

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	10
I. INTRODUCCIÓN	11
1. Situación de la tuberculosis en Chile	12
2. Antecedentes históricos de la tuberculosis.....	12
3. Taxonomía y características generales de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	13
4. Epidemiología molecular de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	16
5. Técnicas de genotipificación de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	19
5.1 RFLP IS <i>6110</i>	19
5.2 Variable Number Tandem Repeat (VNTR)-Micobacterial Interspersed Repetitive Unit (MIRU)	20
5.3 Spoligotyping (Spacer Oligonucleotide Typing)	21
Secuenciación.....	22
6. Base de Datos	22
6.1 MIRU-VNTRplus	23
6.2 SITVITWEB	23
Novedad Científica.....	25
Valor práctico.....	25
II. HIPOTESIS	26
III. OBJETIVOS	26
Objetivo General	26
Objetivos Específicos.....	26
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	27
1. Caracterización de las cepas del cMtb.	27
a) Obtención de cepas de cMtb.	27
b) Extracción de DNA.....	28
c) Identificación del cMtb	28
2. Genotipificación por MIRU-VNTRs	29
Secuenciación MIRU-VNTR.....	31
3. Genotipificación por Spoligotyping.....	31
4. Bases de datos	32

V. RESULTADOS	33
1. Identificación del Complejo <i>M. tuberculosis</i>	33
2. Análisis de MIRU- VNTR	33
3. Análisis de espoligotipo	39
4. Base de datos.....	42
5. Linajes	42
VI. DISCUSIÓN	45
VII. CONCLUSIONES.....	51
VIII. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Número de cepas estudiadas inicialmente y recuperadas según procedencia.	27
Tabla 2: Programa amplificación del gen gyrB.	29
Tabla 3: Partidores utilizados para MIRU-VNTR	30
Tabla 4: Frecuencia del Número de repeticiones (VNTR) para cada tipo de MIRU en las 43 cepas estudiadas.....	37
Tabla 5: Número de repeticiones (MIRU-VNTR) y MIT para las Cepas estudiadas.	38
Tabla 6: Patrones de Spoligotyping (espoligotipos) y SIT obtenidos en todas las cepas estudiadas	41
Tabla 7: Resultados obtenidos en las bases de datos (MIRU-VNTRplus y SITVITWEB).	42
Tabla 8: Distribución de linajes y sublinajes obtenidos en el estudio.....	42
Tabla 9: SIT encontrados en este trabajo y su asociación a linaje y distribución según Brudey y cols ⁽⁹⁾	46
Tabla 10: Distribución geográfica reportada de MIT detectados en esta investigación ⁽³⁷⁾	47
Tabla 11: Descripción de linajes determinados en Chile y Latina América	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Análisis por PCR del gen <i>gyrB</i> para las cepas 2, 37, 39, 42 y 43.	33
Figura 2: Análisis por PCR de MIRU 23 (A), 24 (B), 40 (C), 26(D), 2 (E), 20(F) y 39(G).	36
Figura 3: Análisis por <i>Spoligotyping</i> de las cepas estudiadas (A y B).....	40
Figura 4: Dendograma obtenido en base de datos MIRU-VNTRplus. N°: Número de cepa; Linaje: Linaje obtenido en caso que corresponda, en caso de cepas huérfanas no aparece resultado; MIRU-VNTR: Patrón de 12 dígitos obtenido para cada cepa (Ordenados en tipo de MIRU 2, 4, 40, 10, 16, 20, 23, 24, 26, 27, 31, 39); <i>Spoligotyping</i> : espoligotipo de cada cepa.	43