

13. Tipificación molecular de aislamientos clínicos de *Sporothrix* spp

Sindy Viviana Flórez-Muñoz¹, Juan Fernando Alzate², Ana Cecilia Mesa-Arango¹

INTRODUCCIÓN

Durante muchos años, se pensó que el agente etiológico de la esporotricosis era *Sporothrix schenckii* var. *schenckii* o *S. schenckii* var. *luriei*. Sin embargo, posteriormente, usando técnicas de biología molecular, se demostró que existían diferencias genéticas, fenotípicas, geográficas y de virulencia entre aislamientos clínicos o ambientales; diferencias que mediante estudios de sistemática molecular con la región ITS-1+5.8SADNr+ITS-2 o secuencias parciales de genes como el de la β -tubulina, la quitina sintasa o la calmodulina, confirmaron que *S. schenckii* es un complejo de especies crípticas integrado por *S. brasiliensis*, *S. schenckii* sensu stricto, *S. globosa* y *S. luriei*. Entre estas especies, además, se han observado diferencias en la susceptibilidad antifúngica. En consecuencia, es importante hacer una correcta identificación de los aislamientos clínicos en cada lugar. En Colombia, a pesar de que la esporotricosis es la micosis de inoculación más frecuente, no se han publicado estudios que describan las especies de *Sporothrix* que causan infección en humanos o en animales. Considerando lo anterior, el objetivo de este trabajo fue tipificar aislamientos clínicos de *Sporothrix* spp mediante un análisis filogenético con tres marcadores moleculares.

METODOLOGÍA

Se estudiaron 30 aislamientos clínicos de *Sporothrix* spp recolectados entre 1996 y 2010, en el Laboratorio de Micología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia, así como cuatro de la colección de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Para la identificación y el análisis taxonómico, se amplificó y secuenció la región ITS-1+5.8SADNr+ITS-2, el

fragmento que contiene los exones 3 y 4 del gen de la β -tubulina y el fragmento que contiene los exones 3 y 5 del gen de la calmodulina. Las secuencias obtenidas se editaron con el software FinchTV v 1.4.0., se construyeron alineamientos múltiples con cada marcador usando el software ClustalW y se corrigieron manualmente. Los análisis filogenéticos se realizaron usando el software MEGA v.7 con el modelo evolutivo de máxima verosimilitud, el método de sustitución Tamura 3 parámetros y 1000 bootstraps. Además, para el análisis se incluyeron secuencias *ex-tipo* del GenBank de las especies que conforman los complejos *S. schenckii* y *S. pallida*.

RESULTADOS ESPERADOS Y OBTENIDOS

El análisis filogenético con cada uno de los tres marcadores permitió agrupar 22 aislamientos en el clúster que incluía la secuencia *ex-tipo* de *S. schenckii* sensu stricto dentro del cual se observaron subgrupos: 3 con ITS-1+5.8SADNr+ITS-2 y 4 tanto con β -tubulina como con calmodulina. Sin embargo, se observó diferencia entre los soportes de las ramas siendo inferior al 70% con los dos primeros marcadores y mayor al 90% con el último. Los demás aislamientos (8) se ubicaron el clúster *S. globosa* con un soporte del superior al 80% con los tres marcadores.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES PRELIMINARES (SI SE TIENEN)

Adiferencia de lo observado por otros autores que consideran a ITS-1+5.8SADNr+ITS-2 como *barcoding* para la identificación de *Sporothrix* spp, nosotros observamos que este marcador tiene bajo poder resolutivo debido a que la rama que soporta la división entre *S. schenckii* sensu stricto y *S. globosa* tiene un *bootstrap* menor al 70%, de manera contraria el *bootstrap* con la secuencia parcial de la calmodulina fue del 91% lo que indica mayor poder resolutivo.

Por otra parte, los resultados de este estudio fueron similares a los de otros trabajos en donde también han observado subgrupos dentro de *S. schenckii* sensu stricto, posiblemente debido a la variabilidad genética demostrada dentro de especie.

¹ Grupo de Investigación Dermatológica (GRID), Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

² Grupo de Parasitología, Facultad de Medicina, Centro Nacional de secuenciación Genómica (CNSG), Sede de Investigación Universitaria-SIU, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Correspondencia: Sindy Viviana Flórez; sindy.florez@udea.edu.co