2	4	4	2	2	1	1	4	3	3	2	4	1	1	2
TB23	1	2	4	2	2	4	1	3	1	2	2	4	1	2	6	1	5	3	3	2	2	6	1	2
TB24	1	3	4	2	2	4	1	3	1	2	-	4	1	2	6	1	5	3	3	2	2	6	1	2
TB25	2	2	3	2	3	6	2	2	2	4	3	4	4	2	5	1	5	1	3	3	3	6	2	2
TB26	2	4	4	2	3	3	2	5	2	6	2	4	4	2	6	1	7	3	3	5	3	8	1	3
TB27	2	2	3	1	3	5	2	2	2	5	3	4	4	2	5	1	5	3	3	4	3	6	2	2
TB28	2	2	3	2	5	5	2	2	3	4	3	4	4	2	5	1	5	3	3	4	3	6	2	2
TB29	2	2	3	2	3	5	2	2	2	4	3	4	4	2	5	1	5	3	3	4	3	3	2	2
TB30	2	2	3	2	3	5	2	2	3	5	3	4	4	2	5	1	5	3	3	4	4	6	2	2
TB31	2	1	3	2	3	6	3	2	2	3	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	3	6	2	2
TB32	2	1	3	2	3	5	3	2	-	5	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	3	5	2	2
TB33	2	1	3	2	3	5	3	2	-	5	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	3	5	2	2
TB34	2	1	3	2	3	5	3	2	1	5	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	3	7	2	2
TB35	2	1	3	2	3	5	3	2	1,2	5	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	3	7	2	-
TB36	2	1	4	2	4	3	3	2	2	3	3	4	2	2	5	1	5	3	3	3	3	5	1	2
TB37	1	3	-	2	2	4	3	5	-	2	2	4	-	2	6	1	5	3	3	3	2	5	1	2
TB38	2	1	3	2	3	5	3	2	1,2	5	3	4	4	2	-	1	5	3	3	3	3	7,8	2	2
TB39	2	1	4	2	4	3	3	2	-	3	3	4	2	2	5	1	5	3	3	3	3	5	1	2
TB40	1,2	1	4	1,2	-	4	3	2,3	-	4	-	4	1,4	2	6	1	5	3	3	-	-	5	1	2
TB41	-	1	4	-	-	3,5	-	-	-	-	-	-	4	2	-	1	5	-	3	-	-	-	-	2
TB42	1	-	3	1	3	5	2	1,3	2	2	2	4	1	2	6	1	1	3	2	1	2	2,3	-	1
TB43	1	1	2	1	2	5	2	1	1	4	3	4	4	2	5	1	1	1	1	2	3	2,4	-	1
TB44	1	-	3	1	2	-	2	2	-	2	2	4	1	2	6	1	4	3	3	-	2	-	-	1
TB45	1	3	2	1	2	5	2	3	1	2	2	4	4	2	6	1	2	2	2	1	2	2,3	-	1
TB46	1	2	2	1	3,6	-	2	1	1	3	4	4	1	2	5	1	3	2	1	3	3	2,5	-	1
TB47	1	2	1	1,2	2	4	2	1	2	4	1,3	4	5	2	5	1	1	3	2	3	3	7	-	1
TB48	-	2	2	1,2	1	5	2	2	2	6	1,3	4	-	2	-	2	-	3	-	3	2	7	-	-
TB49	-	2	1	1,2	2	6	2	1	-	4	1,3	4	-	2	-	1	1	3	-	3	3	7	2	-
TB50	1	2	1	1,2	3	7	2	1	2	4	1,3	4	4	2	5	1	1	3	2	3	3	7	-	1
TB51	1	3	1	1,2	4	4	2	2	1	4	1,3	4	2	2	5	1	1	3	-	3	-	8	-	0
TB52	1	2	1	1,2	3	5	2	1	-	5	1,3	4	-	2	-	1	2	3	2	3	3	6	-	1
TB53	1	3	1	1,2	4	4	2	2	1	4	1,3	4	3	2	5	1	2	3	3	3	3	8	-	1
TB54	1	3	3	1	3	5	2	3	-	1	2	4	1	2	-	1	3	3	3	1,2	2	5,3	-	-
N.Ale	2	4	4	2	6	6	3	4	3	6	4	2	5	2	4	2	7	3	3	5	4	8	2	3

La presencia de más de un alelo en un loci nos podría indicar una microevolución en estas cepas, o podríamos afirmar que existe una sobre infección con otras cepas de *Mycobacterium tuberculosis*.

La técnica MIRU-VTNR utilizada para genotipificar al *Mycobacterium tuberculosis* tiene su similitud con el estudio de microsatélites utilizado para la identificación de personas, así como su uso en pruebas de paternidad en seres humanos. Las repeticiones en tándem denominadas MIRU o VTNR están dispersas en todo el genoma de esta micobacteria y se encuentran distribuidos en forma intercalada en 41 sitios, esta técnica es una gran herramienta molecular donde el tamaño de cada ampliación determina el número de repeticiones de cada MIRU-VTNR (72).

Asimismo, como se muestra en la Tabla 5 solo se identificó dos aislados idénticos con una similitud del 100% (TB02 y TB03), la tasa de clustering fue de 0.055, la epidemiología molecular indica que cuando existen dos o más genotipos idénticos que forman clúster estas dos o más cepas pertenecen a una misma cadena de transmisión y sugiere una infección reciente; genotipos únicos que no forman clúster se relacionan con reactivación de infecciones latentes.

En el 24% de las muestras se observaron alelos dobles, el aislado TB 40 presentó el mayor número alelos dobles en múltiples loci, la presencia de alelos dobles en una misma cepa en más de un loci nos haría pensar en una sobre infección o infecciones mixtas. Micheni L. (73) realizó una revisión sistemática en Sub-Saharan África, identificó estudios que reportaban infecciones mixtas, la tasa de prevalencia de infecciones por cepas mixtas notificadas en los diferentes estudios oscila entre el 2,8 % y el 21,1 %.

3.3 Linajes de aislados de *Mycobacterium tuberculosis*

La técnica MIRU-VNTR 24 loci nos permitió identificar, cepas del linaje Haarlem, del linaje UgandaI, como se observa en la Tabla 6; los datos obtenidos se subieron a la base de datos MIRU-VTNR_{plus} donde se compararon los perfiles obtenidos con los perfiles de esta base de datos, se hizo un análisis a partir de la mejor coincidencia un *best match* con un punto de corte de distancia (0.17), en el que se acepta como máximo una diferencia de cinco loci entre los aislamientos comparados. Se asignó un linaje filogenético a 14 aislados que corresponden al 25.93% de las muestras.

Tabla 6. Identificación del linaje set 24 MIRU-VTNR_{plus}

ID	TIPIFICACIÓN	LINAJE
TB01	223234132334545161332322	Desconocido
TB02	223235322434425153333622	Haarlem
TB03	223235322434425153333622	Haarlem
TB04	22421232-322226173334412	Desconocido
TB05	2232-433-632423153333622	Desconocido
TB06	22-233231,2324226153131712	Desconocido
TB07	2232353-2434425153333622	Haarlem
TB08	223234221,2534425153333622	Desconocido
TB09	23423333-424226133131612	Desconocido
TB10	223235321,2434425153333622	Haarlem
TB11	22323532-334425153333622	Haarlem
TB12	22322,34322434425153333622	Haarlem
TB13	----- 2 - 1 - - 3 - - - - 2	UgandaI
TB14	223245322434425163334622	Desconocido
TB15	2232453224344-5163334622	Desconocido
TB16	223234222534425153323622	Desconocido
TB17	214252132324421153323212	Desconocido
TB18	213,4233222434-25153323622	Desconocido
TB19	2--2-4-2--34-251533-3--2	<i>Multiples Matches</i>
TB20	2131,234231332-23153313522	Desconocido
TB21	2--2-4-3-3,4--423,51--3----2	<i>Multiples Matches</i>
TB22	214243232244221143324112	Desconocido
TB23	124224131224126153322612	Desconocido
TB24	1342241312-4126153322612	Desconocido
TB25	223236222434425151333622	Desconocido
TB26	244233252624426173353813	Desconocido
TB27	223135222534425153343622	Desconocido
TB28	223255223434425153343622	Desconocido
TB29	223235222434425153343322	Desconocido
TB30	223235223534425153344622	Desconocido
TB31	213236322334425153333622	Haarlem
TB32	21323532-534425153333522	Haarlem
TB33	21323532-534425153333522	Haarlem
TB34	213235321534425153333722	Desconocido
TB35	213235321,253442515333372-	Desconocido
TB36	214243322334225153333512	Desconocido
TB37	13-22435-224-26153332512	Desconocido
TB38	213235321,253442-1533337,822	Haarlem
TB39	21424332-334225153333512	Desconocido
TB40	1,2141,2-432,3-4-41,4261533--512	Desconocido
TB41	-14--3,5-----42-15-3----2	Haarlem
TB42(TBD1RI)	1-313521,322241261132122,3-1	Desconocido
TB43(TBD2RI)	1121252114344251111232,4-1	Desconocido
TB44(TBD3MD)	1-312-22-2241261433-2--1	Desconocido
TB45(TBD4MD)	1321252312244261222122,3-1	Desconocido
TB46(TBD5RR)	12213,6-2113441251321332,5-1	Desconocido
TB47(TBD6MD)	1211,22421241,345251132337-1	Desconocido
TB48(TBD7MD)	-221,21522261,34-2-2-3-327--	Desconocido
TB49(TBD8RI)	-211,22621-41,34-2-113-3372-	Desconocido
TB50(TBD9RI)	1211,23721241,344251132337-1	Desconocido
TB51(TBD10RR)	1311,24422141,34225113-3-8-0	Desconocido
TB52(TBD11RR)	1211,23521-51,34-2-1232336-1	Desconocido
TB53(TBD12RI)	1311,24422141,343251233338-1	Desconocido
TB54(TBD13MD)	13313523-12412-13331,225,3--	Desconocido

Al 74.07% de las muestras restantes que corresponde a 40 aislados no se les asignó ningún linaje. Al 20.37% se les asignó el linaje Haarlem, al 1.85% de aislados se les asignó el linaje UgandaI y al 3.71% de aislados se les asignó como *Múltiples matches* en los que se identificaron para el aislado TB19 con distancias iguales de 0.1429 los linajes Cameroon y Harlem (Tabla 7). Así mismo, en el aislado TB21 se identificaron los mismos linajes con una distancia de 0.0 para el linaje Harlem y 0.1111 para el linaje Cameroon. La tasa de *clustering* fue de 0.055 (Anexo 1)

En el estudio realizado por Salvado R.(74), usando la técnica MIRU-VTNR 24 loci encontró que los linajes más frecuentes fueron LAM (65,6%) y Haarlem (22,1%), los resultados obtenidos permitieron a los autores una mejor comprensión de la dinámica de transmisión y evolución de la tuberculosis en esta región.

Tabla 7. Linajes presentes en la población de estudio 24 Loci MIRU-VTNR

Linaje	Número	Diversidad Alélica
Desconocido	40	74.07
Haarlem	11	20.37
<i>Multiple matches</i>	2	3.71
UgandaI	1	1.85
Total	54	100.00

3.4 Tipificación 12 MIRU-VTNR

Con el objetivo de asignar a nuestra población de estudio un linaje determinado se compararon los perfiles MIRU-VTNR obtenidos con la base de datos 12 loci MIRU-VTNR*plus*, set de datos se encuentra también en el programa MIRU-VTNR*plus*.

Los perfiles obtenidos en el set 12 loci MIRU-VTNR *plus* se observa en la Tabla 8, observamos la formación de tres clústeres todos formados por cepas del linaje Haarlem.

Tabla 8. Identificación del linaje set 12 loci MIRU-VTNR

ID	Tipificación	Linaje
TB01	223412516132	Desconocido
TB02	223532515332	Haarlem
TB03	223532515332	Haarlem
TB04	22123-617332	Desconocido
TB05	22-43-315332	Cameroon
TB06	223321,2615332	Cameroon
TB07	223532515332	Haarlem
TB08	223421,2515332	Cameroon
TB09	22333-613332	Desconocido
TB10	223531,2515332	Haarlem
TB11	22353-515332	Haarlem
TB12	222,3432515332	Haarlem
TB13	---3,4---1---2	Ugandal
TB14	224532516332	Haarlem
TB15	224532516332	Haarlem
TB16	223422515322	Ugandal
TB17	225212115322	Desconocido
TB18	223322515322	Ugandal
TB19	22-4--5153-2	Cameroon
TB20	21,23421315312	Desconocido
TB21	22-4--3,51---2	Haarlem
TB22	224322114322	Ugandal
TB23	122411615322	Desconocido
TB24	122411615322	Desconocido
TB25	223622515132	Haarlem
TB26	223322617353	Beijing
TB27	213522515342	Ugandal
TB28	225523515342	Desconocido
TB29	223522515342	Ugandal
TB30	223523515342	Ugandal
TB31	223632515332	Haarlem
TB32	22353-515332	Haarlem
TB33	22353-515332	Haarlem
TB34	223531515332	Cameroon
TB35	223531,251533-	Haarlem
TB36	224332515332	S
TB37	12243-615332	X
TB38	223531,2-15332	Haarlem
TB39	22433-515332	Cameroon
TB40	1,21,2-43-6153-2	Lam
TB41	---3,5---15--2	Ugandal
TB42(TBD1RI)	113522611311	Desconocido
TB43(TBD2RI)	112521511121	Desconocido
TB44(TBD3MD)	112-2-6143-1	Desconocido
TB45(TBD4MD)	112521612211	Desconocido
TB46(TBD5RR)	113,6-21513231	Desconocido
TB47(TBD6MD)	11,22422511331	Desconocido
TB48(TBD7MD)	-1,21522-2-33-	Desconocido
TB49(TBD8RI)	-1,2262--1133-	URAL
TB50(TBD9RI)	11,23722511331	Desconocido
TB51(TBD10RR)	11,24421511330	Desconocido
TB52(TBD11RR)	11,2352--12331	Desconocido
TB53(TBD12RI)	11,24421512331	Desconocido
TB54(TBD13MD)	11352--1331,2-	Desconocido

Al comparar los resultados con la base de datos 12 MIRU-VTNR se logró asignar un mayor número de linajes a nuestras muestras. Los linajes asignados en este set son el linaje Haarlem, el linaje Uganda I, linaje Cameroon, linaje Lam, linaje S, linaje Beijing, linaje Ural y linaje X, se asignaron 5 linajes más que con el set 24 loci MIRU-VTNR. La tasa de clustering fue de 0.56

Como se observa en la Tabla 9, sólo un 37.04% de los aislados que corresponden a 20 muestras presentaron patrones huérfanos no se les encontró semejanza con ninguno de los perfiles de la base de datos 12 MIRU-VTNR^{plus}, al 62.96% de las muestras se les asignó un linaje conocido, el 24% de los aislados que corresponde a 13 muestras se les asignó el linaje Haarlem, al linaje UgandaI se les asignó 6 muestras (11.11%), al 7.41% de los aislados se le asignó el linaje Cameroon con 4 muestras y a los linajes S, URAL y X fueron asignados aun solo aislado cada uno que corresponde al 1.85% para cada linaje.

Tabla 9. Linajes presentes en la Región Arequipa 12 Loci MIRU-VTNR

Linaje	Número	Porcentaje
Desconocido	20	37.04
<i>Multiple matches</i>	8	14.81
Cameroon	4	7.41
S	1	1.85
Haarlem	13	24.07
UgandaI	6	11.11
URAL	1	1.85
X	1	1.85
Total	54	100.00

En el estudio realizado por Khosravi A. (75), donde se analizaron 88 muestras drogo resistentes que provenían de varios centros de referencia, para su tipificación se usó la técnica 12 loci MIRU-VTNR, se demostró una alta diversidad en las cepas multidrogo resistentes las que se clasificaron en 20 genotipos distintos. Los MIRU 10 y 26 fueron los loci más discriminatorios con 8 y 7 alelos respectivamente; mientras

que los MIRU 2, 20, 24 y 39 fueron los menos discriminatorios con 1-2 alelos cada uno.

3.5 Diversidad Alélica *Mycobacterium tuberculosis*

La mayor diversidad alélica después del análisis en el programa MIRU-VTNR_{plus} como se observa en la Tabla 10, la presento el MIRU 20 con una diversidad alélica de 0.82, seguido del VTNR QUB26 con una diversidad alélica de 0.81 en los que se observaron 8 alelos diferentes, los MIRU-VTNR: QUB11b, MIRU 10, QUB4156, MIRU 40, ETRC, MTUB04, ETRA, Mtub 21 presentaron una diversidad alélica de 0.78, 0.73, 0.71, 0.70, 0.68, 0.67, 0.66 y 0.64 respectivamente.

Tabla 10. Diversidad alélica MIRU-VTNR

Diversidad alélica	Loci	Alias	Diversidad Alélica
ALTAMENTE DISCRIMINATORIO	2059	MIRU20	0.82
	4052	QUB26	0.81
	2163b	QUB11b	0.78
	960	MIRU10	0.73
	4156	QUB4156	0.71
	802	MIRU40	0.70
	577	ETRC	0.68
	2401	Mtub04	0.67
	2165	ETRA	0.66
	1955	Mtub21	0.64
	3192	MIRU31	0.62
	2531	MIRU23	0.62
	2996	MIRU26	0.62
	1644	MIRU16	0.62
MODERADAMENTE DISCRIMINATORIO	3690	Mtub39	0.58
	580	MIRU04	0.53
	154	MIRU02	0.5
	4348	MIRU39	0.44
	3171	Mtub34	0.37
POCO DISCRIMINATORIO	3007	MIRU27	0.26
	2347	Mtub29	0.19
	2461	ETRB	0.05
	2687	MIRU24	0.02

Se han realizado diferentes estudios donde se propone usar un menor número de MIRU-VTNR. Maghradze N. (76) en un estudio realizado en Georgia se propuso

usar un panel de 10 loci MIRU-VTNR con los que se obtuvo el mismo poder de discriminación que cuando se aplicó a los mismos aislados el panel estándar de 24 locus, el panel de 10 MIRU-VTNR, estuvo formado por los MIRU con mayor poder de discriminación demostrando al mismo tiempo una disminución en los costos, tiempo y carga de trabajo (76).

En el estudio realizado Weerasekera D. et al. (61) en el que comparó los perfiles obtenidos con los sets 15loci MIRU-VTNR y 24 loci MIRU-VTNR de la base de datos MIRU-VTNR_{plus}, concluyó que la tipificación MIRU-VNTR de 15 locus es suficiente para un estudio epidemiológico de primera línea y para poder diferenciar aislados de grupos altamente homólogos, obteniendo los mismos resultados como si aplicara la técnica 24 locus MIRU-VNTR (61).

Los MIRUS con menor diversidad alélica fueron los el MIRU 24 y ETRB con valores 0.02 y 0.05. En el estudio realizado por Bolado E. et al. (77) donde se analizaron tres regiones diferentes de este país, se encontró que los MIRUS, VTNR QUB 26, MTUB 4, MIRU 26, QUB 11b, MIRU 40 y el MIRU 26 fueron los más polimórficos. Asimismo, en el estudio realizado en por Méndez M. et al.(78) en Venezuela encontró la diversidad alélica más alta en el locus QUB 26, seguido de los loci QUB11b, MIRU26 y Mtub04 (78).

3.6 Aislados multidrogo resistentes *Mycobacterium tuberculosis*.

De las 54 muestras que se genotipificaron 13 aislados corresponden a cepas de *Mycobacterium tuberculosis* drogo resistentes, ninguna de ellas amplificó los 24 MIRU-VTNR, 5 aislados correspondían a cepas multidrogo resistentes, 5 aislados eran resistentes a Isoniacida y 3 resistentes a Rifampicina, se evidenció la presencia de más de dos alelos en un loci, como ya se mencionó, la presencia de más de un alelo en un mismo loci nos podría indicar una microevolución en estas cepas, o podríamos afirmar que existe una sobre infección con otras cepas de *Mycobacterium tuberculosis*.

Como podemos observar en la Tabla 11 el 92% de aislados drogo resistentes presentan más de un alelo en algún MIRU-VTNR y el 75% de los aislados presentan dos alelos diferentes en dos MIRU-VTNR diferentes. Podemos observar también que en el 100% de las muestras no se amplificó uno los alelos MIRU-VTNR.

Tabla 11. 24 MIRU-VTNR en aislados drogo resistente

	154	424	577	580	802	960	1644	1955	2059	2163b	2165	2347	2401	2461	2531	2687	2996	3007	3171	3192	3690	4052	4156	4348
TBD1RI	1	-	3	1	3	5	2	1,3	2	2	2	4	1	2	6	1	1	3	2	1	2	2,3	-	1
TBD2RI	1	1	2	1	2	5	2	1	1	4	3	4	4	2	5	1	1	1	1	2	3	2,4	-	1
TBD3MD	1	-	3	1	2	-	2	2	-	2	2	4	1	2	6	1	4	3	3	-	2	-	-	1
TBD4MD	1	3	2	1	2	5	2	3	1	2	2	4	4	2	6	1	2	2	2	1	2	2,3	-	1
TBD5RR	1	2	2	1	3,6	-	2	1	1	3	4	4	1	2	5	1	3	2	1	3	3	2,5	-	1
TBD6MD	1	2	1	1,2	2	4	2	1	2	4	1,3	4	5	2	5	1	1	3	2	3	3	7	-	1
TBD7MD	-	2	2	1,2	1	5	2	2	2	6	1,3	4	-	2	-	2	-	3	-	3	2	7	-	-
TBD8RI	-	2	1	1,2	2	6	2	1	-	4	1,3	4	-	2	-	1	1	3	-	3	3	7	2	-
TBD9RI	1	2	1	1,2	3	7	2	1	2	4	1,3	4	4	2	5	1	1	3	2	3	3	7	-	1
TBD10RR	1	3	1	1,2	4	4	2	2	1	4	1,3	4	2	2	5	1	1	3	-	3	-	8	-	0
TBD11RR	1	2	1	1,2	3	5	2	1	-	5	1,3	4	-	2	-	1	2	3	2	3	3	6	-	1
TBD12RI	1	3	1	1,2	4	4	2	2	1	4	1,3	4	3	2	5	1	2	3	3	3	3	8	-	1
TBD13MD	1	3	3	1	3	5	2	3	-	1	2	4	1	2	-	1	3	3	3	1,2	2	5,3	-	-
N. ALELOS	1	3	3	2	5	4	1	3	2	6	4	1	5	1	2	2	4	3	3	3	2	7	1	1

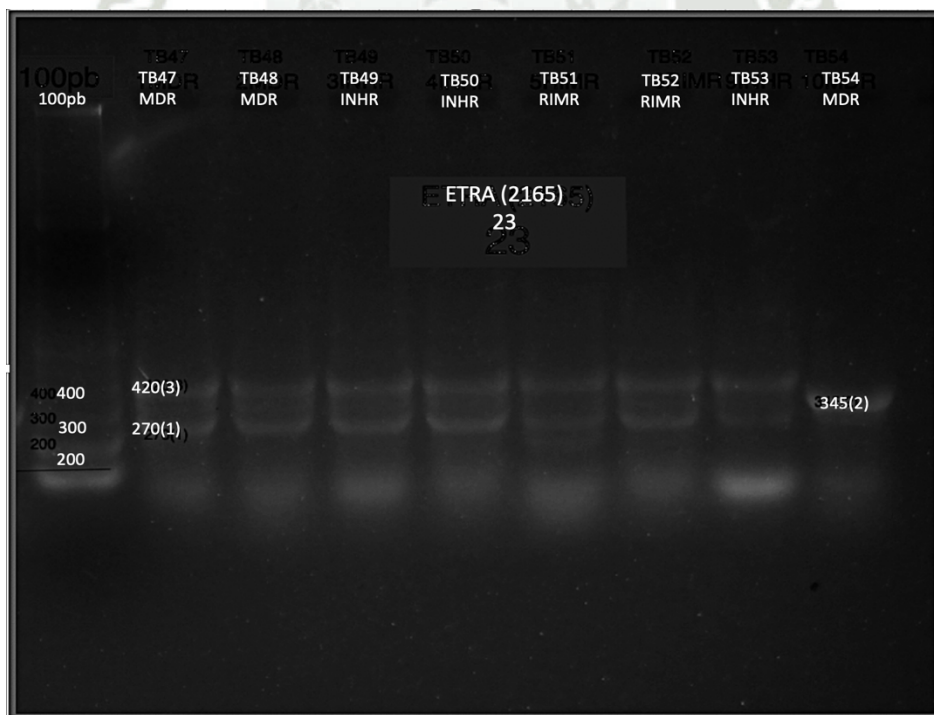


Figura 3. MIRU-VTNR ETRA (2165). En el MIRU-VTNR ETRA, se observa la presencia de dos bandas desde las muestras TB 47 hasta la muestra TB (53), la muestra TB54 solo se observa la presencia de una banda.

Los datos observados en esta tabla 11 nos sugieren una gran variedad de genotipos drogo resistentes que circulan en nuestra región, esta variación en los patrones

de amplificación de los MIRU-VNTR podrían explicar la resistencia a fármacos de estas cepas (28). En la Figura 2 observamos la presencia de dos bandas en 7 muestras podría indicar una sobre infección.

Tabla 12. Linajes de aislados drogo resistentes a 0.6 de distancia genética

Linaje	Número	Porcentaje
<i>Multiple matches</i>	7	53.85
LAM	2	15.38
Ghana	1	7.69
TUR	1	7.69
S	1	7.69
Haarlem	1	7.69
Total	13	100.00

En la Tabla 12 podemos observar que al aumentar la distancia genética de 0.17 a 0.6 se pudieron asignar linajes a las muestras, al 15.38% de los aislados se asignó el linaje Lam, se identificaron aislados del linaje Ghana, del linaje TUR, del linaje S linaje Haarlem con un porcentaje de 7.69 cada uno correspondiente a un aislado, 53.85% de las muestras fueron identificados como *Multiples matches*, estos aislados estaban relacionados con aislados del linaje UgandaI, linaje Llama, linaje Cameroon, Linaje Ghana, Linaje Haarlem, Linaje URAL como se muestra en el anexo 3.

China es uno de los países con alta carga de tuberculosis, representa entre el 22 y el 30% de los casos de tuberculosis en todo el mundo, un estudio epidemiológico realizado en este país demostró que las tasas de tuberculosis multidrogo resistente primaria y adquirida fueron del 3,8 y el 26,9% respectivamente, más del 50% de la cepas que predominan en este país pertenecen a la familia Beijing (79).

Varios países asiáticos con alta prevalencia de tuberculosis han encontrado que el genotipo proveniente de la familia Beijing es el predominante en estas zonas y se han encontrado asociaciones entre este genotipo y la resistencia a antibióticos (80).

La región africana en el 2019 reportó el 25% de la incidencia mundial de tuberculosis y actualmente tiene las tasas más altas de mortalidad de tuberculosis

asociadas al VIH, los casos de tuberculosis activa sensible a los medicamentos tienen un 85% de éxito en el tratamiento. Sin embargo, en informes recientes, se ha reportado en esta región africana el aumento de casos de tuberculosis resistente a los medicamentos (81)(82).

El resultado del tratamiento para la tuberculosis puede verse afectado por una infección mixta, las que pueden tener un patrón de susceptibilidad diferente, el fracaso en los tratamientos infecciosos es más frecuente cuando existen sobre infecciones (83).

El fenómeno de infección por cepas mixtas de tuberculosis se reconoció por primera vez en 1975 introduciendo un desafío para el diagnóstico, tratamiento y control de la tuberculosis. El uso de pruebas moleculares confirma que la infección mixta de tuberculosis es más frecuente de lo considerado inicialmente, esta infección mixta ha sido identificada como la principal causa de fracaso del tratamiento de la tuberculosis (85).

La tipificación molecular haciendo uso de los mini satélites MIRU-VNTR no solo ha facilitado en gran medida los estudios epidemiológicos moleculares de tuberculosis, además de detectar cadenas de transmisión y factores de riesgo, estos marcadores también permiten estudiar las infecciones por cepas mixtas o fenómenos micro evolutivos, identificando más de un alelo en un determinado loci. (84)

El genotipado desempeña un papel importante en la vigilancia y la epidemiología molecular de la tuberculosis, la tipificación de unidades repetitivas intercaladas micro bacterianas- repeticiones en tándem de número variable (MIRU-VNTR) se ha utilizado ampliamente en estudios epidemiológicos moleculares de la tuberculosis. Sin embargo, las herramientas de genotipado para *Mycobacterium tuberculosis* pueden ser limitantes en algunos entornos debido al alto costo y a la carga de trabajo que genera, por lo que el genotipado se ve limitado sobre todo en países de bajos recursos.

Podríamos sugerir en base a los resultados obtenidos caracterizar a las cepas de MT que circulan en nuestra región haciendo uso de los MIRU-VNTR con mayor poder de discriminación hallados en nuestro estudio, de esta manera podemos abarcar un mayor número de muestras al disminuir los costos que genera tipificar 24 loci.

Diversos estudios han demostrado que un alto grado de diversidad genética entre los aislados del *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a los medicamentos, como observamos en los resultados obtenidos en nuestro trabajo, estos resultados podrían

interpretarse como una tasa baja de transmisión de persona a persona de cepas resistente a antibióticos en nuestra región (86).

La resistencia a los medicamentos es uno de los principales desafíos para el control de la tuberculosis, esta resistencia a los medicamentos puede deberse principalmente a mutaciones puntuales específicas en el genoma del *Mycobacterium tuberculosis* (87).

Un método de genotipado es altamente efectivo cuando el método es rápido, técnicamente fácil, tiene una alta discriminación entre clústeres y proporciona datos que son fáciles de usar, datos que serán útiles para ser comparados con resultados de otros laboratorios tanto a nivel nacional e internacional. El genotipado de la tuberculosis MIRU-VNTR ha demostrado cumplir con todos los criterios anteriores.

Los estudios de tipificación molecular de *Mycobacterium tuberculosis*, ayudan a determinar la distribución geográfica de los genotipos que circulan en una determinada región, se puede determinar la asociación de estos genotipos con factores de riesgo relacionados a tuberculosis (88).

No sola basta con determinar los genotipos presentes que circulan en una región, es necesario investigar otras características como el tipo tuberculosis, características clínicas, y epidemiológicas de las cepas circulan en una determinada región, algunos estudios consideran que la edad, el género y la región tienen relación importante en la reciente transmisión de algunas cepas (89).

La determinación del número de repeticiones de los diferentes MIRU-VNTR pueden también ser usados como factor de riesgo para determinar resistencia a la Rifampicina causada por mutación del gen *rpoB*, en un estudio realizado por Su en China donde se analizaron 357 muestras de tuberculosis resistentes a la Rifampicina se concluyó que la mutación del gen *rpoB* se relacionaba con un mayor número de repeticiones en los loci MIRU10, QUB4156 y MIRU39 (58).

La mono resistencia de la Isoniacida puede aumentar el riesgo de desarrollar tuberculosis drogo resistente y también se asocia con una mala respuesta al tratamiento anti-Tuberculoso de primera línea y un mal pronóstico a buenos resultados en el tratamiento (90).

La tuberculosis multi resistente, causada por cepas que son resistentes tanto a la Isoniacida como a la rifampicina es la principal amenaza para las actividades de control de la tuberculosis en todo el mundo (91).

La realización de estudios posteriores con una muestra de mayor tamaño y el uso de otros marcadores moleculares y buscar su relación con factores clínico-epidemiológicos podrían dilucidar las posibles asociaciones entre la distribución de los linajes y aspectos específicos de la relación patógeno-huésped.



CONCLUSIONES

Primera La técnica MIRU-VTNR set 24 loci con una distancia genética de 0.17 estableció patrones huérfanos al 74.07% de los aislados, al 20.37% de aislados se les asignó el linaje Haarlem, al 1,85% de aislados se le asignó el linaje UgandaI y al 3.71% de los aislados se les asignó como *Múltiples matches*. El set 12 loci identificó con una distancia genética de 0,17 que el 37.04 % de los aislados presentaron patrones huérfanos, al 24% de los aislados se les asignó el linaje Haarlem, al 11.11% de las muestras se le asignó el linaje UgandaI, al 7.41% de los aislados se le asignó el linaje Cameroon y los linajes S, URAL y X fueron asignados cada uno a una sola muestra (1.85%). La evaluación a una distancia genética de 0.17 en el programa MIRU-VTNR_{plus} no asignó ningún linaje a las cepas drogo resistentes. Se logró precisar linajes a una distancia genética de 0.6, al 15.38% de los aislados se asignó el linaje Lam, se identificaron también el linaje Ghana, linaje TUR, linaje S y linaje Haarlem con un porcentaje de 7.69 cada uno.

Segunda Los MIRU-VTNR con diversidad alélica altamente discriminatoria son: MIRU20, QUB26, QUB11b, MIRU10, QUB4156, MIRU40, ETRC, Mtub04, ETRA, Mtub21, MIRU31, MIRU23 los que presentaron una diversidad alélica mayor de 0.6

RECOMENDACIONES

Primera Realizar un estudio en el que se correlacionen los datos epidemiológicos con los perfiles MIRU-VTNR y validar los MIRU-VTNR con mayor poder de discriminación para poder ser usado en nuestra región.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gaballah A, Ghazal A, Almiry R, Hussein S, Emad R, El-Sherbini E. Fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* isolates by MIRU-VNTR genotyping and detection of isoniazid resistance by real-time PCR. J Med Microbiol [Internet]. 28 de octubre de 2022 [citado 2 de julio de 2023];71(10). Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.001603>
2. WHO [Internet]. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>
3. OPS [Internet]. <https://www.paho.org/es/temas/tuberculosis>
4. Chisompola N, Streicher E, Muchemwa C, Warren R, Sampson S. Molecular epidemiology of drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Africa: a systematic review. BMC Infect Dis. 13 de mayo de 2020;20(1):344.
5. Santos D, Puyen Z, Gavilan R. Estructura genética de cepas drogorresistentes de *Mycobacterium tuberculosis* en Perú basada en haplotipos obtenidos de un ensayo con sondas en línea. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 20 de diciembre de 2021;38(4):577-86.
6. Cardona P. Patogénesis de la tuberculosis y otras micobacteriosis. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. enero de 2018;36(1):38-46.
7. Gürer B, Aslantürk A, Şimşek H, Özgür D, Kılıç S, Aslan G. Determination of genetic diversity of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains in Turkey using 15 locus MIRU-VNTR and spoligotyping methods. Pathog Glob Health. 2 de enero de 2023;117(1):85-91.
8. OPS [Internet]. [citado 2 de julio de 2023]. Disponible en: <https://bit.ly/2LIaJNG>
9. Rajwani R, Shehzad S, Siu G. MIRU-profiler: a rapid tool for determination of 24-loci MIRU-VNTR profiles from assembled genomes of *Mycobacterium tuberculosis*. PeerJ. 11 de julio de 2018;6:e5090.
10. Balcells M, García P, Meza P, Peña C, Cifuentes M, Couvin D, et al. A First Insight on the Population Structure of *Mycobacterium tuberculosis* Complex as Studied by Spoligotyping and MIRU-VNTRs in Santiago, Chile. Manganelli R, editor. PLOS ONE. 11 de febrero de 2015;10(2): e0118007.
11. Ali S, Khan M, Anwar K, Khan M, Hasan F. Spoligotyping analysis of *Mycobacterium tuberculosis* in Khyber Pakhtunkhwa area, Pakistan. Infect Drug Resist. mayo de 2019;Volume 12:1363-9.

12. Sun L, Aye K, Nan T, Shwe M, Fukushima Y, Gordon SV, et al. Insight into multidrug-resistant Beijing genotype *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Myanmar. *Int J Infect Dis.* noviembre de 2018;76:109-19.
13. Chatterjee A, Mistry N. MIRU–VNTR profiles of three major *Mycobacterium tuberculosis* spoligotypes found in western India. *Tuberculosis.* marzo de 2013;93(2):250-6.
14. Campbell I, Bah O. Pulmonary tuberculosis: diagnosis and treatment. *BMJ.* 20 de mayo de 2006;332(7551):1194-7.
15. Żaczek A, Brzostek A, Wojtasik A, Dziadek J, Sajduda A. Genotyping of Clinical *Mycobacterium tuberculosis* Isolates Based on IS 6110 and MIRU-VNTR Polymorphisms. *BioMed Res Int.* 2013;2013:1-6.
16. Lu W, Lu B, Liu Q, Dong H, Shao Y, Jiang Y, et al. Genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in rural China: Using MIRU-VNTR and spoligotyping methods. *Scand J Infect Dis.* febrero de 2014;46(2):98-106.
17. CDC MINSA [Internet]. [citado 2 de julio de 2023]. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portalnuevo/vigilancia-epidemiologica/vigilancia-de-tuberculosis/>
18. Ordaz A, Torres P, Ferreyra L, Canizales S, Delgado G, García L, et al. *Mycobacterium tuberculosis* lineage 4 associated with cavitations and treatment failure. *BMC Infect Dis.* 14 de marzo de 2023;23(1):154.
19. Diriba G, Alemu A, Yenew B, Tola H, Gamtesa D, Mollalign H, et al. Epidemiology of extensively drug-resistant tuberculosis among patients with multidrug-resistant tuberculosis: A systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis.* julio de 2023;132:50-63.
20. Martín A, Herránz M, Serrano M, Bouza E, de Viedma D. Rapid clonal analysis of recurrent tuberculosis by direct MIRU-VNTR typing on stored isolates. *BMC Microbiol.* 2007;7(1):73.
21. Kechin A, Ocorbin I, Cherednichenko A, Khrapov E, Schwartz Y, Stavitskaya N, et al. Selection of IS6110 conserved regions for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* using qPCR and LAMP. *Arch Microbiol.* febrero de 2023;205(2):71.
22. Campelo T, Cardoso De Sousa P, Nogueira L, Frota C, Zuquim P. Revisiting the methods for detecting *Mycobacterium tuberculosis*: what has the new millennium brought thus far? *Access Microbiol [Internet].* 2 de agosto de 2021 [citado 2 de julio de

- 2023];3(8). Disponible en:
<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/acmi/10.1099/acmi.0.000245>
23. García S, Aldea C, Campos A, Del Villar V. [Microbiological diagnosis of tuberculosis. 20 years in the province of Soria. Performance and basic opportunities of improvement]. Rev Espanola Quimioter Publicacion Of Soc Espanola Quimioter. abril de 2018;31(2):131-5.
24. Peñata A, Salazar R, Castaño T, Bustamante J, Ospina S. Diagnóstico molecular de tuberculosis extrapulmonar y sensibilidad a rifampicina con un método automatizado en tiempo real. Biomédica [Internet]. 23 de febrero de 2016 [citado 19 de julio de 2020];36. <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/3088>
25. Barrón H, Monteghirfo M, River N. Diagnóstico molecular de *Mycobacterium tuberculosis* en biopsias pleurales embebidas en parafina. An Fac Med. 5 de marzo de 2013;67(1):11.
26. Galarza M, Guio H, Reques J, Piscocoya O, Rodriguez M. Diagnóstico molecular de tuberculosis multidrogorresistente en muestras de esputo mediante el análisis de curvas de melting. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 21 de septiembre de 2018;35(3):433.
27. Hijikata M, Keicho N, Duc L, Maeda S, Hang N, Matsushita I, et al. Spoligotyping and whole-genome sequencing analysis of lineage 1 strains of *Mycobacterium tuberculosis* in Da Nang, Vietnam. Mokrousov I, editor. PLOS ONE. 19 de octubre de 2017;12(10):e0186800.
28. Weniger T, Krawczyk J, Supply P, Niemann S, Harmsen D. MIRU-VNTRplus: a web tool for polyphasic genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria. Nucleic Acids Res. 1 de julio de 2010;38(Web Server):W326-31.
29. Zamani S, Aflaki M, Fooladi A, Darban D, Bameri Z, Khazae S, et al. MIRU-VNTR analysis of the *Mycobacterium tuberculosis* isolates from three provinces of Iran. Scand J Infect Dis. febrero de 2013;45(2):124-30.
30. Masala S, Molicotti P, Bua A, Zumbo A, Delogu G, Sechi LA, et al. Molecular characterization of Sardinian *Mycobacterium tuberculosis* isolates by IS6110 restriction fragment length polymorphism, MIRU-VNTR and rep-PCR. :8.
31. Nabyonga L, Kateete D, Katabazi F, Odong P, Whalen C, Dickman K, et al. Determination of circulating *Mycobacterium tuberculosis* strains and transmission patterns among pulmonary TB patients in Kawempe municipality, Uganda, using MIRU-VNTR. BMC Res Notes [Internet]. diciembre de 2011 [citado 18 de julio de

- 2019];4(1). <https://bmcrenotes.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-0500-4-280>
32. González F, Alma M, Comas I, d'Auria G, Důnková M, García R, et al. Estudios de epidemiología molecular en población inmigrante en España. *Rev Esp Salud Pública*. diciembre de 2014;88(6):819-28.
33. Zheng C, Reynaud Y, Zhao C, Zozio T, Li S, Luo D, et al. New *Mycobacterium tuberculosis* Beijing clonal complexes in China revealed by phylogenetic and Bayesian population structure analyses of 24-loci MIRU-VNTRs. *Sci Rep* [Internet]. diciembre de 2017 [citado 18 de julio de 2019];7(1). Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41598-017-06346-1>
34. Jamieson F, Teatero S, Guthrie J, Neemuchwala A, Fittipaldi N, Mehaffy C. Whole-Genome Sequencing of the *Mycobacterium tuberculosis* Manila Sublineage Results in Less Clustering and Better Resolution than Mycobacterial Interspersed Repetitive-Unit-Variable-Number Tandem-Repeat (MIRU-VNTR) Typing and Spoligotyping. *J Clin Microbiol*. 1 de octubre de 2014;52(10):3795-8.
35. Dickman K, Nabyonga L, Kateete D, Katabazi F, Asiimwe B, Mayanja H, et al. Detection of multiple strains of *Mycobacterium tuberculosis* using MIRU-VNTR in patients with pulmonary tuberculosis in Kampala, Uganda. *BMC Infect Dis* [Internet]. diciembre de 2010 [citado 19 de julio de 2019];10(1). Disponible en: <http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-10-349>
36. Asante A, Nyaho M, Borrell S, Comas I, Gagneux S, Yeboah-Manu D. Evaluation of Customised Lineage-Specific Sets of MIRU-VNTR Loci for Genotyping *Mycobacterium tuberculosis* Complex Isolates in Ghana. Mokrousov I, editor. *PLoS ONE*. 25 de marzo de 2014;9(3):e92675.
37. Mikhecheva N, Zaychikova M, Melerzanov A, Danilenko V. A Nonsynonymous SNP Catalog of *Mycobacterium tuberculosis* Virulence Genes and Its Use for Detecting New Potentially Virulent Sublineages. *Genome Biol Evol*. abril de 2017;9(4):887-99.
38. Jagielski T, Van Ingen J, Rastogi N, Dziadek J, Mazur P, Bielecki J. Current Methods in the Molecular Typing of *Mycobacterium tuberculosis* and Other Mycobacteria. *BioMed Res Int*. 2014;2014:1-21.
39. Wyllie D, Davidson J, Grace Smith E, Rathod P, Crook DW, Peto TEA, et al. A Quantitative Evaluation of MIRU-VNTR Typing Against Whole-Genome Sequencing for Identifying *Mycobacterium tuberculosis* Transmission: A Prospective Observational Cohort Study. *EBioMedicine*. agosto de 2018;34:122-30.

40. Mears J, Abubakar I, Cohen T, McHugh TD, Sonnenberg P. Effect of study design and setting on tuberculosis clustering estimates using Mycobacterial Interspersed Repetitive Units-Variable Number Tandem Repeats (MIRU-VNTR): a systematic review. *BMJ Open*. 21 de enero de 2015;5(1):e005636-e005636.
41. Stucki D, Gagneux S. Single nucleotide polymorphisms in *Mycobacterium tuberculosis* and the need for a curated database. *Tuberculosis*. enero de 2013;93(1):30-9.
42. Coll P, García de Viedma D. Epidemiología molecular de la tuberculosis. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. abril de 2018;36(4):233-40.
43. Chawla K, Kumar A, Shenoy V, Chauhan D, Sharma P. Genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* in south coastal Karnataka, India, using spoligotyping. *Indian J Med Res*. 2018;147(3):278.
44. Eldirdery MM, Alrayah IE, ElkareIm MOA, Khalid FA, Elegail AMA, Ibrahim NY, et al. Genotyping of Pulmonary *Mycobacterium tuberculosis* Isolates from Sudan Using Spoligotyping. *Am J Microbiol Res*. 2015;3(4):125-8.
45. Tulu B, Ameni G. Spoligotyping based genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* in Ethiopia: a systematic review. *BMC Infect Dis* [Internet]. diciembre de 2018 18;18(1).: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-018-3046-4>
46. Zeng X, Xu Y, Zhou Y, Li H, Zheng R, Tan Y, et al. McSpoligotyping, a One-Step Melting Curve Analysis-Based Protocol for Spoligotyping of *Mycobacterium tuberculosis*. Forbes BA, editor. *J Clin Microbiol* [Internet]. 6 de junio de 2018 <http://jcm.asm.org/lookup/doi/10.1128/JCM.00539-18>
47. Abadía E, Sequera M, Ortega D, Méndez M, Escalona A, Da Mata O, et al. *Mycobacterium tuberculosis* ecology in Venezuela: epidemiologic correlates of common spoligotypes and a large clonal cluster defined by MIRU-VNTR-24. *BMC Infect Dis* [Internet]. diciembre de 2009 [citado 18 de julio de 2019];9(1). Disponible en: <http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-9-122>
48. Jafarian M, Aghali-Merza M, Farnia P, Ahmadi M, Masjedi MR, Velayati AA. Synchronous Comparison of *Mycobacterium tuberculosis* Epidemiology Strains by «MIRU-VNTR» and «MIRU-VNTR and Spoligotyping» Technique. 2010;2(3):8.
49. Kargarpour M, Khanipour S, Hadifar S, Ghajavand H, Farmanfarmaei G, Fateh A, et al. Challenge in direct Spoligotyping of *Mycobacterium tuberculosis*: a problematic issue in the region with high prevalence of polyclonal infections. *BMC Res Notes* [Internet]. diciembre de 2018 [citado 18 de julio de 2019];11(1). Disponible en:

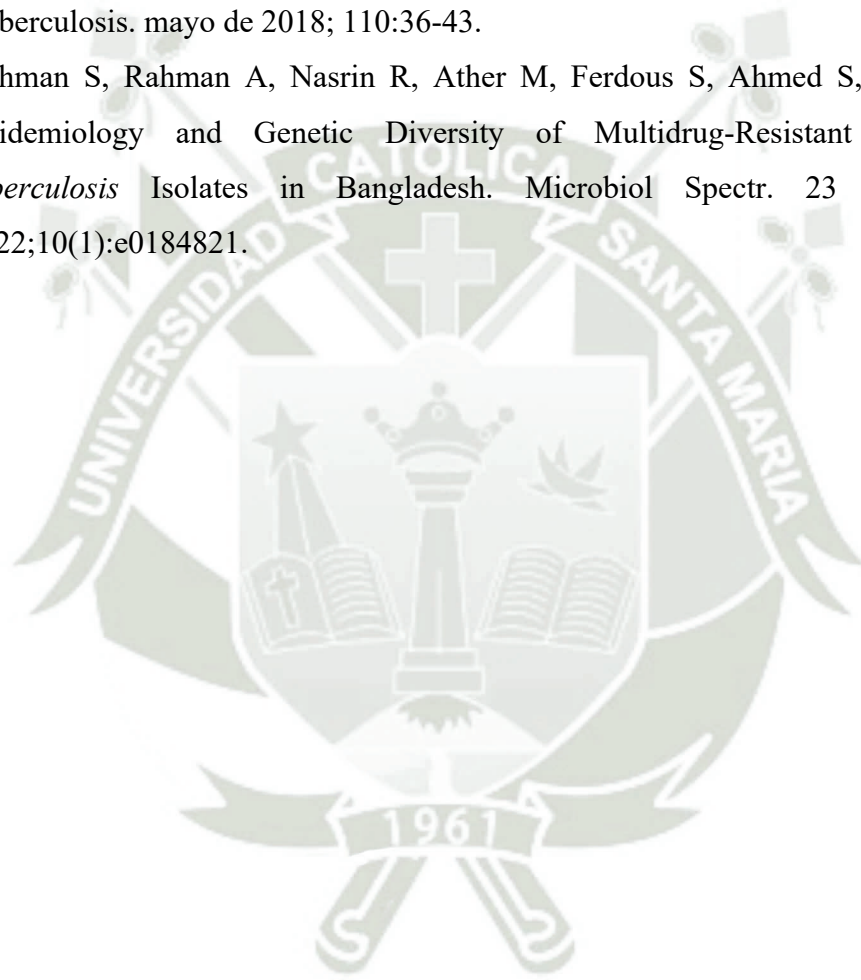
- <https://bmcresnotes.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13104-018-3579-z>
50. Singh J, Singh N, Suresh G, Srivastava R, Aggarwal U, Behera D, et al. A comparative analysis of molecular genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from HIV-positive and HIV-negative patients. *Front Cell Infect Microbiol.* 12 de octubre de 2022;12:953443.
 51. Peters J, Andrews J, Hatherill M, Hermans S, Martinez L, Schurr E, et al. Advances in the understanding of *Mycobacterium tuberculosis* transmission in HIV-endemic settings. *Lancet Infect Dis.* marzo de 2019;19(3):e65-76.
 52. Czaplewski L, Bax R, Clokie M, Dawson M, Fairhead H, Fischetti VA, et al. Alternatives to antibiotics—a pipeline portfolio review. *Lancet Infect Dis.* febrero de 2016;16(2):239-51.
 53. Prasad R, Singh A, Balasubramanian V, Gupta N. Extensively drug-resistant tuberculosis in India: Current evidence on diagnosis & management. *Indian J Med Res.* marzo de 2017;145(3):271-93.
 54. Momen G, Aainouss A, Lamaammal A, Chettioui F, Blaghen M, Messoudi M, et al. Molecular characterization of mutations associated with resistance to second line drugs in *Mycobacterium tuberculosis* patients from Casablanca, Morocco. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2021;63:e19.
 55. Caminero J, García J, Cayla J, García F, Palacios J, Ruiz J. Tuberculosis con resistencia a fármacos: nuevas definiciones de la OMS y su implicación en la Normativa de SEPAR. *Arch Bronconeumol.* enero de 2022;58(1):87-9.
 56. Li S, Chen W, Feng M, Liu Y, Wang F. Drug Resistance and Molecular Characteristics of *Mycobacterium tuberculosis*: A Single Center Experience. *J Pers Med.* 19 de diciembre de 2022;12(12):2088.
 57. Agredo F, Osorio L. Coverage and fidelity of the Xpert MTB/RIF™ implementation in a high-burden area for pulmonary tuberculosis in Colombia. *Biomed Rev Inst Nac Salud.* 2 de diciembre de 2020;40(4):626-40.
 58. Su F, Cao L, Ren X, Hu J, Tavengana G, Wu H, et al. The mutation rate of *rpoB* gene showed an upward trend with the increase of MIRU10, MIRU39 and QUB4156 repetitive number. *BMC Genomics.* 16 de enero de 2023;24(1):26.
 59. Bakuła Z, Marczak M, Bluszcz A, Proboszcz M, Kościuch J, Krenke R, et al. Phylogenetic relationships of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Poland: The emergence of Beijing genotype among multidrug-resistant cases. *Front Cell Infect*

- Microbiol. 2023; 13:1161905.
60. Negrete A, Vázquez G, Gutiérrez A, Vázquez MS. Pangenome Reconstruction of *Mycobacterium tuberculosis* as a Guide to Reveal Genomic Features Associated with Strain Clinical Phenotype. *Microorganisms*. 4 de junio de 2023;11(6):1495.
 61. Weerasekera D, Pathirane H, Madegedara D, Dissanayake N, Thevanesam V, Magana-Arachchi DN. Evaluation of the 15 and 24-loci MIRU-VNTR genotyping tools with spoligotyping in the identification of *Mycobacterium tuberculosis* strains and their genetic diversity in molecular epidemiology studies. *Infect Dis Lond Engl*. marzo de 2019;51(3):206-15.
 62. Valdés R, Rodríguez D. Análisis genotípico de aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* en La Habana en 2009. :8.
 63. Merker M, Kohl T, Niemann S, Supply P. The Evolution of Strain Typing in the *Mycobacterium tuberculosis* Complex. En: Gagneux S, editor. *Strain Variation in the Mycobacterium tuberculosis Complex: Its Role in Biology, Epidemiology and Control* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2017 [citado 2 de julio de 2023]. p. 43-78. (Advances in Experimental Medicine and Biology; vol. 1019). Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-64371-7_3
 64. Meza P, Balcells M, Miranda C, Cifuentes M, Wozniaky A, García P. Presencia del genotipo Beijing entre cepas del complejo *Mycobacterium tuberculosis* en dos centros de salud de la Región Metropolitana-Chile. *Rev Chil Infectol*. febrero de 2014;31(1):21-7.
 65. Sharma M, Janella D, McGurran A, Corbett C, Adam H, Akochy PM, et al. Compilation of 10 Years of MIRU-VNTR Data: Canadian National Tuberculosis Laboratory's Experience. Ed-dra A, editor. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 22 de agosto de 2022;2022:1-12.
 66. García C. [Internet]. [citado 2 de julio de 2023]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12371/11859>
 67. Roychowdhury T, Mandal S, Bhattacharya A. Analysis of IS6110 insertion sites provide a glimpse into genome evolution of *Mycobacterium tuberculosis*. *Sci Rep*. 28 de julio de 2015;5(1):12567.
 68. Coros A, DeConno E, Derbyshire KM. IS6110, a *Mycobacterium tuberculosis* Complex-Specific Insertion Sequence, Is Also Present in the Genome of *Mycobacterium smegmatis*, Suggestive of Lateral Gene Transfer among Mycobacterial Species. *J*

- Bacteriol. 1 de mayo de 2008;190(9):3408-10.
69. Kesarwani V, Singh NP, Kashyap B, Kumar A. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* on stool specimens by PCR among patients with pulmonary tuberculosis. J Fam Med Prim Care. enero de 2022;11(1):97-101.
 70. Conceição E, Da Conceição M, Marcon D, Loubser J, Andrade G, Silva S, et al. Genomic Diversity of the Rarely Observed Genotype of the *Mycobacterium tuberculosis* Central Asian (CAS) Lineage 3 from North Brazil. Microorganisms. 4 de enero de 2023;11(1):132.
 71. Supply P, Allix C, Lesjean S, Cardoso M, Rusch S, Willery E, et al. Proposal for Standardization of Optimized Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing of *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol. 1 de diciembre de 2006;44(12):4498-510.
 72. Supply P, Magdalena J, Himpens S, Loch C. Identification of novel intergenic repetitive units in a mycobacterial two-component system operon. Mol Microbiol. diciembre de 1997;26(5):991-1003.
 73. Micheni L, Deyno S, Bazira J. *Mycobacterium tuberculosis* mixed infections and drug resistance in sub-Saharan Africa: a systematic review. Afr Health Sci. marzo de 2022;22(1):560-72.
 74. Salvato R, Schiefelbein S, Barcellos R, Praetzel B, Anusca I, Esteves L, et al. Molecular characterisation of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from a high-burden tuberculosis state in Brazil. Epidemiol Infect. enero de 2019;147:e216.
 75. Khosravi A, Shahraki A, Dezfuli S, Hashemzadeh M, Goodarzi H, Mohajeri P. Genetic diversity of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from tuberculosis patients in Iran using MIRU-VNTR technique. Kaohsiung J Med Sci. 1 de noviembre de 2017;33(11):550-7.
 76. Maghradze N, Jugheli L, Borrell S, Tukvadze N, Kempker R, Blumberg H, et al. Developing customized stepwise MIRU-VNTR typing for tuberculosis surveillance in Georgia. PloS One. 2022;17(3):e0264472.
 77. Bolado E, Candia M, Zenteno R, Mendoza F, Avilés M, Álvarez G. Propuesta de un panel MIRU-VNTR 5 para el tamizaje de aislamientos clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* en México. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. noviembre de 2015;33(9):609-12.
 78. Méndez M, León C, Escalona A, Abadía E, Mata O, de Waard J. Evaluación del poder

- discriminatorio de técnicas de epidemiología molecular en aislados Venezolanos de *Mycobacterium tuberculosis*. *Investig Clínica*. 2016;57:13.
79. Shi T, Li T, Li J, Wang J, Zhang Z. Genetic diversity of drug resistant *Mycobacterium Tuberculosis* in local area of Southwest China: a retrospective study. *BMC Infect Dis*. 14 de noviembre de 2018;18(1):565.
80. Hu Y, Mathema B, Zhao Q, Zheng X, Li D, Jiang W, et al. Comparison of the socio-demographic and clinical features of pulmonary TB patients infected with sub-lineages within the W-Beijing and non-Beijing *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberc Edinb Scotl*. marzo de 2016;97:18-25.
81. Asare P, Asante-Poku A, Osei-Wusu S, Othhere ID, Yeboah-Manu D. The Relevance of Genomic Epidemiology for Control of Tuberculosis in West Africa. *Front Public Health*. 2021;9:706651.
82. Liu Y, Matsumoto M, Ishida H, Ohguro K, Yoshitake M, Gupta R, et al. Delamanid: From discovery to its use for pulmonary multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). *Tuberc Edinb Scotl*. julio de 2018;111:20-30.
83. Kontsevaya I, Nikolayevskyy V, Kovalyov A, Ignatyeva O, Sadykhova A, Simak T, et al. Tuberculosis cases caused by heterogeneous infection in Eastern Europe and their influence on outcomes. *Infect Genet Evol*. marzo de 2017;48:76-82.
84. Streit E, Millet J, Rastogi N. *Mycobacterium tuberculosis* polyclonal infections and microevolution identified by MIRU-VNTRs in an epidemiological study. *Int J Mycobacteriology*. septiembre de 2015;4(3):222-7.
85. Tarashi S, Fateh A, Mirsaeidi M, Siadat SD, Vaziri F. Mixed infections in tuberculosis: The missing part in a puzzle. *Tuberculosis*. diciembre de 2017;107:168-74.
86. Bakhtiyariniya P, Khosravi AD, Hashemzadeh M, Savari M. Genetic diversity of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from Khuzestan province, Iran. *AMB Express*. diciembre de 2022;12(1):85.
87. Matsui T, Pinhata J, Rabello M, Brandão A, Ferrazoli L, Leão S, et al. Frequency of first and second-line drug resistance-associated mutations among resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2020;115:e200055.
88. Yin C, Mijiti X, Liu H, Wang Q, Cao B, Anwaierjiang A, et al. Molecular Epidemiology of Clinical *Mycobacterium tuberculosis* Isolates from Southern Xinjiang, China Using Spoligotyping and 15-Locus MIRU-VNTR Typing. *Infect Drug Resist*. 2023; 16:1313-

- 26.
89. Luo D, Yu S, Huang Y, Zhan J, Chen Q, Yan L, et al. Recent Transmission and Prevalent Characterization of the Beijing Family *Mycobacterium tuberculosis* in Jiangxi, China. *Pol J Microbiol.* 1 de septiembre de 2022;71(3):371-80.
90. Esteves L, Dalla E, Vasconcellos SEG, Vargas A, Ferreira Junior SLM, Halon ML, et al. Genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* isoniazid monoresistant and multidrug-resistant in Rio Grande do Sul, a tuberculosis high-burden state in Brazil. *Tuberculosis.* mayo de 2018; 110:36-43.
91. Rahman S, Rahman A, Nasrin R, Ather M, Ferdous S, Ahmed S, et al. Molecular Epidemiology and Genetic Diversity of Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Isolates in Bangladesh. *Microbiol Spectr.* 23 de febrero de 2022;10(1):e0184821.





Distance	ID	Species	Lineage	MtbC15-9	154 MLV02	424 MLV04	577 ETRC	580 MTRU04	802 MTRU40	960 MTRU10	1644 MTRU16	1955 MTRU21	2053 MTRU20	2163b MTRU16	2185 MTRU29	2347 MTRU23	2531 MTRU24	2996 MTRU26	3171 MTRU27	3690 MTRU34	3690 MTRU39	4156 MTRU39	4156 MTRU39	4348 MTRU39	ST	Gagneux's Lineage	INHSM	EMB	RMP	PZA	RFLP pattern		
user strain	TB20			?-76	2	1	3	3	3	4	2	3	1	3	3	2	-	2	3	3	1	3	5	2	2								

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MLV02	424 MLV04	577 ETRC	580 MTRU04	802 MTRU40	960 MTRU10	1644 MTRU16	1955 MTRU21	2053 MTRU20	2163b MTRU16	2185 MTRU29	2347 MTRU23	2531 MTRU24	2996 MTRU26	3171 MTRU27	3690 MTRU34	3690 MTRU39	4156 MTRU39	4156 MTRU39	4348 MTRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INHSM	EMB	RMP	PZA	RFLP pattern			
user strain	TB21			?-?	2	-	-	2	-	4	-	3	-	-	-	4	2	-	1	-	-	3	-	-	2									
0.0	4217/02	M. tuberculosis	Haarlem	84-28	2	2	3	2	2	4	3	3	2	6	3	4	4	2	2	1	5	3	3	3	4	7	3	2	1586					
0.0	6946/03	M. tuberculosis	Haarlem	84-28	2	2	3	2	2	4	3	3	2	6	3	4	4	2	2	1	5	3	3	3	4	7	3	2	1586	s	s	s	s	s
0.0	3686/03	M. tuberculosis	Haarlem	92-15	2	2	3	2	2	4	3	3	2	4	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	4	6	3	2	47	s	s	s	s	s
0.1111	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	4	2	3	4	3	3	1	5	3	4	2	2	5	1	5	3	3	3	7	5	2	2	61	s	s	s	s	s
0.1111	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	1	3	2	3	5	3	3	2	3	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	3	5	3	2	50	s	s	s	s	s

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MLV02	424 MLV04	577 ETRC	580 MTRU04	802 MTRU40	960 MTRU10	1644 MTRU16	1955 MTRU21	2053 MTRU20	2163b MTRU16	2185 MTRU29	2347 MTRU23	2531 MTRU24	2996 MTRU26	3171 MTRU27	3690 MTRU34	3690 MTRU39	4156 MTRU39	4156 MTRU39	4348 MTRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INHSM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB22			?-169	2	1	4	2	4	3	2	2	2	4	4	2	2	1	1	4	3	3	2	4	1	1	2							

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MLV02	424 MLV04	577 ETRC	580 MTRU04	802 MTRU40	960 MTRU10	1644 MTRU16	1955 MTRU21	2053 MTRU20	2163b MTRU16	2185 MTRU29	2347 MTRU23	2531 MTRU24	2996 MTRU26	3171 MTRU27	3690 MTRU34	3690 MTRU39	4156 MTRU39	4156 MTRU39	4348 MTRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INHSM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB23			?-170	1	2	4	2	2	4	1	3	1	2	2	4	1	2	6	1	5	3	3	2	2	6	1	2						

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MLV02	424 MLV04	577 ETRC	580 MTRU04	802 MTRU40	960 MTRU10	1644 MTRU16	1955 MTRU21	2053 MTRU20	2163b MTRU16	2185 MTRU29	2347 MTRU23	2531 MTRU24	2996 MTRU26	3171 MTRU27	3690 MTRU34	3690 MTRU39	4156 MTRU39	4156 MTRU39	4348 MTRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INHSM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB24			?-170	1	3	4	2	2	4	1	3	1	2	-	4	1	2	6	1	5	3	3	2	2	6	1	2						

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MLV02	424 MLV04	577 ETRC	580 MTRU04	802 MTRU40	960 MTRU10	1644 MTRU16	1955 MTRU21	2053 MTRU20	2163b MTRU16	2185 MTRU29	2347 MTRU23	2531 MTRU24	2996 MTRU26	3171 MTRU27	3690 MTRU34	3690 MTRU39	4156 MTRU39	4156 MTRU39	4348 MTRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INHSM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern				
user strain	TB25			?-29	2	2	3	2	3	6	2	2	2	2	4	3	4	4	2	5	1	5	1	5	1	3	3	3	6	2	2				

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MLV02	424 MLV04	577 ETRC	580 MTRU04	802 MTRU40	960 MTRU10	1644 MTRU16	1955 MTRU21	2053 MTRU20	2163b MTRU16	2185 MTRU29	2347 MTRU23	2531 MTRU24	2996 MTRU26	3171 MTRU27	3690 MTRU34	3690 MTRU39	4156 MTRU39	4156 MTRU39	4348 MTRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INHSM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB26			?-175	2	4	4	2	3	3	2	5	2	6	2	4	4	2	6	1	7	3	3	5	3	8	1	3						

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MLV02	424 MLV04	577 ETRC	580 MTRU04	802 MTRU40	960 MTRU10	1644 MTRU16	1955 MTRU21	2053 MTRU20	2163b MTRU16	2185 MTRU29	2347 MTRU23	2531 MTRU24	2996 MTRU26	3171 MTRU27	3690 MTRU34	3690 MTRU39	4156 MTRU39	4156 MTRU39	4348 MTRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INHSM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB27			?-15	2	2	3	1	3	5	2	2	2	5	3	4	4	2	5	1	5	3	3	4	3	6	2	2						

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MLV02	424 MLV04	577 ETRC	580 MTRU04	802 MTRU40	960 MTRU10	1644 MTRU16	1955 MTRU21	2053 MTRU20	2163b MTRU16	2185 MTRU29	2347 MTRU23	2531 MTRU24	2996 MTRU26	3171 MTRU27	3690 MTRU34	3690 MTRU39	4156 MTRU39	4156 MTRU39	4348 MTRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INHSM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB28			?-331	2	2	3	2	5	5	2	2	3	4	4	2	5	1	5	3	3	4	3	6	2	2								

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MLV02	424 MLV04	577 ETRC	580 MTRU04	802 MTRU40	960 MTRU10	1644 MTRU16	1955 MTRU21	2053 MTRU20	2163b MTRU16	2185 MTRU29	2347 MTRU23	2531 MTRU24	2996 MTRU26	3171 MTRU27	3690 MTRU34	3690 MTRU39	4156 MTRU39	4156 MTRU39	4348 MTRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INHSM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB29			?-15	2	2	3	2	3	5	2	2	2	4	3	4	4	2	5	1	5	3	3	4	3	3	2							

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MLV02	424 MLV04	577 ETRC	580 MTRU04	802 MTRU40	960 MTRU10	1644 MTRU16	1955 MTRU21	2053 MTRU20	2163b MTRU16	2185 MTRU29	2347 MTRU23	2531 MTRU24	2996 MTRU26	3171 MTRU27	3690 MTRU34	3690 MTRU39	4156 MTRU39	4156 MTRU39	4348 MTRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INHSM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB30			?-331	2	2	3	2	3	5	2	2	3	5	3	4	4	2	5	1	5	3	3	4	4	6	2	2						

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MLV02	424 MLV04	577 ETRC	580 MTRU04	802 MTRU40	960 MTRU10	1644 MTRU16	1955 MTRU21	2053 MTRU20	2163b MTRU16	2185 MTRU29	2347 MTRU23	2531 MTRU24	2996 MTRU26	3171 MTRU27	3690 MTRU34	3690 MTRU39	4156 MTRU39	4156 MTRU39	4348 MTRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INHSM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB31			?-15	2	1	3	2	3	6	3	2	2	3	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	6	2	2							
0.1667	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	1	3	2	3	5	3	3	2	3	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	5	3	2	50	s	s	s	s	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MLV02	424 MLV04	577 ETRC	580 MTRU04	802 MTRU40	960 MTRU10	1644 MTRU16	1955 MTRU21	2053 MTRU20	2163b MTRU16	2185 MTRU29	2347 MTRU23	2531 MTRU24	2996 MTRU26	3171 MTRU27	3690 MTRU34	3690 MTRU39	4156 MTRU39	4156 MTRU39	4348 MTRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INHSM	EMB	RMP	PZA	RFLP pattern			
user strain	TB32			?-1993	2	1	3	2	3	5	3	2	-	5	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	5	2	2							
0.1304	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	1	3	2	3	5	3	3	2	3	3	4	4	2	5	1	5	3	3	3	3	5	3	2	50	s	s	s	s	s

MIRU-VNTR_{plus}: Identification by Similarity Search

Settings

Distance Measure: MIRU-VNTR [12]: Categorical
 Number of user strains per page: 70
 For each user-strain, display the next 5 matches.
 Do not show strains with distance greater than 0.17

Summary Statistics

Number of user strains: 108

Clustering Rate

Clustering rate MIRU: 0.5648148
 Clustering rate Spoligo: NaN

Allelic Diversity

154 / MIRU02: 0.51 960 / MIRU10: 0.73 2531 / MIRU23: 0.62 3007 / MIRU27: 0.26
 580 / MIRU04: 0.53 1644 / MIRU16: 0.63 2687 / MIRU24: 0.03 3192 / MIRU31: 0.62
 802 / MIRU40: 0.71 2059 / MIRU20: 0.82 2996 / MIRU26: 0.62 4348 / MIRU39: 0.44

Distribution of Identified Lineages

unknown: 37.04% multiple matches: 14.81% Cameroon: 7.41% S: 1.85%
 Haarlem: 24.07% UgandaI: 11.11% URAL: 1.85% X: 1.85%

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	1644 MIRU16	2059 MIRU20	2531 MIRU23	2687 MIRU24	2996 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB01			?-1110	2	2	3	4	1	2	5	1	6	1	3	2			? ? ? ? ?	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	1644 MIRU16	2059 MIRU20	2531 MIRU23	2687 MIRU24	2996 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB02			?-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2			? ? ? ? ?	
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50	S S S S S	S S S S S	
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	487	S S S S S	S S S S S	
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50	? ? ? ? ?	? ? ? ? ?	
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50	S S S S S	S S S S S	
0.0833	3342/02	M. tuberculosis	Haarlem	86-29	2	2	3	5	3	2	5	1	5	1	3	2		r s r r s	r s r r s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	1644 MIRU16	2059 MIRU20	2531 MIRU23	2687 MIRU24	2996 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB03			?-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2			? ? ? ? ?	
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50	S S S S S	S S S S S	
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	487	S S S S S	S S S S S	
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50	? ? ? ? ?	? ? ? ? ?	
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50	S S S S S	S S S S S	
0.0833	3342/02	M. tuberculosis	Haarlem	86-29	2	2	3	5	3	2	5	1	5	1	3	2		r s r r s	r s r r s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	1644 MIRU16	2059 MIRU20	2531 MIRU23	2687 MIRU24	2996 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB04			?-?	2	2	1	2	3	-	6	1	7	3	3	2			? ? ? ? ?	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	1644 MIRU16	2059 MIRU20	2531 MIRU23	2687 MIRU24	2996 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB05			?-?	2	2	-	4	3	-	3	1	5	3	3	2			? ? ? ? ?	
0.1	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2	61	S S S S S	S S S S S	
0.1	4217/02	M. tuberculosis	Haarlem	84-28	2	2	2	4	3	2	2	1	5	3	3	2	1586	? ? ? ? ?	? ? ? ? ?	
0.1	12637/02	M. tuberculosis	Haarlem	90-31	2	2	3	5	3	2	3	1	5	3	3	2	2	S S S S S	S S S S S	
0.1	3103/03	M. tuberculosis	Haarlem	91-31	2	2	3	5	3	2	3	1	5	3	3	2	2	S S S S S	S S S S S	
0.1	6946/03	M. tuberculosis	Haarlem	84-28	2	2	2	4	3	2	2	1	5	3	3	2	1586	S S S S S	S S S S S	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	1644 MIRU16	2059 MIRU20	2531 MIRU23	2687 MIRU24	2996 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB06			?-?	2	2	3	3	2	6	1	5	3	3	2			? ? ? ? ?		
0.0909	5390/02	M. tuberculosis	Cameroon	76-26	2	2	3	3	2	1	5	1	5	3	3	2	61	S S S S S	S S S S S	
0.0909	10438/01	M. tuberculosis	Cameroon	79-26	2	2	3	3	2	1	5	1	5	3	3	2	61	S S S S S	S S S S S	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	1644 MIRU16	2059 MIRU20	2531 MIRU23	2687 MIRU24	2996 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU39	SpolDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB07			?-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2			? ? ? ? ?	
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50	S S S S S	S S S S S	
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	487	S S S S S	S S S S S	
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50	? ? ? ? ?	? ? ? ? ?	
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50	S S S S S	S S S S S	
0.0833	3342/02	M. tuberculosis	Haarlem	86-29	2	2	3	5	3	2	5	1	5	1	3	2		r s r r s	r s r r s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA MtbC15-9														SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	RD Gagneux's Lineage					IS 6110 RFLP pattern
					154	580	580	802	960	1644	2053	2687	2687	2996	3007	3132	4348	4348			4348	4348	INH	SM	EMB	
user strain	TB08			??	2	2	3	4	2	5	1	5	3	3	2			?	?	?	?	?				
0.0909	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2	61		s	s	s	s	s			
0.0909	5390/02	M. tuberculosis	Cameroon	76-26	2	2	3	3	2	1	5	1	5	3	3	2	61		s	s	s	s	s			
0.0909	10438/01	M. tuberculosis	Cameroon	79-26	2	2	3	3	2	1	5	1	5	3	3	2	61		s	s	s	s	s			

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA MtbC15-9														SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	RD Gagneux's Lineage					IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB09			??	2	2	3	3	3	-	6	1	3	3	3	2			?	?	?	?	?			
0.0909	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2	61		s	s	s	s	s			

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA MtbC15-9														SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	RD Gagneux's Lineage					IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB10			??	2	2	3	5	3	5	1	5	3	3	2			?	?	?	?	?				
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s			
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	487		s	s	s	s	s			
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		?	?	?	?	?			
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s			
0.0909	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2	61		s	s	s	s	s			

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA MtbC15-9														SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	RD Gagneux's Lineage					IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB11			14237-1993	2	2	3	5	3	-	5	1	5	3	3	2			?	?	?	?	?			
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s			
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	487		s	s	s	s	s			
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		?	?	?	?	?			
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s			
0.0909	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2	61		s	s	s	s	s			

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA MtbC15-9														SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	RD Gagneux's Lineage					IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB12			?-15	2	2	2	4	3	2	5	1	5	3	3	2			?	?	?	?	?			
0.0	3686/03	M. tuberculosis	Haarlem	92-15	2	2	2	4	3	2	5	1	5	3	3	2	47		s	s	s	s	s			
0.0	4412/04	M. tuberculosis	X	142-15	2	2	5	4	3	2	5	1	5	3	3	2	119		s	s	s	s	s			
0.0	9787/04	M. tuberculosis	X	142-15	2	2	5	4	3	2	5	1	5	3	3	2	119		s	s	s	s	s			
0.0909	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2	61		s	s	s	s	s			
0.0909	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s			

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA MtbC15-9														SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	RD Gagneux's Lineage					IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB13			??	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	2			?	?	?	?	?			
0.0	8490/00	M. bovis	Bovis	5-6	2	4	2	2	4	2	4	1	3	3	3	2	482		s	s	s	s	r			
0.0	2176/99	M. tuberculosis	UgandaII	21-13	2	2	1	3	3	1	5	1	4	3	3	2			s	s	s	s	s			
0.0	2253/99	M. tuberculosis	UgandaII	22-13	2	2	4	3	3	1	5	1	4	3	4	2			s	s	s	s	s			
0.0	2191/99	M. tuberculosis	UgandaII	23-13	2	2	3	3	3	1	5	1	4	3	4	2	420		s	s	s	s	s			
0.0	2379/99	M. tuberculosis	UgandaII	24-13	2	2	3	3	3	1	5	1	4	3	4	2	420		s	r	s	s	s			

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA MtbC15-9														SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	RD Gagneux's Lineage					IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB14			?-15	2	2	4	5	3	2	5	1	6	3	3	2			?	?	?	?	?			
0.1667	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s			
0.1667	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	487		s	s	s	s	s			
0.1667	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		?	?	?	?	?			
0.1667	9400/02	M. tuberculosis	Haarlem	87-30	2	2	4	5	3	2	4	1	5	3	3	2	50		?	?	?	?	?			
0.1667	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s			

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA MtbC15-9														SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	RD Gagneux's Lineage					IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB15			??	2	2	4	5	3	2	5	1	6	3	3	2			?	?	?	?	?			
0.1667	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s			
0.1667	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	487		s	s	s	s	s			
0.1667	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		?	?	?	?	?			
0.1667	9400/02	M. tuberculosis	Haarlem	87-30	2	2	4	5	3	2	4	1	5	3	3	2	50		?	?	?	?	?			
0.1667	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s			

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA MtbC15-9														SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	RD Gagneux's Lineage					IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB16			?-15	2	2	3	4	2	2	5	1	5	3	2	2			?	?	?	?	?			
0.1667	2111/99	M. tuberculosis	UgandaI	32-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2	52		s	s	s	s	s			
0.1667	1571/99	M. tuberculosis	UgandaI	37-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2	78		s	s	s	s	s			
0.1667	8577/03	M. tuberculosis	URAL	163-15	2	2	3	7	2	2	5	1	1	3	2	2	262		s	s	s	s	s			

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	Mtbc15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	MIRU40	960	MIRU10	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	MIRU24	MIRU26	MIRU27	MIRU31	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB17			?-169		2	2	2	5	2	1	2	1	1	1	1	5	3	2	2				? ? ? ? ?	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	Mtbc15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	MIRU40	960	MIRU10	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	MIRU24	MIRU26	MIRU27	MIRU31	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB18			?-15		2	2	3	3	3	2	2	2	5	1	5	3	2	2					? ? ? ? ?	
0.0833	2111/99	M. tuberculosis	UgandaI	32-15		2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2					52	s s s s s		
0.0833	1571/99	M. tuberculosis	UgandaI	37-15		2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2					78	s s s s s		
0.1667	2169/99	M. tuberculosis	UgandaI	29-15		2	2	2	3	2	2	5	1	4	3	2	2						s s s r s		
0.1667	2331/99	M. tuberculosis	UgandaI	30-15		2	2	2	3	2	2	5	1	5	3	4	2						s s s s s		
0.1667	2333/99	M. tuberculosis	UgandaI	30-15		2	2	2	3	2	2	5	1	5	3	4	2						s s s s s		

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	Mtbc15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	MIRU40	960	MIRU10	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	MIRU24	MIRU26	MIRU27	MIRU31	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB19			?-1993		2	2	-	4	-	-	5	1	5	3	-	2							? ? ? ? ?	
0.0	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26		2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2					61	s s s s s		
0.0	3686/03	M. tuberculosis	Haarlem	92-15		2	2	2	4	3	2	5	1	5	3	3	2					47	s s s s s		
0.0	4412/04	M. tuberculosis	X	142-15		2	2	5	4	3	2	5	1	5	3	3	2					119	s s s s s		
0.0	9787/04	M. tuberculosis	X	142-15		2	2	5	4	3	2	5	1	5	3	3	2					119	s s s s s		
0.125	2331/99	M. tuberculosis	UgandaI	30-15		2	2	2	3	2	2	5	1	5	3	4	2						s s s s s		

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	Mtbc15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	MIRU40	960	MIRU10	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	MIRU24	MIRU26	MIRU27	MIRU31	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB20			?-76		2	3	4	2	1	3	1	5	3	1	2								? ? ? ? ?	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	Mtbc15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	MIRU40	960	MIRU10	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	MIRU24	MIRU26	MIRU27	MIRU31	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB21			?-?		2	2	-	4	-	-	1	-	-	-	2								? ? ? ? ?	
0.0	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26		2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2					61	s s s s s		
0.0	4217/02	M. tuberculosis	Haarlem	84-28		2	2	2	4	3	2	2	1	5	3	3	2					1586	? ? ? ? ?		
0.0	6946/03	M. tuberculosis	Haarlem	84-28		2	2	2	4	3	2	2	1	5	3	3	2					1586	s s s s s		
0.0	3686/03	M. tuberculosis	Haarlem	92-15		2	2	2	4	3	2	5	1	5	3	3	2					47	s s s s s		
0.0	3995/03	M. tuberculosis	LAM	123-53		2	2	4	4	3	2	6	1	5	3	3	2					376	s s s s s		

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	Mtbc15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	MIRU40	960	MIRU10	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	MIRU24	MIRU26	MIRU27	MIRU31	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB22			?-169		2	2	4	3	2	2	1	4	3	2	2								? ? ? ? ?	
0.1667	2169/99	M. tuberculosis	UgandaI	29-15		2	2	2	3	2	2	5	1	4	3	2	2							s s s r s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	Mtbc15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	MIRU40	960	MIRU10	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	MIRU24	MIRU26	MIRU27	MIRU31	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB23			?-170		1	2	2	4	1	1	6	1	5	3	2	2								? ? ? ? ?

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	Mtbc15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	MIRU40	960	MIRU10	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	MIRU24	MIRU26	MIRU27	MIRU31	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB24			?-170		1	2	2	4	1	1	6	1	5	3	2	2								? ? ? ? ?

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	Mtbc15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	MIRU40	960	MIRU10	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	MIRU24	MIRU26	MIRU27	MIRU31	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB25			?-29		2	2	3	6	2	2	5	1	5	1	3	2							? ? ? ? ?	
0.1667	3342/02	M. tuberculosis	Haarlem	86-29		2	2	3	5	3	2	5	1	5	1	3	2							r s r r s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	Mtbc15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	MIRU40	960	MIRU10	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	MIRU24	MIRU26	MIRU27	MIRU31	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB26			?-175		2	2	3	3	2	2	6	1	7	3	5	3							? ? ? ? ?	
0.1667	3243/02	M. tuberculosis	Beijing	98-32		2	2	3	3	3	2	5	1	7	3	5	3					1	r r r r s		
0.1667	4436/02	M. tuberculosis	Beijing	100-32		2	2	3	3	3	2	5	1	7	3	5	3					1	r r s s s		
0.1667	7936/01	M. tuberculosis	Delhi/CAS	144-62		2	2	3	5	2	2	6	1	7	3	5	2					1092	s s s s s		
0.1667	7746/01	M. tuberculosis	Delhi/CAS	150-32		2	2	3	6	2	2	5	1	7	3	5	3					26	s r s s s		

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	Mtbc15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	MIRU40	960	MIRU10	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	MIRU24	MIRU26	MIRU27	MIRU31	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB27			?-15		2	1	3	5	2	2	5	1	5	3	4	2							? ? ? ? ?	
0.1667	2111/99	M. tuberculosis	UgandaI	32-15		2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2					52	s s s s s		
0.1667	1571/99	M. tuberculosis	UgandaI	37-15		2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2					78	s s s s s		

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	Mtbc15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	MIRU40	960	MIRU10	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	MIRU24	MIRU26	MIRU27	MIRU31	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB28			?-331		2	2	5	2	3	5	1	5	3	4	2								? ? ? ? ?	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15- g	MLVA														SpolDB4 ST	RD Gagneux's INH SM EMB RMP PZA Lineage	IS 6110 RFLP patt			
					154	154	580	580	802	802	960	960	1544	1544	2053	2053	2687	2687				2936	2936	3007
user strain	TB29			?-15	2	2	3	5	2	2	5	1	5	3	4	2			?	?	?	?	?	
0.0833	2111/99	M. tuberculosis	UgandaI	32-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2	52		s	s	s	s	s	s
0.0833	1571/99	M. tuberculosis	UgandaI	37-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2	78		s	s	s	s	s	s
0.1667	2331/99	M. tuberculosis	UgandaI	30-15	2	2	2	3	2	2	5	1	5	3	4	2			s	s	s	s	s	s
0.1667	2333/99	M. tuberculosis	UgandaI	30-15	2	2	2	3	2	2	5	1	5	3	4	2			s	s	s	s	s	s
0.1667	2263/99	M. tuberculosis	UgandaI	33-15	2	2	3	3	2	2	5	1	4	3	4	2	52		s	s	s	s	s	s

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15- g	MLVA														SpolDB4 ST	RD Gagneux's INH SM EMB RMP PZA Lineage	IS 6110 RFLP patt			
					154	154	580	580	802	802	960	960	1544	1544	2053	2053	2687	2687				2936	2936	3007
user strain	TB30			?-331	2	2	3	5	2	3	5	1	5	3	4	2			?	?	?	?	?	
0.1667	2111/99	M. tuberculosis	UgandaI	32-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2	52		s	s	s	s	s	s
0.1667	1571/99	M. tuberculosis	UgandaI	37-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2	78		s	s	s	s	s	s

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15- g	MLVA														SpolDB4 ST	RD Gagneux's INH SM EMB RMP PZA Lineage	IS 6110 RFLP patt			
					154	154	580	580	802	802	960	960	1544	1544	2053	2053	2687	2687				2936	2936	3007
user strain	TB31			?-15	2	2	3	6	3	2	5	1	5	3	3	2			?	?	?	?	?	
0.0833	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s	s
0.0833	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	487		s	s	s	s	s	s
0.0833	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		?	?	?	?	?	
0.0833	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s	s
0.0833	4192/03	M. tuberculosis	Haarlem	89-15	2	2	3	2	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s	s

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15- g	MLVA														SpolDB4 ST	RD Gagneux's INH SM EMB RMP PZA Lineage	IS 6110 RFLP pa			
					154	154	580	580	802	802	960	960	1544	1544	2053	2053	2687	2687				2936	2936	3007
user strain	TB32			?-1993	2	2	3	5	3	-	5	1	5	3	3	2			?	?	?	?	?	
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s	s
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	487		s	s	s	s	s	s
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		?	?	?	?	?	
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s	s
0.0909	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2	61		s	s	s	s	s	s

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15- g	MLVA														SpolDB4 ST	RD Gagneux's INH SM EMB RMP PZA Lineage	IS 6110 RFLP pa			
					154	154	580	580	802	802	960	960	1544	1544	2053	2053	2687	2687				2936	2936	3007
user strain	TB33			?-1993	2	2	3	5	3	-	5	1	5	3	3	2			?	?	?	?	?	
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s	s
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	487		s	s	s	s	s	s
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		?	?	?	?	?	
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s	s
0.0909	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2	61		s	s	s	s	s	s

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15- g	MLVA														SpolDB4 ST	RD Gagneux's INH SM EMB RMP PZA Lineage	IS 6110 RFLP p			
					154	154	580	580	802	802	960	960	1544	1544	2053	2053	2687	2687				2936	2936	3007
user strain	TB34			?-26	2	2	3	5	3	1	5	1	5	3	3	2			?	?	?	?	?	
0.0833	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2	61		s	s	s	s	s	s
0.0833	10439/01	M. tuberculosis	Cameroon	73-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2	61		s	s	s	s	s	s
0.0833	10481/01	M. tuberculosis	Cameroon	74-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2			s	s	s	s	s	s
0.0833	1417/02	M. tuberculosis	Cameroon	75-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2			s	s	s	s	s	s
0.0833	5429/02	M. tuberculosis	Cameroon	77-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2	61		s	s	s	s	s	s

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15- g	MLVA														SpolDB4 ST	RD Gagneux's INH SM EMB RMP PZA Lineage	IS 6110 RFLP pa			
					154	154	580	580	802	802	960	960	1544	1544	2053	2053	2687	2687				2936	2936	3007
user strain	TB35			?-?	2	2	3	5	3	5	1	5	3	3	-			?	?	?	?	?		
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s	s
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	487		s	s	s	s	s	s
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		?	?	?	?	?	
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		s	s	s	s	s	s
0.1	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2	61		s	s	s	s	s	s

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15- g	MLVA														SpolDB4 ST	RD Gagneux's INH SM EMB RMP PZA Lineage	IS 6110 RFLP p			
					154	154	580	580	802	802	960	960	1544	1544	2053	2053	2687	2687				2936	2936	3007
user strain	TB36			?-15	2	2	4	3	3	2	5	1	5	3	3	2			?	?	?	?	?	
0.0833	2151/03	M. tuberculosis	S	133-15	2	3	4	3	3	2	5	1	5	3	3	2	71		s	s	s	s	s	s
0.1667	2224/99	M. tuberculosis	UgandaI	34-16	2	2	2	3	3	2	5	1	5	3	5	2	125		s	r	s	s	s	s
0.1667	2201/99	M. tuberculosis	UgandaI	36-17	2	2	2	3	3	2	5	1	5	3	4	2			r	r	s	r	s	s
0.1667	10439/01	M. tuberculosis	Cameroon	73-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2	61		s	s	s	s	s	s
0.1667	10481/01	M. tuberculosis	Cameroon	74-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2			s	s	s	s	s	s

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15- g	MLVA														SpolDB4 ST	RD Gagneux's INH SM EMB RMP PZA Lineage	IS 6110 RFLP patte		
					154	154	580	580	802	802	960	960	1544	1544	2053	2053	2687	2687				2936	2936

0.1429	1657/03	M. tuberculosis	URAL	160-15	2	2	2	9	2	2	5	1	1	3	3	2	35	s	s	s	s	s	
0.1429	2679/03	M. tuberculosis	URAL	161-15	2	3	2	9	2	2	5	1	1	3	3	2	35	s	s	s	s	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	960	MIRU10	960	MIRU16	2053	MIRU20	2053	MIRU23	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3007	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB50		??		1	3	7	2	2	5	1	1	3	3	1														?	?	?	?	?

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	960	MIRU10	960	MIRU16	2053	MIRU20	2053	MIRU23	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3007	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB51		??		1	4	4	2	1	5	1	1	3	3	0														?	?	?	?	?

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	960	MIRU10	960	MIRU16	2053	MIRU20	2053	MIRU23	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3007	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB52		??		1	3	5	2	-	-	1	2	3	3	1														?	?	?	?	?

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	960	MIRU10	960	MIRU16	2053	MIRU20	2053	MIRU23	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3007	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB53		??-1016		1	4	4	2	1	5	1	2	3	3	1														?	?	?	?	?

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	960	MIRU10	960	MIRU16	2053	MIRU20	2053	MIRU23	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3007	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB54		??		1	1	3	5	2	-	-	1	3	3	-														?	?	?	?	?

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	960	MIRU10	960	MIRU16	2053	MIRU20	2053	MIRU23	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3007	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB01		??		2	2	3	4	1	2	5	1	6	1	3	2													?	?	?	?	?

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	960	MIRU10	960	MIRU16	2053	MIRU20	2053	MIRU23	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3007	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB02		??		2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2													?	?	?	?	?
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50	s	s	s	s	s	
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											487	s	s	s	s	s	
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50	?	?	?	?	?	
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50	s	s	s	s	s	
0.0833	3342/02	M. tuberculosis	Haarlem	86-29	2	2	3	5	3	2	5	1	5	1	3	2												r	s	r	r	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	960	MIRU10	960	MIRU16	2053	MIRU20	2053	MIRU23	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3007	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB03		??		2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2													?	?	?	?	?
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50	s	s	s	s	s	
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											487	s	s	s	s	s	
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50	?	?	?	?	?	
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50	s	s	s	s	s	
0.0833	3342/02	M. tuberculosis	Haarlem	86-29	2	2	3	5	3	2	5	1	5	1	3	2												r	s	r	r	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	960	MIRU10	960	MIRU16	2053	MIRU20	2053	MIRU23	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3007	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB04		??		2	2	1	2	3	-	6	1	7	3	3	2													?	?	?	?	?

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	960	MIRU10	960	MIRU16	2053	MIRU20	2053	MIRU23	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3007	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB05		??		2	2	-	4	3	-	3	1	5	3	3	2													?	?	?	?	?
0.1	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2											61	s	s	s	s	s	
0.1	4217/02	M. tuberculosis	Haarlem	84-28	2	2	2	4	3	2	2	1	5	3	3	2											1586	?	?	?	?	?	
0.1	12637/02	M. tuberculosis	Haarlem	90-31	2	2	3	5	3	2	3	1	5	3	3	2											2	s	s	s	s	s	
0.1	3103/03	M. tuberculosis	Haarlem	91-31	2	2	3	5	3	2	3	1	5	3	3	2											2	s	s	s	s	s	
0.1	6946/03	M. tuberculosis	Haarlem	84-28	2	2	2	4	3	2	2	1	5	3	3	2											1586	s	s	s	s	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	960	MIRU10	960	MIRU16	2053	MIRU20	2053	MIRU23	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3007	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern				
user strain	TB06		??		2	2	3	3	2	6	1	5	3	3	2														?	?	?	?	?	
0.0909	5390/02	M. tuberculosis	Cameroon	76-26	2	2	3	3	2	1	5	1	5	3	3	2												61	s	s	s	s	s	
0.0909	10438/01	M. tuberculosis	Cameroon	79-26	2	2	3	3	2	1	5	1	5	3	3	2												61	s	s	s	s	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	960	MIRU10	960	MIRU16	2053	MIRU20	2053	MIRU23	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3007	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
user strain	TB07		??		2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2													?	?	?	?	?
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50	s	s	s	s	s	
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											487	s	s	s	s	s	
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50	?	?	?	?	?	



0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50	s	s	s	s	s	
0.0833	3342/02	M. tuberculosis	Haarlem	86-29	2	2	3	5	3	2	5	1	5	1	3	2		r	s	r	r	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	802	MIRU40	960	MIRU10	1644	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	2687	MIRU24	2936	MIRU26	3007	MIRU27	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP p				
	user strain	TB08		??	2	2	3	4	2	5	1	5	3	3	2																			
0.0909	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2											61		s	s	s	s	s	
0.0909	5390/02	M. tuberculosis	Cameroon	76-26	2	2	3	3	2	1	5	1	5	3	3	2											61		s	s	s	s	s	
0.0909	10438/01	M. tuberculosis	Cameroon	79-26	2	2	3	3	2	1	5	1	5	3	3	2											61		s	s	s	s	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	802	MIRU40	960	MIRU10	1644	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	2687	MIRU24	2936	MIRU26	3007	MIRU27	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
	user strain	TB09		??	2	2	3	3	3	-	6	1	3	3	3	2																	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	802	MIRU40	960	MIRU10	1644	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	2687	MIRU24	2936	MIRU26	3007	MIRU27	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pa				
	user strain	TB10		??	2	2	3	5	3																									
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50		s	s	s	s	s	
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											487		s	s	s	s	s	
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50		?	?	?	?	?	
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50		s	s	s	s	s	
0.0909	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2											61		s	s	s	s	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	802	MIRU40	960	MIRU10	1644	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	2687	MIRU24	2936	MIRU26	3007	MIRU27	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pa				
	user strain	TB11		??	2	2	3	5	3	-	5	1	5	3	3	2																		
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50		s	s	s	s	s	
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											487		s	s	s	s	s	
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50		?	?	?	?	?	
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50		s	s	s	s	s	
0.0909	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2											61		s	s	s	s	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	802	MIRU40	960	MIRU10	1644	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	2687	MIRU24	2936	MIRU26	3007	MIRU27	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pa				
	user strain	TB12		??	2	2	4	3	2	5	1	5	3	3	2																			
0.0	3686/03	M. tuberculosis	Haarlem	92-15	2	2	2	4	3	2	5	1	5	3	3	2											47		s	s	s	s	s	
0.0	4412/04	M. tuberculosis	X	142-15	2	2	5	4	3	2	5	1	5	3	3	2											119		s	s	s	s	s	
0.0	9787/04	M. tuberculosis	X	142-15	2	2	5	4	3	2	5	1	5	3	3	2											119		s	s	s	s	s	
0.0909	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2											61		s	s	s	s	s	
0.0909	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50		s	s	s	s	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	802	MIRU40	960	MIRU10	1644	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	2687	MIRU24	2936	MIRU26	3007	MIRU27	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pat				
	user strain	TB13		??	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	2																		
0.0	8490/00	M. bovis	Bovis	5-6	2	4	2	2	4	2	4	1	3	3	3	2											482		s	s	s	s	r	
0.0	2176/99	M. tuberculosis	UgandaII	21-13	2	2	1	3	3	1	5	1	4	3	3	2													s	s	s	s	s	
0.0	2253/99	M. tuberculosis	UgandaII	22-13	2	2	4	3	3	1	5	1	4	3	4	2													s	s	s	s	s	
0.0	2191/99	M. tuberculosis	UgandaII	23-13	2	2	3	3	3	1	5	1	4	3	4	2											420		s	s	s	s	s	
0.0	2379/99	M. tuberculosis	UgandaII	24-13	2	2	3	3	3	1	5	1	4	3	4	2											420		s	r	s	s	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	802	MIRU40	960	MIRU10	1644	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	2687	MIRU24	2936	MIRU26	3007	MIRU27	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP patt				
	user strain	TB14		??	2	2	4	5	3	2	5	1	6	3	3	2																		
0.1667	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50		s	s	s	s	s	
0.1667	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											487		s	s	s	s	s	
0.1667	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50		?	?	?	?	?	
0.1667	9400/02	M. tuberculosis	Haarlem	87-30	2	2	4	5	3	2	4	1	5	3	3	2											50		?	?	?	?	?	
0.1667	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50		s	s	s	s	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	802	MIRU40	960	MIRU10	1644	MIRU16	2053	MIRU20	MIRU23	2687	MIRU24	2936	MIRU26	3007	MIRU27	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP patt				
	user strain	TB15		??	2	2	4	5	3	2	5	1	6	3	3	2																		
0.1667	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											50		s	s	s	s	s	
0.1667	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2											487		s	s	s	s	s	
0.1667	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5																										

0.1667	2111/99	M. tuberculosis	UgandaI	32-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2	52	s	s	s	s	s	
0.1667	1571/99	M. tuberculosis	UgandaI	37-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2	78	s	s	s	s	s	
0.1667	8577/03	M. tuberculosis	URAL	163-15	2	2	3	7	2	2	5	1	1	3	2	2	262	s	s	s	s	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MTR-U02	580 MTR-U04	960 MTR-U40	960 MTR-U10	960 MTR-U16	2053 MTR-U20	2687 MTR-U23	2687 MTR-U24	3007 MTR-U26	3007 MTR-U27	4348 MTR-U31	4348 MTR-U39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH	SM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB17		?	?	2	2	5	2	1	2	1	1	5	3	2	2			?	?	?	?	?	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MTR-U02	580 MTR-U04	960 MTR-U40	960 MTR-U10	960 MTR-U16	2053 MTR-U20	2687 MTR-U23	2687 MTR-U24	3007 MTR-U26	3007 MTR-U27	4348 MTR-U31	4348 MTR-U39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH	SM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB18		?	?	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	2	2			?	?	?	?	?	
0.0833	2111/99	M. tuberculosis	UgandaI	32-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2	52	s	s	s	s	s	s	
0.0833	1571/99	M. tuberculosis	UgandaI	37-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2	78	s	s	s	s	s	s	
0.1667	2169/99	M. tuberculosis	UgandaI	29-15	2	2	2	3	2	2	5	1	4	3	2	2			s	s	s	r	s	
0.1667	2331/99	M. tuberculosis	UgandaI	30-15	2	2	2	3	2	2	5	1	5	3	4	2			s	s	s	s	s	
0.1667	2333/99	M. tuberculosis	UgandaI	30-15	2	2	2	3	2	2	5	1	5	3	4	2			s	s	s	s	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MTR-U02	580 MTR-U04	960 MTR-U40	960 MTR-U10	960 MTR-U16	2053 MTR-U20	2687 MTR-U23	2687 MTR-U24	3007 MTR-U26	3007 MTR-U27	4348 MTR-U31	4348 MTR-U39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH	SM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB19		?	?	2	2	-	4	-	-	5	1	5	3	-	2			?	?	?	?	?	
0.0	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2	61	s	s	s	s	s	s	
0.0	3686/03	M. tuberculosis	Haarlem	92-15	2	2	2	4	3	2	5	1	5	3	3	2	47	s	s	s	s	s	s	
0.0	4412/04	M. tuberculosis	X	142-15	2	2	5	4	3	2	5	1	5	3	3	2	119	s	s	s	s	s	s	
0.0	9787/04	M. tuberculosis	X	142-15	2	2	5	4	3	2	5	1	5	3	3	2	119	s	s	s	s	s	s	
0.125	2331/99	M. tuberculosis	UgandaI	30-15	2	2	2	3	2	2	5	1	5	3	4	2			s	s	s	s	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MTR-U02	580 MTR-U04	960 MTR-U40	960 MTR-U10	960 MTR-U16	2053 MTR-U20	2687 MTR-U23	2687 MTR-U24	3007 MTR-U26	3007 MTR-U27	4348 MTR-U31	4348 MTR-U39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH	SM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB20		?	?	2	3	4	2	1	3	1	5	3	1	2				?	?	?	?	?	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MTR-U02	580 MTR-U04	960 MTR-U40	960 MTR-U10	960 MTR-U16	2053 MTR-U20	2687 MTR-U23	2687 MTR-U24	3007 MTR-U26	3007 MTR-U27	4348 MTR-U31	4348 MTR-U39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH	SM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB21		?	?	2	2	-	4	-	-	1	-	-	-	2				?	?	?	?	?	
0.0	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2	61	s	s	s	s	s	s	
0.0	4217/02	M. tuberculosis	Haarlem	84-28	2	2	2	4	3	2	2	1	5	3	3	2	1586	?	?	?	?	?	?	
0.0	6946/03	M. tuberculosis	Haarlem	84-28	2	2	2	4	3	2	2	1	5	3	3	2	1586	s	s	s	s	s	s	
0.0	3686/03	M. tuberculosis	Haarlem	92-15	2	2	2	4	3	2	5	1	5	3	3	2	47	s	s	s	s	s	s	
0.0	3995/03	M. tuberculosis	LAM	123-53	2	2	4	4	3	2	6	1	5	3	3	2	376	s	s	s	s	s	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MTR-U02	580 MTR-U04	960 MTR-U40	960 MTR-U10	960 MTR-U16	2053 MTR-U20	2687 MTR-U23	2687 MTR-U24	3007 MTR-U26	3007 MTR-U27	4348 MTR-U31	4348 MTR-U39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH	SM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB22		?	?	2	2	4	3	2	2	1	1	4	3	2	2			?	?	?	?	?	
0.1667	2169/99	M. tuberculosis	UgandaI	29-15	2	2	2	3	2	2	5	1	4	3	2	2			s	s	s	r	s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MTR-U02	580 MTR-U04	960 MTR-U40	960 MTR-U10	960 MTR-U16	2053 MTR-U20	2687 MTR-U23	2687 MTR-U24	3007 MTR-U26	3007 MTR-U27	4348 MTR-U31	4348 MTR-U39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH	SM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB23		?	?	1	2	2	4	1	1	6	1	5	3	2	2			?	?	?	?	?	



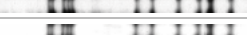


Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MTR-U02	580 MTR-U04	960 MTR-U40	960 MTR-U10	960 MTR-U16	2053 MTR-U20	2687 MTR-U23	2687 MTR-U24	3007 MTR-U26	3007 MTR-U27	4348 MTR-U31	4348 MTR-U39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH	SM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB24		?	?	1	2	2	4	1	1	6	1	5	3	2	2			?	?	?	?	?	



Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MTR-U02	580 MTR-U04	960 MTR-U40	960 MTR-U10	960 MTR-U16	2053 MTR-U20	2687 MTR-U23	2687 MTR-U24	3007 MTR-U26	3007 MTR-U27	4348 MTR-U31	4348 MTR-U39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH	SM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB25		?	?	2	2	3	6	2	2	5	1	5	1	3	2			?	?	?	?	?	
0.1667	3342/02	M. tuberculosis	Haarlem	86-29	2	2	3	5	3	2	5	1	5	1	3	2			r	s	r	r	s	



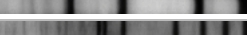


Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MTR-U02	580 MTR-U04	960 MTR-U40	960 MTR-U10	960 MTR-U16	2053 MTR-U20	2687 MTR-U23	2687 MTR-U24	3007 MTR-U26	3007 MTR-U27	4348 MTR-U31	4348 MTR-U39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH	SM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB26		?	?	2	2	3	3	2	2	6	1	7	3	5	3			?	?	?	?	?	
0.1667	3243/02	M. tuberculosis	Beijing	98-32	2	2	3	3	3	2	5	1	7	3	5	3	1		r	r	r	r	s	
0.1667	4436/02	M. tuberculosis	Beijing	100-32	2	2	3	3	3	2	5	1	7	3	5	3	1		r	r	s	s	s	
0.1667	7936/01	M. tuberculosis	Delhi/CAS	144-62	2	2	3	5	2	2	6	1	7	3	5	2	1092	s	s	s	s	s	s	
0.1667	7746/01	M. tuberculosis	Delhi/CAS	150-32	2	2	3	6	2	2	5	1	7	3	5	3	26	s	r	s	s	s	s	



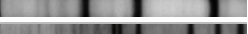
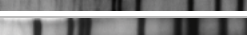

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MTR-U02	580 MTR-U04	960 MTR-U40	960 MTR-U10	960 MTR-U16	2053 MTR-U20	2687 MTR-U23	2687 MTR-U24	3007 MTR-U26	3007 MTR-U27	4348 MTR-U31	4348 MTR-U39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH	SM	EMB	RMP	PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB27		?	?	2	1	3	5	2	2	5	1	5	3	4	2			?	?	?	?	?	
0.1667	2111/99	M. tuberculosis	UgandaI	32-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2	52	s	s	s	s	s	s	
0.1667	1571/99	M. tuberculosis	UgandaI	37-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2	78	s	s	s	s	s	s	




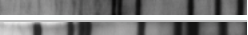

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	581 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	960 MIRU10	2053 MIRU16	2053 MIRU16	2687 MIRU20	2687 MIRU20	2687 MIRU23	2687 MIRU24	2687 MIRU24	2687 MIRU26	3007 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU31	4348 MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB28			?-?	2	2	5	5	2	3	3	5	1	5	3	4	2										? ? ? ? ?


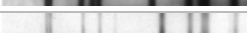



Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	581 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	960 MIRU10	2053 MIRU16	2053 MIRU16	2687 MIRU20	2687 MIRU23	2687 MIRU24	2687 MIRU24	2687 MIRU26	3007 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU31	4348 MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern	
user strain	TB29			?-?	2	2	3	5	2	2	5	1	5	3	4	2											? ? ? ? ?
0.0833	2111/99	M. tuberculosis	UgandaI	32-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2								52		s s s s s	
0.0833	1571/99	M. tuberculosis	UgandaI	37-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2								78		s s s s s	
0.1667	2331/99	M. tuberculosis	UgandaI	30-15	2	2	2	3	2	2	5	1	5	3	4	2										s s s s s	
0.1667	2333/99	M. tuberculosis	UgandaI	30-15	2	2	2	3	2	2	5	1	5	3	4	2										s s s s s	
0.1667	2263/99	M. tuberculosis	UgandaI	33-15	2	2	3	3	2	2	5	1	4	3	4	2										s s s s s	


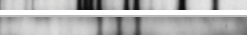
Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	581 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	960 MIRU10	2053 MIRU16	2053 MIRU16	2687 MIRU20	2687 MIRU23	2687 MIRU24	2687 MIRU24	2687 MIRU26	3007 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU31	4348 MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern	
user strain	TB30			?-?	2	2	3	5	2	3	5	1	5	3	4	2											? ? ? ? ?
0.1667	2111/99	M. tuberculosis	UgandaI	32-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2								52		s s s s s	
0.1667	1571/99	M. tuberculosis	UgandaI	37-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2								78		s s s s s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	581 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	960 MIRU10	2053 MIRU16	2053 MIRU16	2687 MIRU20	2687 MIRU23	2687 MIRU24	2687 MIRU24	2687 MIRU26	3007 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU31	4348 MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern	
user strain	TB31			?-?	2	2	3	6	3	2	5	1	5	3	3	2											? ? ? ? ?
0.0833	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2								50		s s s s s	
0.0833	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2								487		s s s s s	
0.0833	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2								50		? ? ? ? ?	
0.0833	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2								50		s s s s s	
0.0833	4192/03	M. tuberculosis	Haarlem	89-15	2	2	3	2	3	2	5	1	5	3	3	2								50		s s s s s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	581 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	960 MIRU10	2053 MIRU16	2053 MIRU16	2687 MIRU20	2687 MIRU23	2687 MIRU24	2687 MIRU24	2687 MIRU26	3007 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU31	4348 MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern	
user strain	TB32			?-?	2	2	3	5	3	-	5	1	5	3	3	2											? ? ? ? ?
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2								50		s s s s s	
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2								487		s s s s s	
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2								50		? ? ? ? ?	
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2								50		s s s s s	
0.0909	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2								61		s s s s s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	581 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	960 MIRU10	2053 MIRU16	2053 MIRU16	2687 MIRU20	2687 MIRU23	2687 MIRU24	2687 MIRU24	2687 MIRU26	3007 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU31	4348 MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern	
user strain	TB33			?-?	2	2	3	5	3	-	5	1	5	3	3	2											? ? ? ? ?
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2								50		s s s s s	
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2								487		s s s s s	
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2								50		? ? ? ? ?	
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2								50		s s s s s	
0.0909	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2								61		s s s s s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	581 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	960 MIRU10	2053 MIRU16	2053 MIRU16	2687 MIRU20	2687 MIRU23	2687 MIRU24	2687 MIRU24	2687 MIRU26	3007 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU31	4348 MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern	
user strain	TB34			?-?	2	2	3	5	3	1	5	1	5	3	3	2											? ? ? ? ?
0.0833	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2								61		s s s s s	
0.0833	10439/01	M. tuberculosis	Cameroon	73-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2								61		s s s s s	
0.0833	10481/01	M. tuberculosis	Cameroon	74-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2										s s s s s	
0.0833	1417/02	M. tuberculosis	Cameroon	75-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2										s s s s s	
0.0833	5429/02	M. tuberculosis	Cameroon	77-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2								61		s s s s s	

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154 MIRU02	580 MIRU04	581 MIRU04	802 MIRU40	960 MIRU10	960 MIRU10	2053 MIRU16	2053 MIRU16	2687 MIRU20	2687 MIRU23	2687 MIRU24	2687 MIRU24	2687 MIRU26	3007 MIRU26	3007 MIRU27	3192 MIRU31	4348 MIRU31	4348 MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern	
user strain	TB35			?-?	2	2	3	5	3		5	1	5	3	3	-											? ? ? ? ?
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2								50		s s s s s	
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2								487		s s s s s	
0.0																											

0.1667 10481/01 M. tuberculosis Cameroon 74-26 2 2 3 3 3 1 5 1 5 3 3 2 s s s s s

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA													SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	RD Gagneux's INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
					154	580	580	802	960	960	1644	2053	2053	2687	2687	2996	2996					3007	3007	3192
user strain	TB37			??	1	2	2	4	3	3	-	6	1	5	3	3	2							
0.0909	9953/04	M. tuberculosis	X	143-62	2	2	2	4	3	2	6	1	5	3	3	2		s	s	s	s	s		

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA													SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	RD Gagneux's INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
					154	580	580	802	960	960	1644	2053	2053	2687	2687	2996	2996					3007	3007	3192
user strain	TB38			??	2	2	3	5	3	3	-	1	5	3	3	2								
0.0	2336/02	M. tuberculosis	Haarlem	82-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50	s	s	s	s	s		
0.0	4130/02	M. tuberculosis	Haarlem	83-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	487	s	s	s	s	s		
0.0	4993/02	M. tuberculosis	Haarlem	85-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50		?	?	?	?	?	
0.0	9532/03	M. tuberculosis	Haarlem	88-15	2	2	3	5	3	2	5	1	5	3	3	2	50	s	s	s	s	s		
0.0	12637/02	M. tuberculosis	Haarlem	90-31	2	2	3	5	3	2	3	1	5	3	3	2	2	s	s	s	s	s		

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA													SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	RD Gagneux's INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
					154	580	580	802	960	960	1644	2053	2053	2687	2687	2996	2996					3007	3007	3192
user strain	TB39			??	2	2	4	3	3	-	5	1	5	3	3	2								
0.0909	10439/01	M. tuberculosis	Cameroon	73-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2	61	s	s	s	s	s		
0.0909	10481/01	M. tuberculosis	Cameroon	74-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2		s	s	s	s	s		
0.0909	1417/02	M. tuberculosis	Cameroon	75-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2		s	s	s	s	s		
0.0909	5429/02	M. tuberculosis	Cameroon	77-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2	61	s	s	s	s	s		
0.0909	1428/02	M. tuberculosis	Cameroon	78-26	2	2	3	3	3	1	5	1	5	3	3	2	61	s	s	s	s	s		

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA													SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	RD Gagneux's INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
					154	580	580	802	960	960	1644	2053	2053	2687	2687	2996	2996					3007	3007	3192
user strain	TB40			??	-	4	3	-	6	1	5	3	-	2										
0.0	8078/03	M. tuberculosis	LAM	121-51	1	2	4	4	3	2	6	1	5	3	2	2	159	s	s	s	s	s		
0.0	3995/03	M. tuberculosis	LAM	123-53	2	2	4	4	3	2	6	1	5	3	3	2	376	s	s	s	s	s		
0.0	7968/03	M. tuberculosis	LAM	124-53	2	2	3	4	3	2	6	1	5	3	3	2	33	s	s	s	s	s		
0.0	9953/04	M. tuberculosis	X	143-62	2	2	2	4	3	2	6	1	5	3	3	2		s	s	s	s	s		
0.1429	5400/02	M. tuberculosis	Cameroon	72-26	2	2	3	4	3	1	5	1	5	3	3	2	61	s	s	s	s	s		

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA													SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	RD Gagneux's INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
					154	580	580	802	960	960	1644	2053	2053	2687	2687	2996	2996					3007	3007	3192
user strain	TB41			??	-	-	-	-	-	1	5	-	-	2										
0.0	2331/99	M. tuberculosis	UgandaI	30-15	2	2	2	3	2	2	5	1	5	3	4	2		s	s	s	s	s		
0.0	2111/99	M. tuberculosis	UgandaI	32-15	2	2	3	3	2	2	5	1	5	3	4	2	52	s	s	s	s	s		
0.0	2333/99	M. tuberculosis	UgandaI	30-15	2	2	2	3	2	2	5	1	5	3	4	2		s	s	s	s	s		
0.0	2224/99	M. tuberculosis	UgandaI	34-16	2	2	2	3	3	2	5	1	5	3	5	2	125	s	r	s	s	s		
0.0	2201/99	M. tuberculosis	UgandaI	36-17	2	2	2	3	3	2	5	1	5	3	4	2		r	r	s	r	s		

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA													SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
				??	154	580	580	802	960	960	1644	2053	2053	2687	2687	2996	2996	3007	3007	3192	4348	4348	4546	
user strain	TB42			??	1	1	3	5	2	2	6	1	1	3	1	1								

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA													SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
				??	154	580	580	802	960	960	1644	2053	2053	2687	2687	2996	2996	3007	3007	3192	4348	4348	4546	
user strain	TB43			??	1	1	2	5	2	1	5	1	1	1	2	1								

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA													SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
				??	154	580	580	802	960	960	1644	2053	2053	2687	2687	2996	2996	3007	3007	3192	4348	4348	4546	
user strain	TB44			??	1	1	2	-	2	-	6	1	4	3	-	1								

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA													SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
				??	154	580	580	802	960	960	1644	2053	2053	2687	2687	2996	2996	3007	3007	3192	4348	4348	4546	
user strain	TB45			??	1	1	2	5	2	1	6	1	2	2	1	1								

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA													SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
				??	154	580	580	802	960	960	1644	2053	2053	2687	2687	2996	2996	3007	3007	3192	4348	4348	4546	
user strain	TB46			??	1	1	-	2	1	5	1	3	2	3	1									

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA													SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
				??	154	580	580	802	960	960	1644	2053	2053	2687	2687	2996	2996	3007	3007	3192	4348	4348	4546	
user strain	TB47			??	1	2	4	2	2	5	1	1	3	3	1									

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	MLVA													SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern			
				??	154	580	580	802	960	960	1644	2053	2053	2687	2687	2996	2996	3007	3007	3192	4348	4348	4546	
user strain	TB48			??	-	1	5	2	2	-	2	-	3	3	-									

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9															SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern							
				154	MIRU02	580	MIRU04	878	MIRU04	960	MIRU10	1644	MIRU10	1644	MIRU16	2053	MIRU16	2053					MIRU20	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27
user strain	TB49			??	-	2	6	2	-	-	1	1	3	3	-														
0.1429	1657/03	M. tuberculosis	URAL	160-15	2	2	2	9	2	2	5	1	1	3	3	2													
0.1429	2679/03	M. tuberculosis	URAL	161-15	2	3	2	9	2	2	5	1	1	3	3	2													

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	878	MIRU04	960	MIRU10	1644	MIRU10	1644	MIRU16	2053	MIRU16	2053	MIRU20	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3132	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB50			??	1	3	7	2	2	5	1	1	3	3	1																			

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	878	MIRU04	960	MIRU10	1644	MIRU10	1644	MIRU16	2053	MIRU16	2053	MIRU20	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3132	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB51			??	1	4	4	2	1	5	1	1	3	3	0																			

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	878	MIRU04	960	MIRU10	1644	MIRU10	1644	MIRU16	2053	MIRU16	2053	MIRU20	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3132	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB52			??	1	3	5	2	-	-	1	2	3	3	1																			

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	878	MIRU04	960	MIRU10	1644	MIRU10	1644	MIRU16	2053	MIRU16	2053	MIRU20	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3132	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB53			??	1	4	4	2	1	5	1	2	3	3	1																			

Distance	ID	Species	Lineage	MLVA MtbC15-9	154	MIRU02	580	MIRU04	878	MIRU04	960	MIRU10	1644	MIRU10	1644	MIRU16	2053	MIRU16	2053	MIRU20	2687	MIRU24	2687	MIRU26	3007	MIRU27	3132	MIRU31	4348	MIRU39	SpoIDB4 ST	RD Gagneux's Lineage	INH SM EMB RMP PZA	IS 6110 RFLP pattern
user strain	TB54			??	1	1	3	5	2	-	-	1	3	3	-																			

