**INDICE**

[1. INTRODUCCIÓN 1](#_Toc434019256)

[1.1 Aspectos epidemiológicos de la Tuberculosis. 3](#_Toc434019257)

[1.2 Aspectos biológicos y estructurales de las Micobacterias: *Mycobacterium tuberculosis* 6](#_Toc434019258)

[1.3 Patogenia, inmunidad y manifestaciones clínicas de *Mycobacterium tuberculosis*. 9](#_Toc434019259)

[1.4 Diagnóstico 12](#_Toc434019260)

[1.4.1 Diagnóstico Inmunológico 12](#_Toc434019261)

[1.4.2 Diagnóstico Microbiológico 14](#_Toc434019262)

[1.4.3 Identificación molecular 19](#_Toc434019263)

[1.5 Tratamiento 22](#_Toc434019264)

[1.6 Epidemiología molecular 23](#_Toc434019265)

[1.6.1 Técnicas moleculares 24](#_Toc434019266)

[1.7 Filogenia global de *Mycobacterium tuberculosis* 30](#_Toc434019267)

[2. OBJETIVOS 35](#_Toc434019268)

[2.1 Objetivo general 38](#_Toc434019269)

[2.2 Objetivos específicos 38](#_Toc434019270)

[3. MATERIAL Y METODOS 39](#_Toc434019271)

[3.1 Origen del material biológico 41](#_Toc434019272)

[3.2 Mantenimiento y recuperación de los aislados 42](#_Toc434019273)

[3.3 Identificación molecular de aislados a nivel de especie (GenoType® MTBC) 43](#_Toc434019274)

[3.3.1 Extracción de ADN: 43](#_Toc434019275)

[3.3.2 Amplificación: 43](#_Toc434019276)

[3.3.3 Hibridación: 44](#_Toc434019277)

[3.4 Identificación del Complejo *Mycobacterium tuberculosis* mediante BD MGIT TBc Identification Test. 45](#_Toc434019278)

[3.5 Polimorfismo en la Longitud de Fragmentos Amplificados: AFLP 47](#_Toc434019279)

[3.5.1 Preparación de la biomasa y lisis celular 47](#_Toc434019280)

[3.5.2 Extracción de ADN genómico 48](#_Toc434019281)

[3.5.3 Cuantificación de la concentración de ADN 48](#_Toc434019282)

[3.5.4 Restricción enzimática 48](#_Toc434019283)

[3.5.5 Preparación de adaptadores de doble cadena 49](#_Toc434019284)

[3.5.6 Ligación de los adaptadores al ADN digerido e inactivación de la T4 ligasa 49](#_Toc434019285)

[3.5.7 Reacción en cadena de la polimerasa 49](#_Toc434019286)

[3.5.8 Electroforesis y visualización de los fragmentos amplificados 50](#_Toc434019287)

[3.5.9 Análisis e interpretación 50](#_Toc434019288)

[3.5.10 Estudio del poder discriminatorio de la técnica 51](#_Toc434019289)

[3.6 ENSAYO CON MIRUs – VNTR 52](#_Toc434019290)

[3.6.1 Reacción en cadena de la Polimerasa 53](#_Toc434019291)

[3.6.2 Electroforésis y visualización de los fragmentos amplificados 54](#_Toc434019292)

[3.6.3 Análisis e Interpretación 55](#_Toc434019293)

[3.6.4 Estudio del poder discriminatorio de la técnica 56](#_Toc434019294)

[4. RESULTADOS 59](#_Toc434019295)

[4.1 Descripción de la población en estudio 61](#_Toc434019296)

[4.1.1 Año de Aislamiento: 61](#_Toc434019297)

[4.1.2 Género: 61](#_Toc434019298)

[4.1.3 Edad: 62](#_Toc434019299)

[4.1.4 Origen de las muestras: 63](#_Toc434019300)

[4.2 Identificación fenotípica de los aislados clínicos 64](#_Toc434019301)

[4.3 Identificación molecular mediante Genotype® MTBC 65](#_Toc434019302)

[4.4 Identificación mediante ensayo BD MGIT TBc 67](#_Toc434019303)

[4.5 Estandarización de Técnicas de Genotipificación 68](#_Toc434019304)

[4.5.1 Análisis del polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (AFLP) 68](#_Toc434019305)

[4.5.2 MIRU-VNTR 76](#_Toc434019306)

[5. DISCUSION 101](#_Toc434019307)

[6. CONCLUSIONES 115](#_Toc434019308)

[7. BIBLIOGRAFIA 121](#_Toc434019309)