

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS

DETECCIÓN MOLECULAR DE MUTACIONES GENÉTICAS EN *Mycobacterium tuberculosis* RESISTENTES A ISONIACIDA Y RIFAMPICINA DE PACIENTES CON TUBERCULOSIS EN LA REGIÓN DEL CUSCO, PERIODO 2022 - 2023

PRESENTADA POR:

**Bach. MAYUMI SADITH ESPERILLA MAMANI
PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO**

ASESOR:

M. Sc. JORGE ACURIO SAAVEDRA

CO-ASESOR:

BLGA. YAHANDA GISELA APAZA CASTILLO

CUSCO - PERÚ

2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesis titulada: "DETECCIÓN MOLECULAR DE MUTACIONES GENÉTICAS EN *Mycobacterium tuberculosis* RESISTENTES A ISONIAZIDA Y RIFAMPICINA DE PACIENTES CON TUBERCULOSIS EN LA REGIÓN DEL CUSCO, PERIODO 2022 - 2023"

presentado por: MAYUMI SADIITH ESPERILLA MANANI con DNI Nro.: 76018677 presentado por: con DNI Nro.: para optar el título profesional/grado académico de BIÓLOGO.....

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 2 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 9%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 04 de DICIEMBRE de 2024



Firma

Post firma Jones Acurio Saavedra

Nro. de DNI 23983840


ORCID del Asesor 0000-0001-9184-1662

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: OID: 27259:397434797

Mayumi Sadith Esperilla Mamani

DETECCIÓN MOLECULAR DE MUTACIONES GENÉTICAS EN *Mycobacterium tuberculosis* RESISTENTES A ISONIACIDA

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::27259:397434797

143 Páginas

Fecha de entrega

22 oct 2024, 8:47 p.m. GMT-5

36,538 Palabras

Fecha de descarga

4 dic 2024, 1:19 p.m. GMT-5

164,720 Caracteres

Nombre de archivo

Tesis *Mycobacterium tuberculosis* MSEM 2024.pdf

Tamaño de archivo

5.2 MB

9% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...




Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 8 palabras)

Exclusiones


- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 8%  Fuentes de Internet
- 4%  Publicaciones
- 4%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
86 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

En primer lugar, dedico este trabajo de investigación a Dios por guiarme y bendecirme con una hermosa familia y grandes amistades.

A mis padres Buenaventura y Eulogia quienes depositaron su confianza en mí, me brindaron su apoyo incondicional y fortaleza en todos los momentos del proceso de mi formación personal y académica, son ellos mi inspiración y motivo para dar lo mejor de mí.

A mis hermanas Yesenia, Yesida, Yuzara y Sunmi por los buenos momentos, compañía e invaluable confianza.

A mis amistades; Grecia, Elsita, Rosario y Shirley, a ellas por brindarme su gran amistad y generosidad, apoyándome a seguir mis sueños.

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de investigación, ha sido posible gracias al Laboratorio Referencial de Salud Pública de Cusco de la Gerencia regional de salud (GERESA), y al apoyo constante del personal que labora en mencionada institución.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco por haberme acogido durante los cinco años de mi formación profesional, así mismo a los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas por guiarme y brindarme sus conocimientos.

A mis asesores de tesis el M. Sc. Jorge Acurio Saavedra y Blga. Yahanda Apaza Castillo por impartirme sus enseñanzas y experiencias, por la confianza brindada y paciencia en todo el desarrollo de la investigación.

A la Blga. Zoila Alvarado, por la motivación constante y el empuje para el desarrollo de este proyecto, así mismo la oportunidad concedida en el laboratorio de tuberculosis y su valiosa amistad.

A la Téc. Sindy Quispe, por compartir sus conocimientos y experiencias, mostrarme amabilidad y sus grandes deseos para seguir mis sueños.

A la Blga. Kerly Irrarazabal, Por impartirme sus conocimientos en el laboratorio de Biología molecular, brindarme su amistad y motivación constante.

A Téc. Maria Luisa, Blga. Rocio Venero, Blgo Henry Venero, Blga. Betsy y Téc. Erica. Por la ayuda, sugerencias, compañerismo y aprecio durante mi estancia en los laboratorios de Referencia regional del Cusco.

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	ii
INTRODUCCIÓN	iii
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	v
JUSTIFICACIÓN	vii
OBJETIVOS.....	ix
OBJETIVO GENERAL:	ix
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	ix
VARIABLES	x
OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	xi
HIPOTESIS.....	xiii
HIPOTESIS GENERAL	xiii
HIPOTESIS ESPECÍFICAS	xiii
CAPITULO I.....	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1. ANTECEDENTES	1
<i>1.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES</i>	1
<i>1.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES</i>	3
<i>1.1.3. ANTECEDENTES LOCALES</i>	7
1.2. BASES TEÓRICAS	9
<i>1.2.1. LA TUBERCULOSIS</i>	9
<i>1.2.2. Mycobacterium Tuberculosis</i>	13

1.2.3. TUBERCULOSIS EN EL MUNDO.....	16
1.2.4. TUBERCULOSIS EN EL PERÚ	18
1.2.5. TUBERCULOSIS EN EL CUSCO.....	20
1.2.6. TUBERCULOSIS FARMACORRESISTENTE (TB-FR)	23
1.2.7. RESISTENCIA A ISONIACIDA	24
1.2.8. RESISTENCIA A RIFAMPICINA.....	28
1.2.9. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE TUBERCULOSIS FARMACORRESISTENTE.....	31
1.2.10. GENOTYPE ® MTBDR PLUS V2.0.....	36
1.2.11. TRATAMIENTO DE TUBERCULOSIS	39
CAPÍTULO II.	42
MATERIALES Y MÉTODOS	42
2.1. ÁREA DE ESTUDIO:.....	42
2.2. MATERIALES	44
2.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO.....	44
2.2.2. MATERIALES DE LABORATORIO	44
2.3. METODOLOGÍA	47
2.3.1. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN:	47
2.3.2. FLUJOGRAMA DE LA METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN.....	47
2.3.3. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA	48
2.3.4. DIGESTIÓN Y DESCONTAMINACIÓN DE LA MUESTRA.....	49
2.3.5. EXTRACCIÓN DE ADN.....	50
2.3.6. CARGADO DE ADN	51

2.3.7. <i>AMPLIFICACIÓN</i>	52
2.3.8. <i>HIBRIDACIÓN</i>	53
2.4. ANÁLISIS DE DATOS	55
2.4.1. <i>REGISTRO DE DATOS OBTENIDOS</i>	55
2.4.2. <i>REPORTE E INTERPRETACIÓN DE DATOS OBTENIDOS</i>	55
CAPÍTULO III	56
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
3.1. DETECCIÓN DE MUTACIONES GENÉTICAS DE <i>Mycobacterium tuberculosis</i> RESISTENTES A ISONIACIDA Y RIFAMPICINA.	56
3.2. IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES GENÉTICAS EN <i>Mycobacterium tuberculosis</i> RESISTENTES A ISONIACIDA Y RIFAMPICINA	59
3.2.1. <i>MUTACIONES DETECTADAS EN LOS CASOS RESISTENTES A ISONIACIDA</i>	60
3.2.2. <i>MUTACIONES DETECTADAS EN LOS CASOS RESISTENTES A RIFAMPICINA</i>	62
3.3. RELACIÓN ENTRE EL GEN MUTADO RESISTENTE A ISONIACIDA Y LOS ANTECEDENTES DE TRATAMIENTO EN PACIENTES CON TB DE LA REGIÓN DEL CUSCO	64
3.4. MUTACIONES MÁS FRECUENTES DE RESISTENCIA, SEGÚN FACTORES DEMOGRÁFICOS	67
3.4.1. <i>PARA LAS MUTACIONES RESISTENTES A ISONIACIDA</i>	67
3.4.2. <i>PARA LAS MUTACIONES RESISTENTES A RIFAMPICINA</i>	72
3.5. FRECUENCIA EN MUTACIONES DE ACUERDO A LA PROVINCIA DE	

+

RESIDENCIA.....	78
<i>3.5.1. PARA LA MUTACIÓN RESISTENTE A LA ISONIACIDA.....</i>	78
<i>3.5.2. PARA LA MUTACIÓN RESISTENTE A LA RIFAMPICINA.....</i>	80
CONCLUSIONES.....	83
RECOMENDACIONES	84
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85
ANEXOS.....	92

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de variables	xi
Tabla 2. Tendencia del riesgo TB de la región Cusco, 2022	21
Tabla 3. Número de pacientes con tuberculosis de la región del Cusco en el 2022	22
Tabla 4. Número de casos de TBC según provincia de procedencia en la región del Cusco	22
Tabla 5. Resumen de métodos de diagnóstico de tuberculosis farmacorresistente	35
Tabla 6. Bandas de tipo salvaje y bandas de mutación del marcador de resistencia a Rifampicina, rpoB.....	37
Tabla 7. Bandas de tipo salvaje y bandas de mutación marcador de alto nivel de resistencia a Isoniacida, KatG	38
Tabla 8. Bandas de tipo salvaje y bandas de mutación marcador de bajo nivel de resistencia a Isoniacida, InhA	38
Tabla 9. Grupo de fármacos para el tratamiento de TBMDR.....	40
Tabla 10. Principales factores de riesgo para TB resistente.	48
Tabla 11. Protocolo de amplificación	52
Tabla 12. Perfiles de resistencia obtenidos con la prueba “GenoType® MRBDRplus V2.0”	59
Tabla 13. Patrones de bandas de resistencia a Isoniacida	60
Tabla 14. Patrones de bandas de resistencias a Rifampicina	63
Tabla 15. Relación estadística entre el gen mutado resistente a Isoniacida y los antecedentes del paciente	65
Tabla 16. Cálculo de los Odds Ratio de acuerdo a la presencia de genes a Isoniacida y los antecedentes del paciente	65
Tabla 17. Relación entre la edad del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida	

+

.....	67
Tabla 18. Prueba de Chi cuadrado entre la edad del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida	68
Tabla 19. Relación entre el sexo del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida	69
Tabla 20. Prueba de Chi Cuadrado entre el sexo del paciente y el gen mutado resistente a Isoniacida	70
Tabla 21. Relación entre la ocupación del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida	71
Tabla 22. Prueba de Chi Cuadrado entre la ocupación del paciente y el gen mutado resistente a Isoniacida	72
Tabla 23. Relación entre la edad del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina.....	73
Tabla 24. Prueba de Chi Cuadrado entre la edad del paciente y el gen mutado resistente a Rifampicina.....	73
Tabla 25. Relación entre el sexo del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina.....	74
Tabla 26. Prueba de Chi Cuadrado entre el sexo del paciente y el gen mutado resistente a Rifampicina.....	75
Tabla 27. Relación entre la ocupación del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina.....	76
Tabla 28. Prueba de Chi Cuadrado entre la ocupación del paciente y el gen mutado resistente a Rifampicina.....	77

+

Tabla 29. Relación entre la provincia de residencia del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida	79
Tabla 30. Prueba de Chi Cuadrado entre la provincia de residencia del paciente y el gen mutado resistente a Isoniacida	80
Tabla 31. Relación entre la provincia de residencia del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina	81
Tabla 32. Prueba de Chi Cuadrado entre la provincia de residencia del paciente y el gen mutado resistente a Rifampicina	82
Tabla 33. Resultados “GenoType® MTBDRPlus”, Septiembre - Diciembre 2022	105
Tabla 34. Resultados “GenoType® MTBDRPlus”, Enero - Abril 2023	111

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Patogenia de la tuberculosis	11
Figura 2. Estadios de la tuberculosis pulmonar	12
Figura 3. Representación de la pared celular de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	14
Figura 4. Mapa circular del cromosoma del M. tuberculosis H37Rv.....	16
Figura 5. Casos de tuberculosis farmacorresistente (RR/MDR Y XDR) en el Cusco, 2022.....	20
Figura 6. Mutaciones en el gen <i>InhA</i>	25
Figura 7. Mutaciones en el gen <i>KatG</i>	26
Figura 8. Mecanismo de acción de Isoniacida.....	28
Figura 9. Mutaciones en el gen <i>RpoB</i>	29
Figura 10. Mecanismo de acción de la Rifampicina.....	30
Figura 11. Tira de nitrocelulosa con bandas de reacción.....	39
Figura 12. Organigrama de la red de Laboratorios del Cusco	43
Figura 13. Organización de red de laboratorios en la región del Cusco	43
Figura 14. <i>Ficha de registro de tiras reveladas para la detección de mutaciones genéticas de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> resistentes a Isoniacida y Rifampicina.</i>	57
Figura 15. Gráfica de Perfiles de resistencia obtenidos con la prueba “GenoType® MRBDRplus V2.0”	59
Figura 16. Gráfica de patrones de bandas de resistencia a Isoniacida	60
Figura 17. Gráfico de patrones de bandas de resistencias a Rifampicina.....	63
Figura 18. Gráfico de la relación estadística entre el gen mutado resistente a Isoniacida y los antecedentes del paciente	65
Figura 19. Gráfico de la relación entre la edad del paciente y la presencia del gen mutado resistente	

a Isoniacida	68
Figura 20. Gráfico entre el sexo del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida	69
Figura 21. Gráfico de la relación entre la ocupación del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida	71
Figura 22. Gráfico de relación entre la edad del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina	73
Figura 23. Gráfica de relación entre el sexo del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina	75
Figura 24. Gráfica de relación entre la ocupación del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina	76
Figura 25. Gráfica de relación entre la provincia de residencia del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida	79
Figura 26. Relación entre la provincia de residencia del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina	81

ABREVIATURAS

AC: Control de amplificación

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ARN: Ácido ribonucleico

A-LYS: Tampon de lisis

AM-A: Mezcla de amplificación A

AM-B: Mezcla de amplificación B

A-NB: Tampon de neutralización

C14: Carbono 14

CC: Control de conjugado

CMTB: Complejo *Mycobacterium tuberculosis*

CON C: Conjugado concentrado

CON D: Solución de dilución de conjugado

DGE: Dirección de epidemiología de México

DEN: Solución de desnaturalización

DPCTB: Dirección de prevención y control de tuberculosis

EPP: Equipo de protección personal

ESSALUD: Seguro social de salud

GERESA: Gerencia regional de Salud

HYB: Solución de hibridación

HRC: Hospital regional del Cusco

INH: Isoniacida

INPE: Instituto nacional penitenciario

INS: Instituto de Salud

LRRC: Laboratorio de referencia regional del Cusco

LTBI: Tuberculosis latente

MTB: *Mycobacterium tuberculosis*

MINSA: Ministerio de Salud

MINSALUD: Ministerio de salud de Colombia

MODS: Ensayo de susceptibilidad a medicamentos mediante observación microscópica

MUT: mutación

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud

OR: Odds ratio

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

RIF: Rifampicina

TB/TBC: tuberculosis

TB-FR: Farmacorresistente

TBMDR: Tuberculosis multidrogorresistente

TBRR: Tuberculosis resistente a Rifampicina

TBXDR: Tuberculosis extremadamente resistente

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana

WT: Sonda wildtype o silvestre

RESUMEN

La tuberculosis farmacorresistente, en particular a Isoniacida y Rifampicina, constituye un grave problema de salud pública a nivel mundial, incluida su prevalencia en el Perú. Esta forma resistente de la enfermedad complica tanto su tratamiento como su control, lo que se traduce en un aumento considerable de la morbilidad y mortalidad asociadas. En la región del Cusco, el aumento en la aparición de cepas resistentes ha elevado la presión sobre el sistema de salud local, dificultando la gestión y efectividad de los recursos disponibles para su tratamiento.

El objetivo principal fue detectar mutaciones genéticas en *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a Isoniacida y Rifampicina de pacientes con tuberculosis de la región del Cusco, periodo 2022 a 2023. La metodología se realizó en el Laboratorio Referencial de Salud Pública de Cusco, utilizando el método "GenoType® MTBDRPlus V2.0" para detectar resistencia a Rifampicina e Isoniacida, según el protocolo del Instituto Nacional de Salud (INS, 2019). Se trabajó con 168 muestras de esputo y cepas de *Mycobacterium tuberculosis* de 87 cultivos en medio líquido (BACTEC MGIT 960) y 68 en medios sólidos (Ogawa y Löwenstein-Jensen), de un total de 323 pacientes (171 en 2022 y 152 en 2023). Las extracciones del material genético se realizaron en una cabina de bioseguridad clase II tipo A, utilizando el kit de extracción GenoLyse®, seguido de amplificación e hibridación.

El estudio concluye que las pruebas moleculares son fundamentales para la detección rápida y precisa de la tuberculosis resistente, lo que puede mejorar el diagnóstico y tratamiento adecuado de los pacientes.

Palabras clave: Tuberculosis farmacorresistente, Isoniacida, Rifampicina, *Mycobacterium tuberculosis*.

ABSTRACT

Drug-resistant tuberculosis, particularly to Isoniazid and Rifampicin, poses a serious public health problem worldwide, including its prevalence in Peru. This resistant form of the disease complicates both its treatment and control, resulting in a considerable increase in associated morbidity and mortality. In the Cusco region, the rise in the occurrence of resistant strains has increased pressure on the local health system, hindering the management and effectiveness of the available resources for treatment. The main objective was to detect genetic mutations in *Mycobacterium tuberculosis* resistant to Isoniazid and Rifampicin from tuberculosis patients in the Cusco region during the period from 2022 to 2023. The methodology was conducted at the Public Health Reference Laboratory of Cusco, using the "GenoType® MTBDRPlus V2.0" method to detect resistance to Rifampicin and Isoniazid, following the protocol of the National Institute of Health (INS, 2019). A total of 168 sputum samples and *Mycobacterium tuberculosis* strains from 87 cultures in liquid medium (BACTEC MGIT 960) and 68 in solid media (Ogawa and Löwenstein-Jensen) were processed, from a total of 323 patients (171 in 2022 and 152 in 2023). Genetic material extractions were carried out in a Class II Type A biosafety cabinet, using the GenoLyse® extraction kit, followed by amplification and hybridization. The study concludes that molecular tests are essential for the rapid and accurate detection of drug-resistant tuberculosis, which can improve the diagnosis and appropriate treatment of patients.

Keywords: Drug-resistant tuberculosis, Isoniazid, Rifampicin, *Mycobacterium tuberculosis*.

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis, es una enfermedad infectocontagiosa, ocasionada por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, que afecta principalmente a los pulmones, aunque puede invadir otros órganos (tuberculosis extrapulmonar). Su transmisión es vía aérea, cuando una persona con tuberculosis activa estornuda, habla o tose; liberando así bacterias al ambiente.

Esta enfermedad históricamente tiene muchos reportes por causar epidemias y actualmente sigue siendo un grave problema de salud pública, al ser considerada como una de las principales causas de muerte provocada por un solo agente infeccioso (Alarcón et al., 2017). A pesar de los avances en su diagnóstico y tratamiento, la TB continúa siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. En particular, la aparición de cepas resistentes a fármacos como la Isoniacida y la Rifampicina ha empeorado la situación, complicando el control de la enfermedad.

En el mundo, la tuberculosis es la decimotercera causa principal de muerte y la enfermedad infecciosa más letal después del COVID-19, por encima del VIH/Sida (OMS, 2021), se estima que 10,6 millones de personas enfermaron de tuberculosis en 2021, en comparación con 10,1 millones en 2020, de los cuales 1,6 millones de personas murieron de tuberculosis (incluidas 187 000 personas con VIH) (OMS, 2022).

En 2019, el 56% de los casos de tuberculosis en América del Sur, se concentró en Brasil (33,1%), Perú (13,4%) y México (10,3%). Aunque en 2020 hubo una leve disminución de casos, la tuberculosis sigue siendo un problema persistente. A pesar de las medidas de control, la falta de conciencia social y el incumplimiento del tratamiento contribuyen a la resistencia a los medicamentos, especialmente a la Rifampicina e Isoniacida. Esto prolonga el tratamiento, provoca efectos tóxicos y puede llevar a una farmacoresistencia más grave sin opciones de tratamiento efectivas. (Tanta, 2019; MINSA, 2022)

Según el mapa epidemiológico de la Dirección de Prevención y Control de Tuberculosis (DPCTB) en el año 2022 la región del Cusco registro 4 casos de Tuberculosis multidrogorresistente (TB-MDR), 1 caso resistente a Rifampicina y 8 casos de resistencia a Isoniacida, ambos medicamentos considerados núcleo terapéutico (DPCTB-MINSA, 2022).

Las técnicas moleculares detectan mutaciones que generan resistencia a los medicamentos clave para su tratamiento, destacando por su rapidez, alta sensibilidad y especificidad. Herramientas moleculares y comerciales el método “GenoType® MTBDRPlus V2.0”, ha sido ampliamente reconocido por su capacidad para detectar mutaciones específicas en los genes RpoB y KatG, responsables de la resistencia a Rifampicina e Isoniacida, respectivamente (Alcaide et al., 2017). Esta técnica se basa en la amplificación de fragmentos específicos del ADN bacteriano a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), seguida de la hibridación en una membrana que permite identificar mutaciones genéticas clave para la farmacorresistencia. Comparado con otros métodos fenotípicos, como el cultivo en medios sólidos o líquidos, el “GenoType® MTBDRPlus” ofrece resultados más rápidos, con una sensibilidad del 98% para Rifampicina y del 84% para Isoniacida, lo que acelera considerablemente el inicio del tratamiento adecuado (Monteserin, 2016).

El presente trabajo, tiene la finalidad de detectar las mutaciones genéticas en *Mycobacterium tuberculosis* resistente a Isoniacida y Rifampicina de pacientes con tuberculosis en la región Cusco, durante el periodo setiembre del 2022 a abril del 2023, mediante ensayo de sonda en línea “Genotype MTBDRplus v2.0”, de esta manera busca optimizar el diagnóstico y tratamiento a los pacientes con tuberculosis.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La tuberculosis farmacorresistente (TB-FR), es un problema emergente en el mundo, cada año se reportan altas tasas de muerte ya que la resistencia a los medicamentos antituberculosos más importantes conlleva a tratamientos mucho más costosos, los cuales muchas veces no pueden ser adquiridos por pacientes de países en vías de desarrollo (Araya, 2014).

En el Perú, la situación es alarmante, ya que es el segundo país con el mayor número de casos estimados de tuberculosis (TB) en la Región de las Américas después de Brasil, con una creciente incidencia en la región de Cusco (Ministerio de Salud del Perú, 2021). Según Pecho (2020), la tasa de éxito del tratamiento para la tuberculosis multidrogorresistente (TB-MDR) en el país, es solo del 54,3% y los expertos advierten que, si un esquema terapéutico solo cura entre el 50% y el 60% de los casos, la enfermedad no podrá ser controlada efectivamente. Además, se reporta una tasa de abandono del tratamiento del 33%, es decir, uno de cada tres pacientes interrumpe su terapia.

Así mismo; en 2022, el Departamento de prevención y control de la tuberculosis (DPCTB), ha notificado 4 casos de TB-MDR en la región del Cusco, 1 caso de resistencia a Rifampicina y 8 casos de resistencia solo a Isoniacida (DPCTB-MINSA, 2022).

Esta resistencia a los medicamentos clave para tratar la tuberculosis, se debe principalmente a mutaciones en los genes *InhA* y *KatG* para resistencia a Isoniacida y *RpoB*, para Rifampicina. La resistencia a estos medicamentos clave se debe principalmente a mutaciones en los genes *InhA* y *KatG* para la Isoniacida, y en el gen *RpoB* para la Rifampicina. A diferencia de otras bacterias que adquieren resistencia a través de plásmidos o transposones, *Mycobacterium tuberculosis* se vuelve resistente mediante la adquisición de mutaciones o la activación de bombas de eflujo (Sandoval *et al.*, 2020)

Además, los métodos tradicionales de diagnóstico fenotípico de resistencia a fármacos son lentos

y requieren semanas para ofrecer resultados. Esto retrasa el inicio de tratamientos adecuados, lo que favorece la transmisión de cepas resistentes y empeora el pronóstico de los pacientes (Sandoval *et al.*, 2020). La implementación de técnicas moleculares, como el ensayo de sonda “GenoType® MTBDRplus”, permite la detección rápida y precisa de mutaciones genéticas en *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a INH y RIF, ofreciendo una solución prometedora para mejorar el diagnóstico temprano y optimizar el tratamiento.

Por lo mencionado anteriormente, se plantea la siguiente interrogante de investigación:

¿Cuáles son las mutaciones genéticas en Mycobacterium tuberculosis resistentes a Isoniacida y Rifampicina de pacientes con tuberculosis en la región Cusco durante el periodo setiembre del 2022 a abril del 2023?

Como consideraciones para dar respuesta a esta pregunta primordial, se plantean las siguientes preguntas específicas:

1. *¿Cuáles son las mutaciones más frecuentes en genes de Mycobacterium tuberculosis resistentes a Isoniacida y Rifampicina?*
2. *¿Cuál es la correlación entre la mutación más frecuente de resistencia a Isoniacida con los casos de antecedente de tratamiento en pacientes con TB de la región del Cusco?*
3. *¿Cuál es la relación de las mutaciones más frecuentes en genes de resistencia a Isoniacida y Rifampicina con los factores demográficos? (edad, sexo y ocupación).*
4. *¿Cuál es la relación de las mutaciones más frecuentes en genes de resistencia a Isoniacida y Rifampicina y su presencia en las provincias de la región del Cusco?*

JUSTIFICACIÓN

La tuberculosis resistente a los medicamentos, constituye un reto significativo para la salud pública global. En el Perú, aunque la estrategia de control ha tenido éxito en el manejo de la tuberculosis sensible, la irregularidad y el abandono del tratamiento por parte de los pacientes han propiciado la aparición de cepas resistentes. Según el Ministerio de Salud, el país es considerado el segundo país con el mayor número de casos estimados de tuberculosis (TB) en la Región de las Américas después de Brasil; en tanto que ocupa el primer lugar de los cinco países que concentran el 70% de los casos estimados de tuberculosis resistente a la Rifampicina (TB RR) y tuberculosis multidrogorresistente (TB MDR) (Ministerio de Salud del Perú, 2021).

Particularmente en la región del Cusco, se ha registrado un aumento notable en los casos de tuberculosis farmacorresistente. Factores como el abandono del tratamiento y la falta de adherencia han sido determinantes en el surgimiento de estas cepas, dejando a muchos pacientes sin opciones efectivas de tratamiento (Tanta, 2019; Castañeda, 2021).

A pesar de los avances en el control de la tuberculosis, las pruebas fenotípicas convencionales para identificar resistencias son lentas y requieren de un alto costo, lo que retrasa la implementación de tratamientos adecuados, este retraso aumenta el riesgo de transmisión de cepas resistentes y empeora los resultados clínicos de los pacientes. En respuesta a esta amenaza, la OMS propone actualmente la implementación de pruebas moleculares de laboratorio, que son rápidas y altamente confiables para la detección de resistencia (Tanta, 2019). Técnicas moleculares, como el ensayo de sonda en línea “GenoType® MTBDRPlus V2.0”, permiten una detección rápida de mutaciones genéticas asociadas a la resistencia a Isoniacida y Rifampicina, acelerando el inicio del tratamiento. Además, proporcionan resultados altamente precisos, minimizando falsos positivos y negativos, lo que facilita la personalización del tratamiento para cada paciente. Diversos metaanálisis establecen

una sensibilidad global del 98% para detectar resistencia a la Rifampicina y del 84,3% para la Isoniacida, ambas con una especificidad del 98-99,5% (Alcaide *et al.*, 2017).

La reciente implementación de esta tecnología en el laboratorio referencial de salud pública del Cusco permitió el desarrollo de esta investigación, marcando un avance importante en la lucha contra la tuberculosis farmacorresistente en la región, ya que la detección rápida de mutaciones no solo mejora el diagnóstico, sino que también facilita la personalización de los tratamientos. Esto aumenta las probabilidades de éxito terapéutico y reducirá las tasas de abandono del tratamiento. Además, la investigación proporciona información valiosa para el diseño de estrategias más efectivas en el control de la tuberculosis, generando datos específicos para la región del Cusco, donde las cepas resistentes ejercen presión sobre los recursos sanitarios. Este enfoque beneficia tanto a los pacientes como a la población en general.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Detectar las mutaciones genéticas en *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a Isoniacida y Rifampicina de pacientes con tuberculosis en la región del Cusco, mediante ensayo de sonda en línea “GenoType MTBDRplus v2.0” durante el periodo setiembre del 2022 a abril del 2023.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Identificar las mutaciones más frecuentes en genes de resistencia a Isoniacida y Rifampicina, mediante ensayo de sonda en línea “GenoType MTBDRplus v2.0”.
- Determinar la correlación entre la mutación más frecuente de resistencia a Isoniacida con los casos de antecedente de tratamiento en pacientes con TB de la región del Cusco.
- Analizar las mutaciones más frecuentes, en genes de resistencia a Isoniacida y Rifampicina según factores demográficos (edad, sexo y ocupación).
- Analizar las mutaciones más frecuentes, en genes de resistencia a Isoniacida y Rifampicina, en provincias de la región del Cusco.

VARIABLES

Variable dependiente: Detección molecular de mutaciones genéticas en *Mycobacterium tuberculosis*.

Variable independiente: Pacientes con tuberculosis en la región del Cusco.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 1. Operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Dimensiones	Indicadores
Variable Dependiente	<p>Es la identificación de cambios específicos en el material genético de la bacteria <i>Mycobacterium tuberculosis</i>. Este proceso se realiza a nivel molecular, utilizando técnicas especializadas. Estos métodos ofrecen la posibilidad de identificar mutaciones asociadas a TB-DR de forma precisa y generar resultados a partir de 100 bacilos o menos por muestra. Quizá lo más importante es que permiten realizar el diagnóstico en cuestión de horas. (Cuevas & Zenteno, 2010)</p>	<p>Detección cualitativa de mutaciones.</p>	<p>Muestras biológicas</p> <hr/> <p>Digestión y descontaminación de las muestras</p> <hr/> <p>Extracción de ADN</p> <hr/> <p>Cargado de ADN</p> <hr/> <p>Amplificación de ADN</p> <hr/> <p>Hibridación</p>
Variable Independiente	<p>Personas que han sido diagnosticadas con la enfermedad infecciosa llamada tuberculosis en la región del Cusco. Presentan depresión inmunitaria y/o múltiples comorbilidades como VIH, Diabetes Mellitus, Artritis Reumatoidea, Insuficiencia Renal Crónica, constituyen un factor de riesgo importante para la adquisición de esta enfermedad, así como para la resistencia a drogas</p>	<p>Antecedentes de tratamiento</p> <hr/> <p>Edad</p>	<p>Si</p> <p>No</p> <hr/> <p>< 18 años</p> <p>menor</p> <p>19-60 años</p> <p>adulto</p> <p>> 60 años</p> <p>Adulto mayor</p>

Variables	Definición conceptual	Dimensiones	Indicadores
	antituberculosas (Castañeda, 2021).	Ocupación	Comerciante, desempleado Estudiante Personal de salud agricultor
		Provincias de la región	Acomayo Calca Canchis Chumbivilcas Cusco La convención Paucartambo

Nota: elaboración propia, 2024

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS GENERAL

- El ensayo de sonda en línea “Genotype MTBDRplus V2.0”, permite detectar las mutaciones genéticas en *Mycobacterium tuberculosis* que confieren resistencia a Isoniacida y Rifampicina en pacientes de la región del Cusco.

HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

- Las mutaciones C15T en el gen *InhA* de resistencia a Isoniacida y Ser531Leu en el gen *RpoB* de resistencia a Rifampicina son las más frecuentes en la región del Cusco.
- El antecedente de tratamiento para TB está relacionado con la presencia de mutación C15T de resistencia a Isoniacida.
- La ocupación es la variable demográfica con mayor grado de relación en la generación de resistencia a Isoniacida y Rifampicina.
- En la región del Cusco, la provincia del mismo nombre presenta mayor cantidad de casos farmacorresistentes.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES

1.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Araya (2014) Realizó un estudio transversal, titulado “Descripción de la tuberculosis multidrogorresistente en Chile, periodo 2008 -2011”, utilizando datos de todos los pacientes con tuberculosis (TB) y tuberculosis multidrogorresistente (TB-MDR) notificados y registrados en el Programa para el Control y Erradicación de TB (PROCET) en Chile durante el periodo 2008-2011. Se utilizaron medidas estadísticas para analizar las características sociodemográficas de los pacientes; así mismo, para comparar los casos de TB y TB MDR, se aplicaron pruebas estadísticas como Chi² y el Test de Fisher, con el fin de identificar diferencias entre ambos grupos. Se registraron 9,847 casos de TB y 41 casos de TB MDR. Los casos de TB MDR fueron más comunes en pacientes con recaídas, VIH+, inmigrantes, indigentes, y en aquellos que fallecieron o abandonaron el tratamiento.

Llerena et al. (2017) Realizaron un estudio retrospectivo descriptivo, “Descripción de las mutaciones de *Mycobacterium tuberculosis* que confieren resistencia a Rifampicina e Isoniacida detectadas mediante “GenoType® MTBDRplus V.2” en Colombia”. Se analizaron 837 pruebas, que incluyeron 670 aislamientos de *M. tuberculosis* y 167 muestras de esputo enviadas al Laboratorio Nacional de Referencia en 2014. Las muestras fueron procesadas mediante baciloscopia, cultivo, extracción de ADN, y la prueba “GenoType® MTBDRplus V.2”. Se detectaron diversas mutaciones en el gen Rpoβ, de las cuales la más frecuente fue la Ser531Leu (36,6 %), seguida por la Asp516Val (21,6 %), en tanto que en el gen KatG la más frecuente fue la Ser315Thr1 (91,9 %). Concluyendo que se detectaron

varias mutaciones en los casos resistentes reportados en el país, con frecuencias similares a las reportadas en otros países de la región de América del Sur.

Franco *et al.* (2017) Llevaron a cabo un estudio titulado, “Detección de genes asociados a resistencia para Isoniacida y Rifampicina en cepas de *Mycobacterium tuberculosis* en Ecuador”, utilizando técnicas de PCR-RFLP y PCR en tiempo real (Xpert MTB/RIF). Las muestras fueron obtenidas de 18 provincias de Ecuador entre 2006 y 2012, y se incluyeron cepas cultivadas en medios específicos para su análisis. Sus resultados demostraron una correlación entre la resistencia fenotípica a Rifampicina e Isoniacida y las mutaciones encontradas en los genes Rpo β (91,6 %) y KatG (90,3 %) concluyendo además que en Ecuador las mutaciones asociadas a la drogorresistencia son similares a las reportadas en otros países.

Leyes *et al.* (2020) Realizaron un estudio descriptivo y transversal titulado “Perfil de resistencia del *Mycobacterium tuberculosis* a fármacos antituberculosos de primera línea y sus combinaciones” en el Departamento del Atlántico, Colombia. Se incluyeron todos los laboratorios clínicos de la región y se evaluaron casos de tuberculosis con pruebas de sensibilidad a Isoniacida y Rifampicina. El análisis abarcó 2,701 registros de pacientes, con una mayoría de hombres (66.53%) y un grupo etario predominante de 15 a 44 años (53%). La resistencia global de *M. tuberculosis* a los fármacos fue del 9.37%. En los casos nuevos, la resistencia se encontró en un 7.30%, con un 5.25% mostrando resistencia a Isoniacida y un 0.68% a rifampicina. En los casos previamente tratados, la resistencia alcanzó el 18.27%, con un 10.81% de resistencia a Isoniacida y un 1.77% a Rifampicina. La prevalencia de tuberculosis multidrogorresistente (MDR) fue del 1.1% en casos nuevos y del 5.7% en casos previamente tratados.

Se observó una reducción en la resistencia global, que pasó del 12,5% en 2011 al 6,95% en 2016. Los principales factores de riesgo asociados a la resistencia incluían haber sido previamente tratado, fracaso en el tratamiento, contacto con pacientes con tuberculosis resistente y la comorbilidad con VIH.

1.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES

Dávila (2016) Llevo a cabo un estudio titulado, “Factores asociados a la multidrogorresistencia en pacientes con diagnóstico de tuberculosis en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen durante el periodo 2014”, la investigación incluyó a 297 pacientes diagnosticados con tuberculosis, de los cuales 89 tenían TB-MDR y 208 no. Se seleccionó una muestra de 168 pacientes, que comprendía todos los casos de TB-MDR y 79 casos de tuberculosis no MDR elegidos al azar. Para la recolección de datos, se utilizó el análisis documental de historias clínicas. Se aplicó la prueba Chi cuadrado para identificar asociaciones significativas entre variables. Los resultados mostraron que la TB-MDR era más frecuente en pacientes jóvenes, con un 32.6% entre 19 y 28 años y un 25.8% entre 29 y 38 años. Además, el 71.9% de los pacientes con TB-MDR eran hombres. La mayoría de los pacientes (56.1%) eran empleados, y el 73% no presentaba comorbilidades. Además, el 83.1% no había tenido contacto previo con personas infectadas por tuberculosis. Se identificó una asociación significativa entre la falta de tratamiento previo y la TB-MDR, ya que más de la mitad de los casos de TB-MDR correspondían a pacientes que nunca habían recibido tratamiento. En cuanto a los patrones de resistencia, cerca del 50% de los casos mostraron resistencia tanto a Isoniacida como a Rifampicina.

Bravo (2018) Realizo un estudio, titulado “Factores de riesgo asociados a TB-MDR realizado en pacientes del hospital II Vitarte Essalud durante 2010-2016.” Utilizó una ficha

para recolectar datos generales y características epidemiológicas, clínicas y sociales de los pacientes. El análisis bivariado reveló que los pacientes con antecedentes de contacto con TB-MDR tuvieron 34.9 veces más posibilidades de desarrollar TB-MDR. Aquellos con antecedente de abandono de tratamiento tuvieron 7.45 veces más posibilidades, y los pacientes con tuberculosis previamente curada tuvieron 10.96 veces más posibilidades de desarrollar TB-MDR. Además, un tiempo de enfermedad superior a 7 semanas se asoció con 7.27 veces más probabilidades de TB-MDR, y los pacientes con diabetes mellitus tuvieron 6.54 veces más posibilidades. El consumo de alcohol y drogas también se asoció con 5.1 y 6.54 veces más posibilidades de desarrollar TB-MDR, respectivamente.

Tanta (2019) Realizo un estudio titulado “Prevalencia de mutación genética en pacientes con tuberculosis resistente a Isoniacida en Lima Norte durante el periodo 2016-2018”, Se analizaron los resultados de la prueba “GenoType MTBDR Plus” de pacientes del programa contra la tuberculosis del Hospital Nacional Sergio Bernales. registrados en el sistema NetLab del Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto Nacional de Salud, utilizando pruebas estadísticas con chi cuadrado ($p < 0.05$).

Los resultados mostraron que, de los 324 pacientes, el 46% (148) tenía resistencia a Isoniacida. La edad promedio de estos pacientes era de 33 años. La mayoría de los pacientes presentaba multidrogoresistencia (MDR) en un 74.3%, mientras que el 25.7% mostró resistencia solo a Isoniacida. La frecuencia de mutaciones genéticas en general fue del 42.3%, siendo la mutación en el gen KatG la más frecuente (61.5%). En términos de sexo, los hombres representaron el 50% de los casos de MDR, y el 23% fueron mujeres. La relación entre comorbilidades y la presencia de mutaciones genéticas no mostró significancia estadística significativa. La farmacodependencia se asoció con un mayor

riesgo de mutación en el gen *InhA*. Los pacientes con antecedente de tratamiento previo presentaron un mayor riesgo de MDR comparado con aquellos nunca tratados. La mutación en el gen *KatG* fue más prevalente en pacientes nunca tratados. Concluyendo que, se necesitan nuevas estrategias para reducir la resistencia a medicamentos antituberculosos y prevenir mutaciones genéticas.

Pecho et al. (2020) Efectuaron un trabajo de investigación, “Detección de las mutaciones *KatG* e *InhA* para guiar el uso de Isoniacida y Etionamida en el tratamiento de la tuberculosis multidrogorresistente en el Perú”, Revisaron los resultados de pruebas de sensibilidad de pacientes con tuberculosis en el Hospital Nacional Rebagliati, utilizando métodos como MODS, “Genotype MTBDRplus” y pruebas convencionales.

Encontraron que, de 226 pruebas “Genotype MTBDRplus” que indicaban tuberculosis multidrogorresistente (TB-MDR), 180 eran resistentes a Isoniacida. De estas, el 64.4% tenía mutaciones en el gen *KatG*, el 34.4% en el gen *InhA*, y solo el 1.1% tenía mutaciones en ambos genes al mismo tiempo. También observaron que el 80.7% de las mutaciones en *KatG* eran sensibles a Etionamida, y el 60% de las mutaciones en *InhA* eran sensibles a altas dosis de Isoniacida.

Vigo et al. (2020) En el estudio denominado "Mutaciones que confieren resistencia a fármacos antituberculosos de primera línea en Perú: una revisión sistemática de la literatura", el estudio revisó exhaustivamente la información disponible sobre mutaciones que causan resistencia a medicamentos antituberculosos de primera línea, centrándose en Isoniacida y Rifampicina en cepas de *M. tuberculosis* de pacientes peruanos.

Analizaron 14 artículos científicos, encontrando que tres artículos trataban mutaciones relacionadas con la resistencia a Isoniacida, seis con Rifampicina, ocho con pirazinamida

y uno con etambutol. Las mutaciones relacionadas con Isoniacida y Rifampicina fueron identificadas a través de la prueba molecular “GenoType MTBDRplus® v2.0”. En los 3 estudios en relación a Isoniacida se reportaron siete mutaciones, siendo la más frecuente en el codón 315 del gen KatG, y de los seis estudios relacionados a Rifampicina, todos reportaron mutaciones en el gen RpoB, con D516V y H526Y siendo las más frecuentes y altamente asociadas con resistencia.

El estudio concluyó que en Perú hay una amplia variedad de mutaciones que causan resistencia a medicamentos antituberculosos que han sido documentadas. Se resalto la importancia de considerar estas mutaciones en el desarrollo de dispositivos de diagnóstico o selección de pruebas diagnósticas a aplicar en el país.

Vargas *et al.* (2021) Realizaron un estudio titulado “Mutaciones genéticas que confieren resistencia a Isoniacida en pacientes con tuberculosis en Lima Centro, Perú 2017-2018”. Donde analizaron la frecuencia de mutaciones en los genes KatG e InhA relacionadas con la resistencia a Isoniacida en una muestra de 777 pacientes, utilizando la prueba “GenoType MTBDRplus” y la prueba de sensibilidad convencional en agar.

Los resultados mostraron que el 68% de los pacientes eran hombres y su rango de edad era de 17 a 72 años. El 72.2% de los pacientes no habían sido tratados previamente ($p < 0.05$). Se encontró que el 54% de las mutaciones más frecuentes eran en el gen KatG y el 46% en el gen InhA. Las mutaciones en el gen KatG se asociaron con resistencia a la Estreptomina en un 76.7% ($p < 0,05$), a Rifampicina en un 66.7% ($p < 0,05$) y a Etionamida en un 33% ($p < 0,05$). Por otro lado, las mutaciones en el gen InhA se asociaron con resistencia a la Etionamida en un 68.1% ($p < 0,05$), a Rifampicina en un 47.2% ($p < 0,05$) y a Estreptomina en un 33% ($p < 0,05$).

Santos et al. (2022) Llevaron a cabo un estudio titulado “Estructura genética de cepas drogorresistentes de *Mycobacterium tuberculosis* en Perú basada en haplotipos obtenidos de un ensayo con sondas en línea”. El estudio descriptivo transversal se realizó con 6589 muestras de esputo o cultivos de *Mycobacterium tuberculosis* del Laboratorio de Referencia Nacional de Micobacterias del Perú, se analizaron muestras obtenidas entre 2011 y 2015. Se emplearon el ensayo de sonda en línea “GenoType® MTBDRplus v2.0” para la detección genotípica y el método de proporciones en agar 7H10 para la evaluación de sensibilidad fenotípica.

Los resultados mostraron que el 89.8% de las muestras eran resistentes a Isoniacida, el 66.3% a Rifampicina, y el 56.2% mostraron resistencia a ambas drogas, indicando la presencia de TB-MDR. La evaluación fenotípica reveló que el 72.4% de las muestras presentaron resultados válidos, con una alta prevalencia de TB-MDR (41.6%) y TB-rH (24.3%). En cuanto a las mutaciones, se identificaron principalmente mutaciones RpoB S531L y D516V asociadas con resistencia a Rifampicina, y mutaciones KatG S315T1 y InhA C-15T vinculadas a resistencia a Isoniacida. El análisis de haplotipos reveló la presencia de 134 haplotipos resistentes, siendo la mayoría raros, mientras que los haplotipos comunes eran más frecuentes en Lima y Callao. La diversidad genética fue alta en la mayoría de los departamentos.

1.1.3. ANTECEDENTES LOCALES

Castañeda (2021) En su trabajo de tesis titulado: “Factores de riesgo asociados a la tuberculosis drogorresistente en la región Cusco 2015” cuyo objetivo fue identificar los factores de riesgo individuales, institucionales y socioeconómicos asociados a la tuberculosis drogorresistente en Cusco durante 2015. Se analizaron pacientes con TB-DR

y un grupo control de pacientes con tuberculosis pulmonar utilizando una ficha de recolección de datos basada en historias clínicas. El análisis de los datos incluyó técnicas estadísticas univariadas y bivariadas, así como análisis multivariados de regresión y correlación.

Los pacientes con TB-DR eran en su mayoría adultos jóvenes, predominantemente hombres, con los agricultores como la ocupación más frecuente en ambos grupos. La desnutrición se reveló como un factor de riesgo significativo, con los pacientes desnutridos teniendo 9.33 veces más probabilidades de desarrollar TB-DR. El abandono del tratamiento también se asoció con un aumento en la probabilidad de TB-DR, con una odds ratio (OR) de 8.50. Las irregularidades en el tratamiento mostraron una asociación aún más fuerte, con una OR de 13.22. El alcoholismo se identificó como un factor de riesgo importante, con una OR de 6.00. Además, el inicio tardío del tratamiento se vinculó a un mayor riesgo de TB-DR, con una OR de 13.50. Otros factores como reacciones adversas a medicamentos, SIDA y diabetes no mostraron asociaciones significativas con la TBC-DR en este estudio.

1.2. BASES TEÓRICAS

1.2.1. LA TUBERCULOSIS

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infectocontagiosa causada por una bacteria denominada *Mycobacterium tuberculosis*, conocida también como bacilo de Koch la cual todavía existe y es prevalente en la población mundial. Se transmite de persona a persona a través de pequeñas gotas o aerosoles que pueden quedar suspendidos en el aire hasta por más de 3 horas en ambientes cerrados no ventilados, cuando una persona enferma con tuberculosis pulmonar activa tose, estornuda o habla, sólo puede ser contagiosa cuando la persona infectada ha desarrollado la enfermedad (tuberculosis activa), puesto que existe también la infección de tuberculosis latente (LTBI), en la cual las personas infectadas no podrán contagiar hasta desarrollar la enfermedad propiamente dicha si no se tratan adecuadamente durante el tiempo de latencia.

La TB es una enfermedad infecciosa que puede afectar a cualquier persona, independientemente de su edad, sexo, raza o estatus social o económico; además, ciertos grupos de personas tienen un mayor riesgo de desarrollar TB y pueden enfrentar complicaciones más graves. Entre estos grupos de riesgo se encuentran las personas inmunosuprimidas, como aquellas con infección por VIH, diabetes mellitus, trasplante de órganos, cáncer de cabeza y cuello, abuso de sustancias nocivas y otras afecciones que debilitan el sistema inmunológico. Sin embargo; es una enfermedad que se puede prevenir y curar (MINSALUD, 2023).

La transmisión al aire libre y presencia de luz solar es rara; debido a que las micobacterias, incluida *M. tuberculosis*, son sensibles a la radiación ultravioleta, además, en un espacio abierto se diluyen en el aire, lo que reduce la concentración de bacterias y, por lo tanto, la

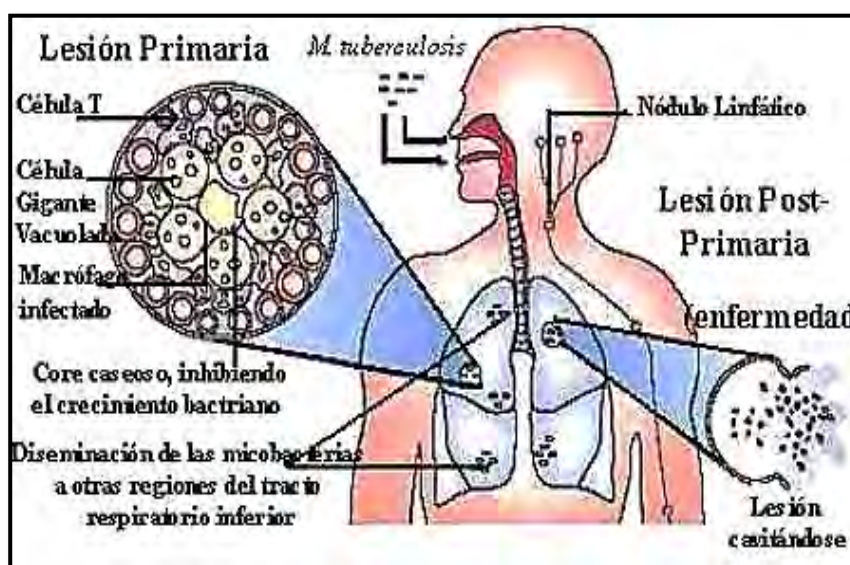
posibilidad de que una persona pueda inhalar suficientes bacterias para infectarse; Asimismo, el grado de contagio está relacionado con el número de bacilos en el esputo. Se estima que para la infección se requieren de 5 a 200 bacilos, con la extensión del proceso en el pulmón y con la frecuencia de la tos del paciente con tuberculosis lo que aumenta su capacidad de transmisión de la enfermedad (Coila, 2019).

La TB es una enfermedad compleja que involucra una serie de etapas en su desarrollo, desde la infección inicial hasta la formación de granulomas como se observa en la Figura 1 y, en algunos casos, la progresión a la enfermedad activa. La patogenia de la tuberculosis comprende los siguientes estadios. (Figura 2)

Estadio I: Las micobacterias son fagocitadas por los macrófagos alveolares no activados, lo que lleva a la multiplicación de los bacilos y la liberación de citoquinas que atraen a más macrófagos y monocitos. Estadio II: Ocurre una acumulación de monocitos y bacilos intracelulares, también conocido como Fase de Crecimiento Logarítmico, entre los días 7 y 21. Estadio III: Se produce necrosis tisular y de los macrófagos, lo que crea un medio desfavorable para la multiplicación de los bacilos. Estadio IV: Con la sensibilización de los linfocitos CD4, se forma una reacción inmunológica que activa a los macrófagos, capaces de destruir el bacilo, lo que da lugar a la formación de granulomas. Estadio V: Si se produce la licuefacción del material, se drena a la vía aérea, lo que puede dar lugar a la cavitación, donde las condiciones son propicias para la multiplicación extracelular de los bacilos. La comprensión de la patogenia de la TB es fundamental para el desarrollo de estrategias de prevención y tratamiento efectivas para combatir esta enfermedad. La detección temprana, el tratamiento oportuno y la prevención son elementos necesarios en el control de la TB a nivel global (Coila, 2019).

La progresión de la infección a enfermedad activa puede ocurrir rápidamente, años después o nunca, quedando la infección en un estado latente. En individuos inmunocompetentes infectados, aproximadamente el 5% desarrollará la enfermedad en los dos años siguientes y otro 5% la desarrollará más tarde. En total, aproximadamente el 10% de los infectados desarrollará la enfermedad en algún momento de su vida, mientras que el restante 90% permanecerá libre de enfermedad (Coila, 2019).

Figura 1. *Patogenia de la tuberculosis*

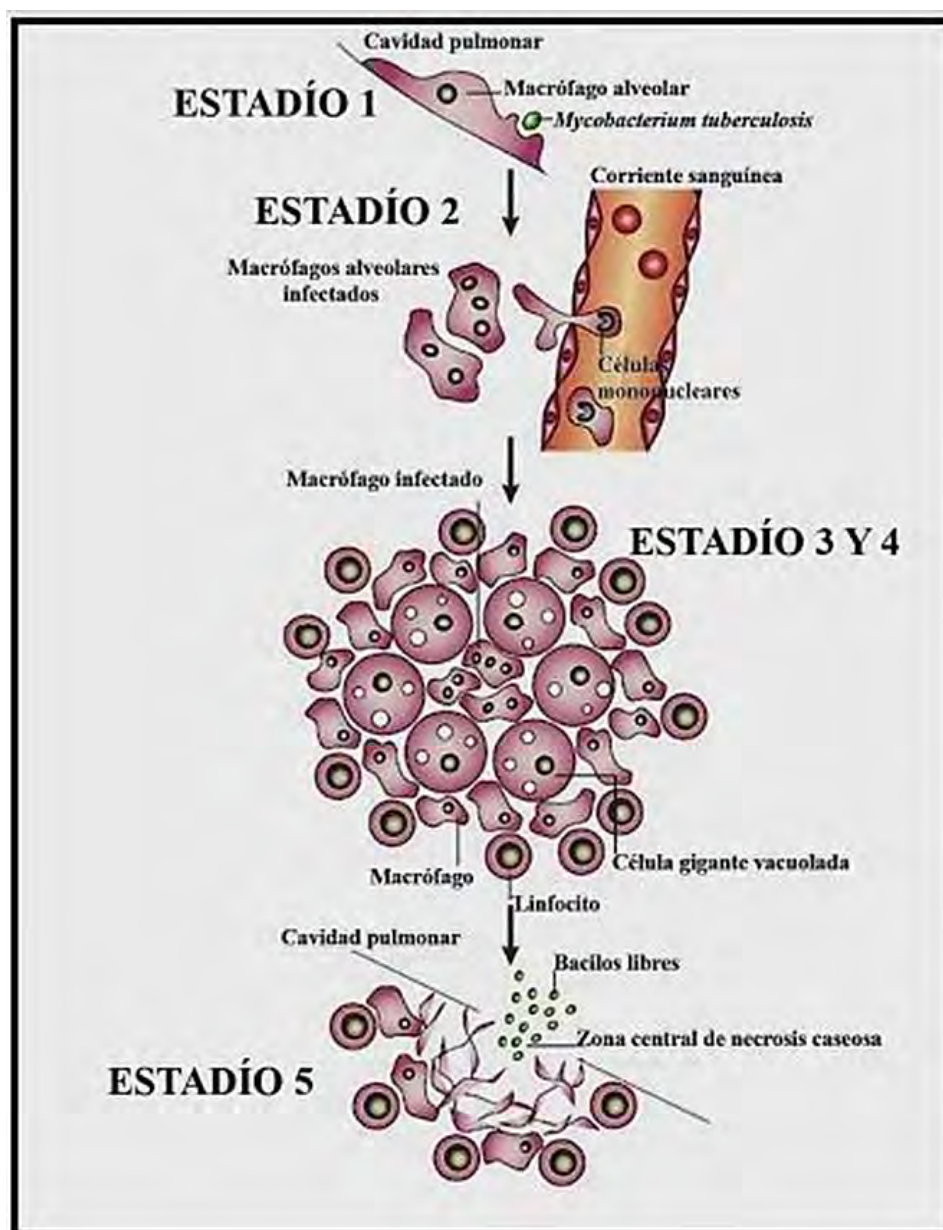


Nota: Quispe (2009)

El personal de salud es responsable de administrar los esquemas de tratamiento para la tuberculosis, que se determinan según el tipo de tuberculosis que presente el paciente. Por lo tanto, la duración del tratamiento puede variar, oscilando entre 6 y 24 meses, dependiendo de si se trata de tuberculosis sensible o tuberculosis resistente. Durante todo este período, es importante que los medicamentos se tomen bajo la supervisión del personal de salud o de un miembro de la familia. Esto se debe a que, si el tratamiento se interrumpe o se toma de manera irregular, los síntomas pueden reaparecer, y se corre el

riesgo de desarrollar una tuberculosis resistente, que es difícil de tratar ya que requiere medicamentos más potentes y dosis más altas, e incluso puede ser fatal. En el caso de la tuberculosis resistente, la duración del tratamiento puede ser de 12, 18 o 24 meses resistente, (MINSA, 2023).

Figura 2. *Estadios de la tuberculosis pulmonar*



Nota: Quispe (2009)

1.2.2. *Mycobacterium Tuberculosis*

Las micobacterias pertenecen a la familia Mycobacteriaceae y al orden Actinomycetales. *Mycobacterium tuberculosis* (b acilo de Koch), es una micobacteria que tiene forma de bacilo y es ácido alcohol resistente, es estrictamente aeróbica y no produce esporas. Su tamaño es de aproximadamente 0.5 x 3 micrómetros.

Clasificación taxonómica de *Mycobacterium tuberculosis*

Dominio: *Bacterias*

Phylum: *Actinobacteria*

Clase: *Actinobacteria*

Orden: *Actinomycetales*

Familia: *Micobacterias*

Género: *Mycobacterium*

Especie: *Mycobacterium tuberculosis*

Nota: Modificado de Montalla (2021)

La envoltura celular de *Mycobacterium tuberculosis* es una característica distintiva muy importante en su patogénesis. Como se muestra en la Figura 3, está formada por varias capas complejas que protegen a la bacteria del sistema inmunitario del huésped y de factores externos. La estructura celular incluye tres macromoléculas unidas covalentemente:

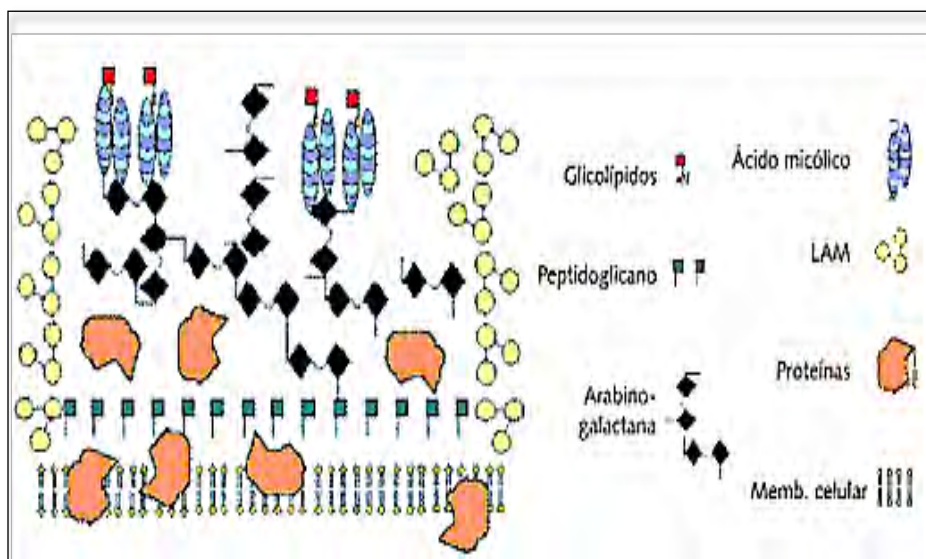
1. **Peptidoglicano:** Una capa fundamental de la pared celular que consiste en una red de polímeros de azúcares y péptidos, proporcionando resistencia y rigidez a la bacteria.
2. **Arabinogalactano:** Un polímero complejo de azúcares en la pared celular externa de *M. tuberculosis*. Contribuye a la resistencia de la bacteria y regula la interacción entre

la bacteria y las células del sistema inmunitario.

3. **Ácidos micólicos:** Ácidos grasos largos y ramificados que se unen covalentemente al arabinogalactano, formando una capa protectora en la superficie celular.

La resistencia a la mayor parte de fármacos ocurre porque en los lípidos como los ácidos micólicos están enlazados a los arabinogalactanos y a los peptidoglicanos, creando una pobre permeabilidad de la pared celular. Otra molécula que participa en la supervivencia del *M. Tuberculosis* dentro de los macrófagos es el lipoarabinomano(LAM), anclado a la membrana plasmática, el cual es importante en la modulación de la respuesta inmunitaria del huésped, permitiendo a *M. tuberculosis* evadir las defensas del sistema inmunológico y establecer infecciones (Culqui, 2022).

Figura 3. Representación de la pared celular de *Mycobacterium tuberculosis*



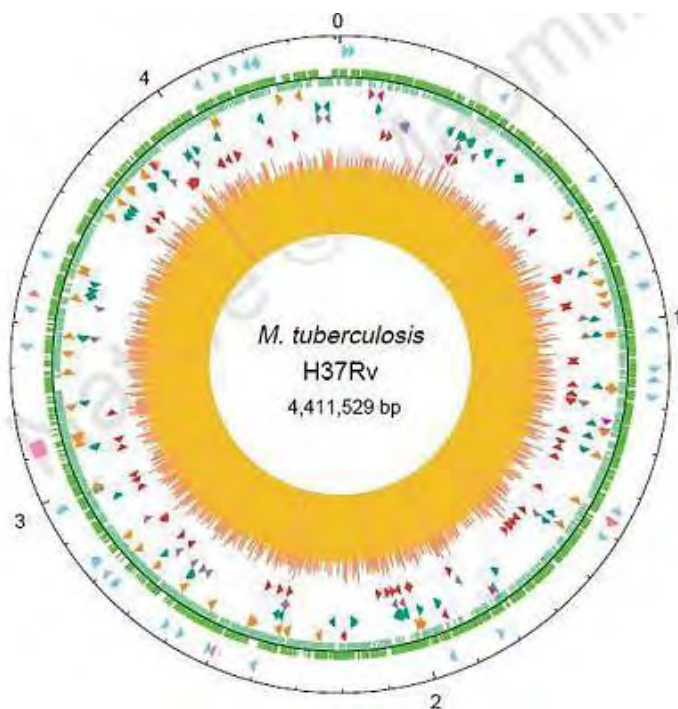
Nota: Barrueco (2018)

El crecimiento de *M. tuberculosis* es notablemente lento, con un tiempo de desarrollo de colonias en cultivos de laboratorio que varía entre 3 y 5 semanas. Este crecimiento lento se debe en parte a la estructura única de su envoltura celular, que es rica en compuestos

hidrofóbicos, haciendo que las células sean altamente impermeables a los nutrientes. La bacteria crece en medios simples con sales minerales, amonio como fuente de nitrógeno, y glicerol o acetato como fuente de carbono. El crecimiento también se estimula con lípidos y ácidos grasos, y a menudo se añade yema de huevo a los cultivos para promover un mayor crecimiento (Sánchez, 2011).

El genoma de *M. tuberculosis* es único y complejo. En 1998, se publicó la secuenciación completa del genoma de la cepa *M. tuberculosis* H37Rv, identificando 3974 genes (actualmente 4011), como se observa en la Figura 4. Este genoma abarca un total de 4,411,529 pares de bases (pb) con un contenido alto de Guanina+Citosina (G/C) del 65.6%, lo que lo convierte en la segunda secuencia bacteriana más grande conocida, superada solo por *E. coli*. La alta proporción de G/C está distribuida de manera homogénea a lo largo del genoma, lo que indica que no ha habido una fuerte transferencia horizontal de islas de patogenia. No obstante, se identifican algunas regiones con una proporción de G/C superior a la media, relacionadas con secuencias de una amplia familia de genes, incluyendo las secuencias polimórficas ricas en G/C (PGRSs, por sus siglas en inglés). (Fontalvo et al., 2015).

Figura 4. Mapa circular del cromosoma del *M. tuberculosis* H37Rv



El círculo exterior muestra la escala en megabase (Mb). El histograma (centro) representa el contenido de G/C, las que contienen menos de 65% están de amarillo y las mayores de 65% en contenido de G/C, en rojo.

Nota: Fontalvo *et al.* (2015)

1.2.3. TUBERCULOSIS EN EL MUNDO

Se conoce la existencia de la tuberculosis desde tiempos remotos, según indicios encontrados en momias de distintas culturas, lo que además sugiere la universalidad de esta enfermedad (Farga, 2004).

Aunque la tuberculosis está presente a nivel mundial, 30 países concentran la mayor carga de morbilidad: Angola, Bangladesh, Brasil, China, Congo, Etiopía, Filipinas, Gabón, India, Indonesia, Kenya, Lesotho, Liberia, Mongolia, Mozambique, Myanmar, Namibia, Nigeria, Pakistán, Papua Nueva Guinea, República Centroafricana, República Democrática del Congo, República Popular Democrática de Corea, República Unida de

Tanzanía, Sierra Leona, Sudáfrica, Tailandia, Uganda, Viet Nam y Zambia. (OMS, 2022). En 2014 y 2015, los Estados Miembros de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y las Naciones Unidas adoptaron dos importantes iniciativas: los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) y la Estrategia Fin a la Tuberculosis de la OMS. La meta 3.3 de los ODS, centrada en la salud y el bienestar, busca "poner fin a las epidemias del SIDA, la tuberculosis, la malaria y las enfermedades tropicales desatendidas" para 2030. Estas iniciativas están diseñadas para reducir significativamente la incidencia y mortalidad por tuberculosis, minimizar los costos para los pacientes y sus familias, y movilizar recursos para mejorar la detección temprana y el acceso a tratamientos efectivos (OMS, 2020).

A pesar de estos esfuerzos, la pandemia de COVID-19 ha afectado gravemente el progreso en el control de la tuberculosis. En 2020, se estimó que 9.9 millones de personas contrajeron tuberculosis y 1.5 millones murieron a causa de la enfermedad, con 214,000 de estas muertes ocurriendo en personas con VIH (OPS, 2023). La disminución en las notificaciones de casos en 2020 ha ampliado la brecha entre el número de personas enfermas y las diagnosticadas y notificadas, retrocediendo el progreso de años anteriores (OMS, 2021).

El informe global sobre tuberculosis de 2022 muestra un aumento en los casos de tuberculosis a 10.6 millones en 2021 y 1.6 millones de muertes, incluyendo 187,000 con VIH. Además, la tuberculosis farmacorresistente aumentó un 3% entre 2020 y 2021, con 450,000 nuevos casos detectados, pero solo 161,746 tratados (OMS, 2022).

Diversos estudios han reportado que la tuberculosis afecta principalmente a adultos, y dentro de este grupo, hay una mayor incidencia en hombres que en mujeres. Además, muchos de los nuevos casos de tuberculosis se asocian con cinco factores de riesgo

específicos: desnutrición, infección por VIH, trastorno por consumo de alcohol, tabaquismo y diabetes.

1.2.4. TUBERCULOSIS EN EL PERÚ

En el Perú, la tuberculosis sigue siendo un desafío prioritario para el sistema de salud. Para abordar este problema, el Ministerio de Salud (MINSA) desempeña un papel fundamental como entidad rectora, siendo responsable de diseñar estrategias e intervenciones para el control de la enfermedad a través de la Dirección de Prevención y Control de Tuberculosis (DPCTB). A través de la Ley 30287, conocida como la Ley de Control y Prevención de la Tuberculosis en el Perú, y su respectivo Reglamento (Decreto Supremo 021-2016), esta legislación declara la lucha contra la tuberculosis como un asunto de interés nacional, lo que garantiza que el control de la enfermedad sea una política sostenida y prioritaria a lo largo del tiempo, independientemente de los cambios en los gobiernos de turno.

Las personas afectadas por tuberculosis (TB) reciben diagnóstico y tratamiento de manera gratuita a través de las instituciones del sistema de salud del país. Estas instituciones incluyen el Ministerio de Salud (MINSA), El seguro Social (ESSALUD), el Instituto Nacional Penitenciario (INPE) y las Sanidades de la Policía Nacional y las Fuerzas Armadas. Es importante mencionar que la atención privada de la TB es limitada en el Perú debido a la regulación que prohíbe la venta libre de medicamentos antituberculosos. Como resultado, los pacientes diagnosticados en el sector privado son referidos y atendidos en coordinación con ESSALUD y el MINSA, tanto para las formas sensibles como para las resistentes de la enfermedad (Alarcón, 2017).

De acuerdo con la Dirección de Prevención y Control de Tuberculosis (DPCTB), el Perú

ocupa el segundo lugar en la Latinoamérica en cuanto al mayor número estimado de casos de tuberculosis. Ante esta situación, el Plan Multisectorial de la Respuesta Nacional a la Tuberculosis 2010-2019 se implementó con el objetivo de mejorar la prestación de servicios de salud para la atención integral de personas afectadas por TB sensible y resistente. Dentro de las acciones realizadas, se enfocó en mejorar la infraestructura y el equipamiento de los establecimientos de salud prioritarios para el manejo especializado de la enfermedad. Asimismo, se fortaleció el control de infecciones en estos establecimientos, una medida necesaria para prevenir la propagación de la enfermedad en el entorno hospitalario. Otra importante iniciativa fue la implementación del manejo programático con fármacos del 5to grupo, siguiendo la clasificación establecida por la OMS.

En el 2019, se notificaron más de 32 000 casos de TB en todas sus formas, así como alrededor de 1600 casos de TB drogorresistente, disminuyendo en el 2020 cuando se reportaron 24,296 casos, de los cuales 1174 son pacientes con TB MDR y 114 pacientes con TB XDR, sin embargo, en el 2021 notificaron 26 437 donde el 88 % de ellos eran casos nuevos, siendo Lima y Callao las regiones más afectadas en el país. (MINSA, 2022)

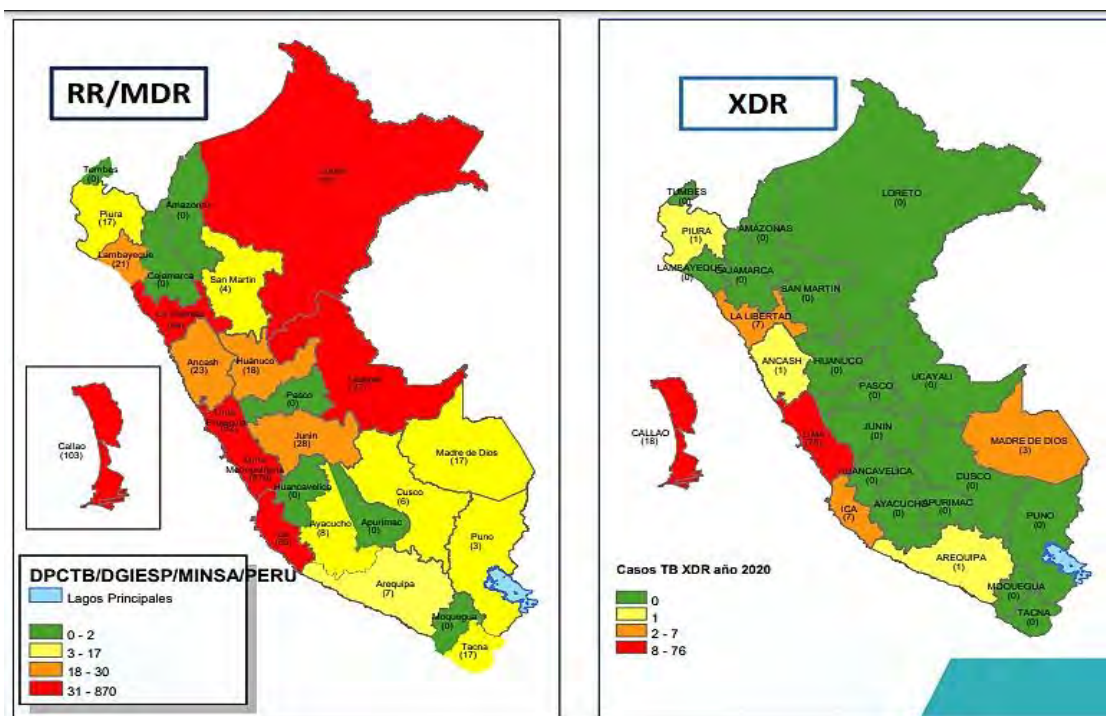
En 2022, se notificaron 27 mil casos nuevos de enfermedad activa y 17 mil casos nuevos de tuberculosis pulmonar frotis positivo, además el MINSA, menciona que se han registrado 12 regiones con un riesgo “muy alto” y “alto” de esta enfermedad en Perú. En el primer grupo se encuentran Ucayali, Madre de Dios, Loreto, Tacna, Tumbes y Callao y en el segundo está en *Lima*, Cusco, San Martín, Amazonas, Lambayeque y Cajamarca (DPCTB-MINSA,2022).

1.2.5. TUBERCULOSIS EN EL CUSCO

Según la Dirección Regional del Cusco mediante del informe asistencial refiere en el año 2018 hubo total de 2465 usuarios con tuberculosis de los cuales 166 son del sexo masculino, mientras que del sexo femenino presenta 80 casos, sin embargo 144 de ambos sexos presentan frotis positivo (Bravo, 2019).

Aunque existe muy poca información se puede encontrar datos en los boletines de información publicados por la Dirección de Prevención y Control de Tuberculosis (DPCTB), en el 2020 se observaron 6 casos de RR/MDR en la región del Cusco, y ningún caso de XDR, como se muestra en la Figura 5.

Figura 5. Casos de tuberculosis farmacorresistente (RR/MDR Y XDR) en el Cusco, 2022



Nota: DPCTB-MINSA (2022)

Para el año 2021, se identificó a la región del Cusco en una situación de muy alto riesgo en relación con la tuberculosis (TB) como se observa en la Tabla 2. La estratificación de

riesgo se basó en la combinación de doce indicadores, que comprenden cinco indicadores epidemiológicos y siete indicadores operacionales. Estos indicadores se han venido observando desde el año 2010, lo que permitió realizar un análisis longitudinal para determinar la situación de riesgo actual. A partir de este análisis, se clasificó como MUY ALTO riesgo a las regiones de Ucayali, Lima, Callao, Madre de Dios, Tumbes, Cusco y Amazonas. Por otro lado, las regiones de Loreto, Ica, San Martín, Huancavelica, Apurímac y Puno fueron clasificadas como ALTO riesgo.

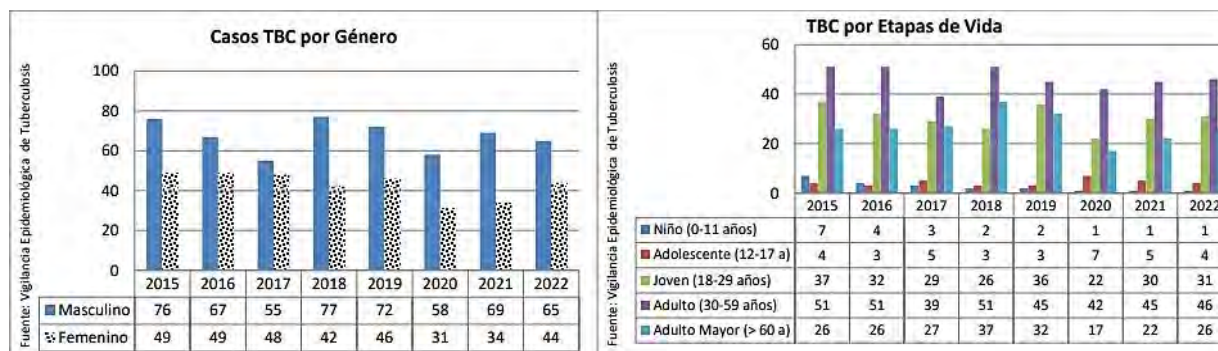
Es importante resaltar que se evidenció un mayor riesgo de tuberculosis en todas las regiones de la selva peruana, así como en Cusco en la sierra, Lima en la costa central y Tumbes en la costa norte. Estos hallazgos subrayan la necesidad de abordar la tuberculosis de manera prioritaria y coordinada en las diferentes regiones del país, con especial atención en aquellas identificadas con un mayor nivel de riesgo.

Tabla 2. *Tendencia del riesgo TB de la región Cusco, 2022*

TENDENCIA DEL RIESGO	MUY ALTO RIESGO	ALTO RIESGO	RIESGO MODERADO	RIESGO LEVE
	Ucayali Lima Callao Madre de Dios Tumbes Cusco Amazonas	Loreto Ica San Martín Huancavelica Apurímac Puno	Tacna Pasco Cajamarca Moquegua Ancash Lambayeque	La Libertad Arequipa Piura Ayacucho Junín Huánuco

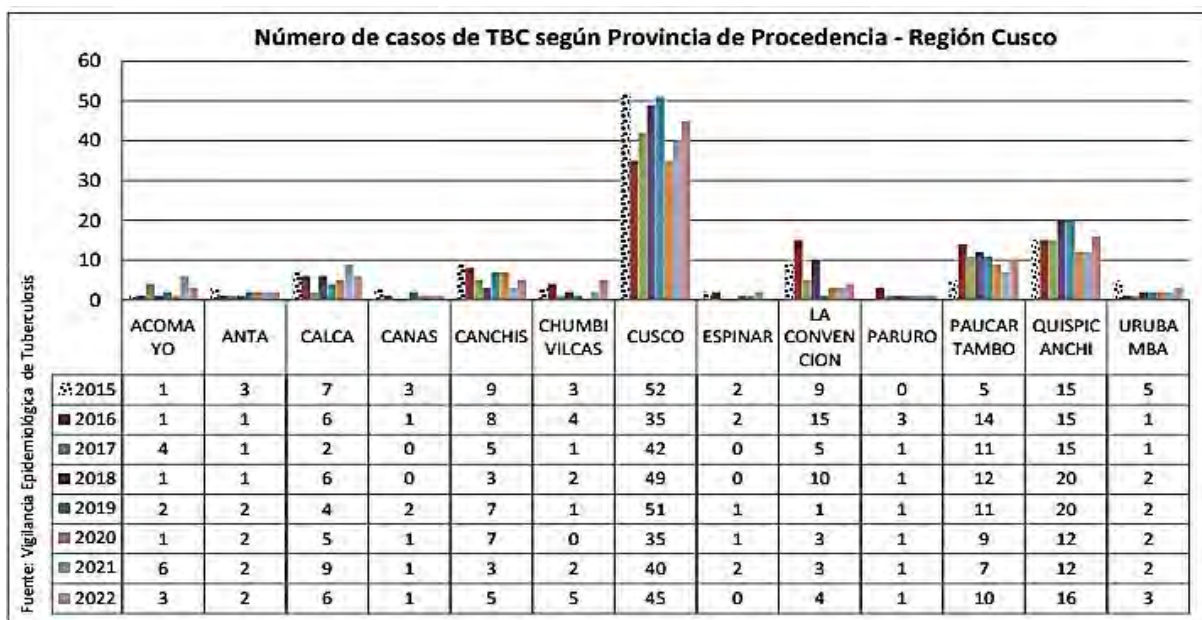
Nota: DPCTB-MINSA (2022)

Como se observa en la Tabla 3, En el año 2022, en Cusco se han captado un total de 109 pacientes con tuberculosis 60% (65) de género masculino y 40% (44) de género femenino. La etapa de vida adulto mayor y joven tienen el mayor número reportado de casos.

Tabla 3. Número de pacientes con tuberculosis de la región del Cusco en el 2022

Nota: Hospital Regional del Cusco (2022)

Así mismo, como se observa en la Tabla 4, la capital de la región es la que mayor cantidad de casos de TB ha presentado hasta el 2022.

Tabla 4. Número de casos de TBC según provincia de procedencia en la región del Cusco

Nota: Hospital Regional del Cusco (2022)

1.2.6. TUBERCULOSIS FARMACORRESISTENTE (TB-FR)

La tuberculosis farmacorresistente, es una forma de tuberculosis, en la que la bacteria *Mycobacterium tuberculosis* muestra resistencia a uno o más de los medicamentos antituberculosos más importantes utilizados en su tratamiento, la Isoniacida y la Rifampicina. La presencia de Tuberculosis Resistente a Fármacos (TB-FR) se determina al conocer el patrón de resistencia a los medicamentos antituberculosos, mediante pruebas fenotípicas o genotípicas. La farmacorresistencia se clasifica en base a las pruebas de sensibilidad a los fármacos (PFS) de la siguiente manera:

Monorresistencia: Cuando hay resistencia a un solo medicamento antituberculoso de primera línea.

Polirresistencia: Se refiere a la resistencia a más de un medicamento antituberculoso de primera línea, pero sin ser simultánea para la Isoniacida y la Rifampicina.

Multidrogacorresistencia (MDR): Implica resistencia tanto a la Isoniacida como a la Rifampicina de manera simultánea.

Extensamente resistente (XDR): Se produce cuando existe resistencia a cualquier fluoroquinolona y al menos a uno de los tres medicamentos inyectables de segunda línea (capreomicina, kanamicina y amikacina), en casos con multidrogacorresistencia.

Resistencia a la Rifampicina (RR): Esta resistencia se detecta mediante métodos fenotípicos y genotípicos, y puede presentarse sola o en combinación con resistencia a otros medicamentos antituberculosos. Esto incluye cualquier nivel de resistencia a la Rifampicina, ya sea monorresistencia, multidrogacorresistencia, polirresistencia o la extensamente resistente (DGE, 2019).

Mycobacterium tuberculosis tiene la capacidad de acumular mutaciones espontáneas y

aleatorias, lo que le confiere una característica única al generar cambios en los sitios de acción de los medicamentos antituberculosos, lo que lleva a adquirir resistencia a ellos. Existen tres mecanismos mediante los cuales el *M. tuberculosis* puede desarrollar resistencia a los fármacos:

1. Generando mecanismos de barrera que impiden la entrada del fármaco a la célula.
2. Produciendo enzimas que inactivan los fármacos a nivel intracelular.
3. Modificando el blanco de acción del fármaco, lo que implica mutaciones puntuales en genes específicos del microorganismo. Esta última es la forma más comúnmente utilizada por esta bacteria (Acevedo, 2013)

Es importante utilizar esquemas de tratamiento adecuados y completos para prevenir la propagación de cepas resistentes y mejorar el control de la tuberculosis. La aparición de resistencia subraya la importancia de una vigilancia epidemiológica efectiva para monitorizar y tomar medidas oportunas contra la aparición y propagación de cepas resistentes.

1.2.7. RESISTENCIA A ISONIACIDA

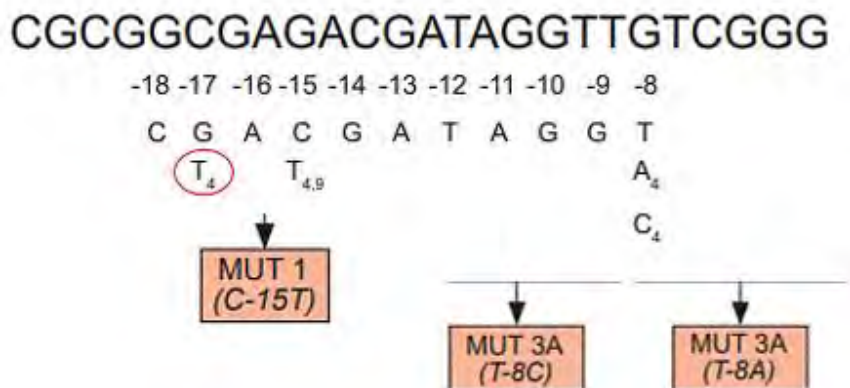
1.2.7.1. GENES DE RESISTENCIA A ISONIACIDA:

Mutaciones en varios genes, incluyendo KatG, *ahpC*, *InhA*, *kasA* y *ndh* se han asociado con resistencia a INH. Sin embargo, dos mecanismos moleculares han mostrado ser la principal causa de resistencia a este medicamento: mutaciones en los genes *KatG*, *InhA* y su región promotora (Gómez et al, 2018).

La proteína *InhA* (enoyl acyl Carrier protein reductase) está involucrada en la síntesis de ácidos micólicos. En cepas resistentes se ha encontrado transversiones en *InhA* que involucran durante la transcripción de la proteína, el reemplazo de un aminoácido por otro

este tipo de mutaciones se ha hallado en distintas partes del locus, como se observa en la Figura 6. Alternativamente también se ha hallado mutaciones en las regiones promotoras putativas que producirían una hiper expresión de *InhA* la cual condicionaría una resistencia a INH.

Figura 6. Mutaciones en el gen *InhA*

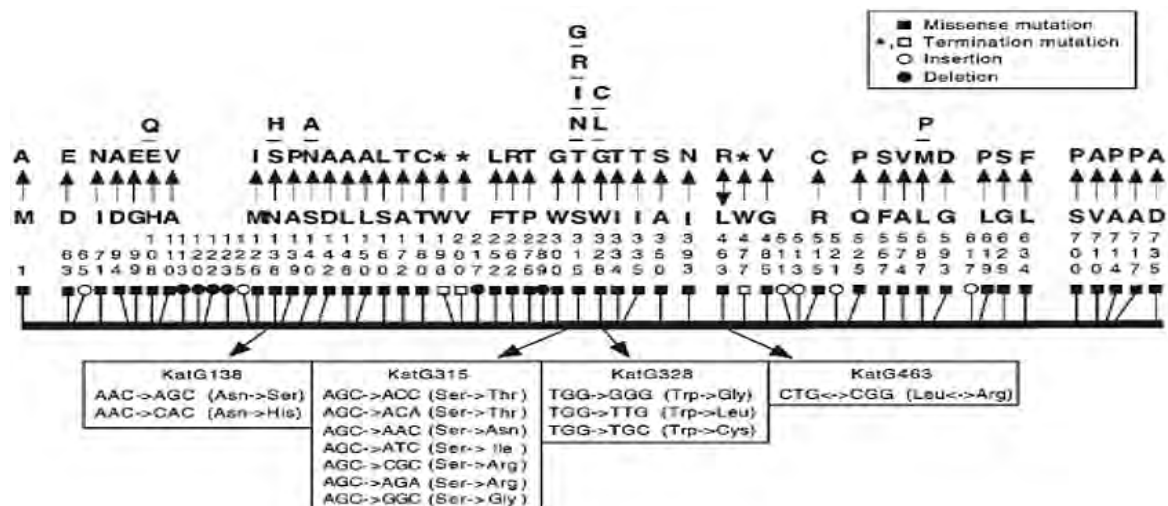


A. Mutaciones a nivel de nucleótidos reportadas para la región promotora del gen *InhA*.

Nota: Modificado de Vigo *et al.* (2020)

El gen *KatG* tiene un tamaño de 1.771 pares de bases (pb); codifica la enzima catalasa-peroxidasa que convierte la pro-droga INH en su forma activa. Del 30–65% de las mutaciones se localizan en el codón 315Ser, siendo las más frecuentes las sustituciones de la serina 315 por treonina (S 315→T) y el residuo de arginina 463 por leucina (R 463→L) También serina 315 puede cambiar por Asn o Arg; otras mutaciones de menor frecuencia se han reportado en los codones 300, 321, 418, 501, 525, 587 y 700, como se observa en la Figura 7. La mutación S315T anula la capacidad de la enzima de activar la pro-droga, lo que induce altos niveles de resistencia a INH.

Figura 7. Mutaciones en el gen *KatG*



Polimorfismos en la proteína *KatG* de *M. tuberculosis*. (Las variantes de los aminoácidos se numeran verticalmente). Para los aminoácidos se utilizan abreviaturas. Se indica a continuación el esquema de nucleótidos y aminoácidos donde se producen cambios en los codones con dos o más variantes de codones. El cambio en *KatG463* Leu ↔ Arg es un polimorfismo natural que ocurre y no es asociado con la susceptibilidad a HA: Alanina, C: Cisteína, D: Ácido aspártico, E: Ácido glutámico, F: Fenilalanina, G: Glicina, H: Histidina; I: Isoleucina, L: Leucina, M: Metionina; N: Asparagina, P: Prolina, Q: Glutamina; R: Arginina; S: Serina, T: Treonina; W: Triptófano; V: Valina.

Nota: Jaramillo (2009) citado de S. Ramaswamy, J. M. Musser (1998)

Se ha observado que las mutaciones en el gen *KatG* S315T ocurren más frecuentemente en cepas MDR que en monorresistentes a INH y se ha postulado que esta alteración no produce un costo en la aptitud biológica de la bacteria. Las mutaciones en *KatG* e *InhA* están presentes en 50-95% y 15-34%, respectivamente, de los aislamientos clínicos resistentes a INH. Mutaciones en *InhA* causan resistencia no solo a INH sino también a Etionamida, una droga de segunda línea estructuralmente relacionada a INH. (Tello, 2008; Jaramillo, 2009; Cuevas & Zenteno, 2010; Monteserin, 2016).

También, según Pecho (2020) la frecuencia de estas dos mutaciones (*KatG* e *InhA*) varía geográficamente.

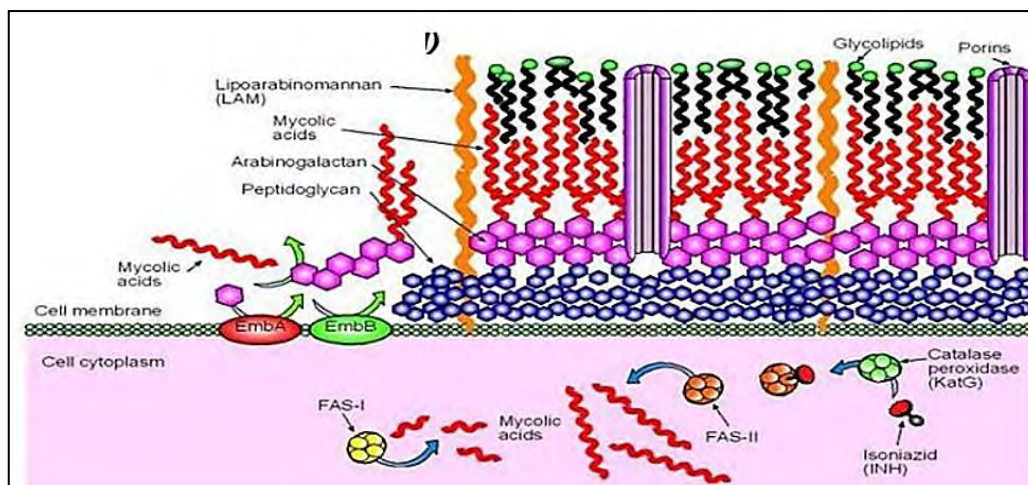
1.2.7.2. MECANISMO DE RESISTENCIA A ISONIACIDA

La Isoniacida (Hidrazida del ácido isonicotínico, INH) es un medicamento ampliamente eficaz en el tratamiento de la tuberculosis. Actúa bloqueando ciertas enzimas esenciales para las micobacterias, lo que resulta en la interrupción de la síntesis del ácido micólico y, en la incapacidad de formar la pared bacteriana (Figura 8).

La administración principal de la Isoniacida es oral, aunque también es posible administrarla por vía intramuscular. Después de la administración oral, la Isoniacida se absorbe rápidamente, alcanzando niveles máximos en la sangre entre 1 y 2 horas más tarde. Sin embargo, la presencia de alimentos en el estómago reduce tanto la velocidad como la cantidad de absorción. Este medicamento se distribuye ampliamente por todo el organismo, incluyendo órganos y tejidos, y tiene la capacidad de penetrar en las meninges inflamadas, logrando niveles terapéuticos en el líquido cefalorraquídeo. Además, atraviesa la barrera placentaria y se distribuye en la leche materna.

En el hígado, la Isoniacida es metabolizada a través de la acetilación, dando lugar a metabolitos inactivos. La velocidad de eliminación del fármaco, con una vida media de 1-4 horas, depende de si el paciente es un metabolizador rápido o lento. Sin embargo, esta vida media no afecta la eficacia del medicamento cuando se administra en una sola dosis diaria. Aproximadamente el 75% de la Isoniacida y sus metabolitos se excretan en la orina, heces y esputo. (ANMAT, 2012)

Figura 8. Mecanismo de acción de Isoniacida.



La Isoniacida es un profármaco activado por la enzima catalasa-peroxidasa, que una vez activo interfiere con la síntesis de los ácidos micólicos de cadena larga (FAS-II).

Nota: Martínez (2014).

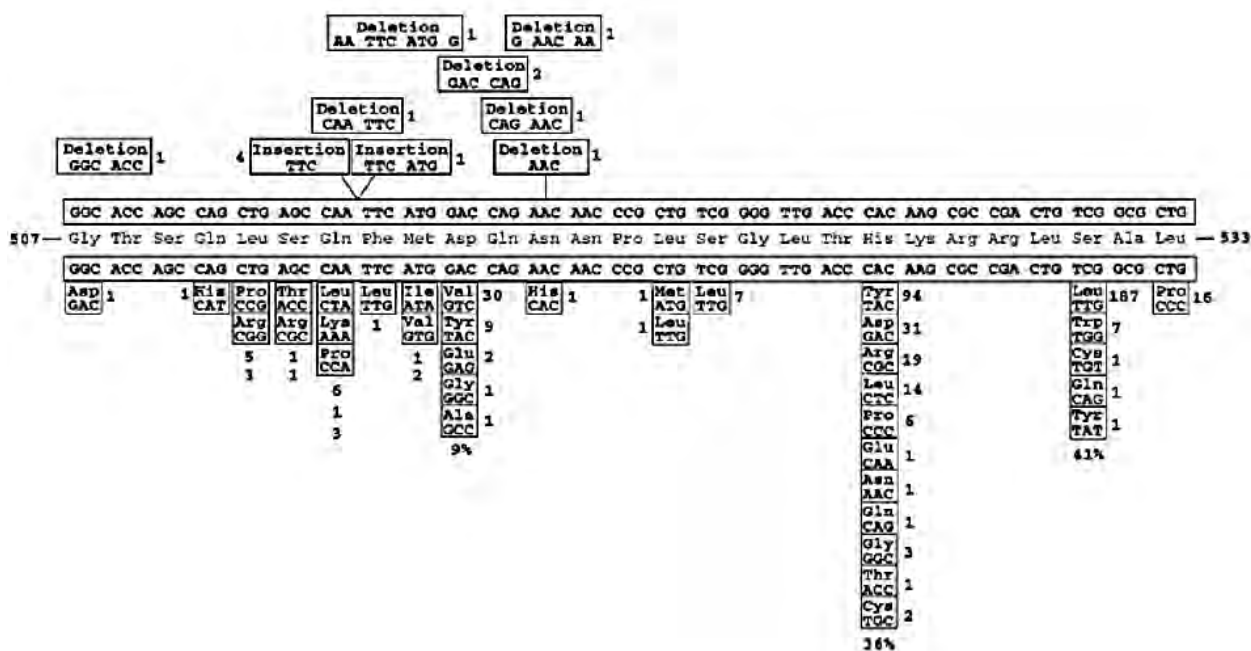
1.2.8. RESISTENCIA A RIFAMPICINA

1.2.8.1. GENES DE RESISTENCIA A RIFAMPICINA

Pese a que el gen RpoB tiene un tamaño de 3.534 pb, el 96 o 97% de las mutaciones que causan resistencia a Rifampicina están localizadas en una región de 81 pb, entre los codones 507–533 y consisten por lo general en mutaciones puntuales no sinónimas. Como se observa en la Figura 9, las mutaciones en esta región incluyen deleciones, inserciones, sustituciones, siendo las más frecuentes, las mutaciones en codones para asparagina 516, histidina 526 y serina 531, de acuerdo con los resultados de diversos estudios. En el 40–70% de los aislados, se observaron mutaciones puntuales en el codón 531 Ser por Leu (TCG- TTG) o por Thr (AGC-ACA). Del 32–36% de las cepas estudiadas mostraron cambios en el codón 526 His; y del 7–9% en el codón 516 Asp. También se han reportado mutaciones o deleciones de menor frecuencia en otros codones como: 498, 511–518, 524–527, 456, 531, 533. En los últimos años se han observado algunos aislados resistentes

cuya mutación no se localiza en la región de 81 pb, por lo cual se propone la existencia de mecanismos adicionales generadores de resistencia. (Jaramillo, 2009; Cuevas & Zenteno, 2010).

Figura 9. Mutaciones en el gen *RpoB*.



Mutaciones en los codones 507 - 533 del gen *RpoB* en *M. tuberculosis* en 307 cepas resistentes a *R*. Las inserciones y supresiones se muestran por encima de la secuencia de tipo salvaje y las sustituciones se muestran hacia abajo de la secuencia de tipo salvaje.

Nota: Jaramillo (2009) citado de S. Ramaswamy, J. M. Musser (1998)

1.2.8.2. MECANISMO DE RESISTENCIA A RIFAMPICINA

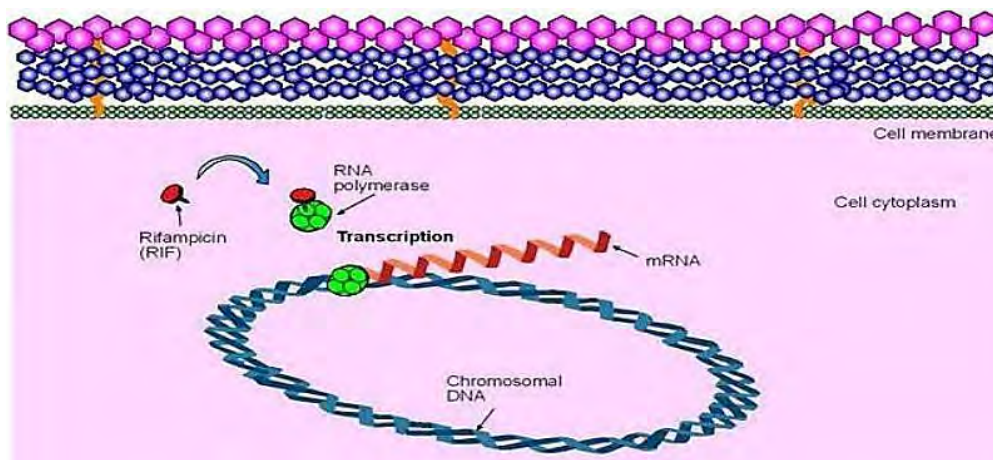
La Rifampicina (RIF) es un fármaco con un alto poder bactericida y se difunde fácilmente a través de la membrana plasmática y la envoltura nuclear, el blanco de la RIF es la RNA polimerasa, siendo su función específica la de inhibir la transición de la síntesis de pequeños oligoribonucleicos a transcritos de longitud total (Figura 10). La RNA polimerasa es un complejo oligomérico compuesto por 4 subunidades α , β , β' γ δ los cuales son codificados por *RpoA*, *RpoB*, *RpoC* y *RpoD* respectivamente. Este fármaco

actúa directamente en la subunidad β por lo que la mutación en RpoB genera resistencia a la RIF. (Tello, 2008).

La Rifampicina se absorbe fácilmente en el tracto gastrointestinal, y una vez absorbida, es rápidamente eliminada en la bilis, donde sufre un proceso de desacetilación progresiva, aproximadamente, en unas 6 horas, casi todo el fármaco se encuentra en forma desacetilada. Es importante destacar que este metabolito conserva su actividad antibacteriana, lo que significa que sigue siendo efectivo contra las bacterias.

Este fármaco experimenta un fenómeno de circulación enterohepática, lo que significa que se reabsorbe en el intestino después de ser excretado en la bilis. Sin embargo, debido a la desacetilación, la reabsorción intestinal se reduce, lo que facilita la eliminación del fármaco del organismo. Alrededor del 30% de una dosis de Rifampicina se excreta a través de la orina.

Figura 10. Mecanismo de acción de la Rifampicina



La Rifampicina interfiere con la transcripción del ARN mensajero al unirse a la subunidad β de la ARN polimerasa.

Nota: Martínez (2014)

1.2.9. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE TUBERCULOSIS FARMACORRESISTENTE

- **EL MÉTODO DE LAS PROPORCIONES BACTEC.**

El método BACTEC utiliza cultivos bacterianos en medios con y sin antibióticos para detectar resistencia. Usa ácido palmítico marcado con carbono-14, y mide la radioactividad del CO₂ liberado por las micobacterias para evaluar el crecimiento. Aunque es preciso (más del 90% de sensibilidad y especificidad), tiene desventajas como residuos radioactivos, altos costos y necesidad de personal especializado (Cuevas & Zenteno, 2010). Además, su lentitud puede contribuir a la transmisión de tuberculosis multidrogorresistente (TB-MDR).

- **EL BACTEC MGIT 960S**

Es un método automatizado para el crecimiento y detección de *Mycobacterium*, basado en un sensor de fluorescencia sensible al consumo de oxígeno. Este sistema logra una sensibilidad del 100% y una especificidad del 89.8% para la Estreptomina. A diferencia del sistema BACTEC, el MGIT 960s ofrece la ventaja de detectar el crecimiento micobacteriano de manera más rápida y sin generar residuos radioactivos. Sin embargo, mantiene desafíos como la necesidad de personal capacitado y altos costos de inversión en equipo, materiales y reactivos (Cuevas & Zenteno, 2010).

- **El ensayo de susceptibilidad a medicamentos mediante observación microscópica (MODS)**

Detecta la resistencia de *M. tuberculosis* a Isoniacida y Rifampicina directamente en muestras de esputo. Aprovechando el rápido crecimiento del bacilo en medio líquido, esta técnica observa placas de cultivo con medio Middlebrook 7H9 y el antibiótico correspondiente, inoculadas con muestras de esputo a través de un microscopio de luz

invertida. Este método identifica microcolonias características de la tuberculosis en aproximadamente 7 días. (Cuevas & Zenteno, 2010).

- **El método de oxi-reducción:** Utiliza tres enfoques diferentes: alamar azul, resazurina y la actividad nitroreductasa.

1. **Alamar Azul:** Este método colorimétrico usa el colorante alamar azul, que cambia de azul a rosa en presencia de células viables. Es eficaz para detectar resistencia a Isoniacida y Rifampicina, pero es menos claro para Estreptomina y Etambutol. Es económico y adecuado para países con recursos limitados (Cuevas & Zenteno, 2010).

2. **Ensayo de Microvaloración con Resazurina (REMA):** Utiliza el indicador resazurina en medios con diferentes concentraciones de antibióticos, cambiando de azul a rosa cuando hay bacilos vivos. Es sencillo y económico, aunque puede generar aerosoles y transferir bacilos entre pozos (Cuevas & Zenteno, 2010).

3. **Prueba de Nitroreductasa:** Mide la actividad de la enzima nitroreductasa, que reduce el nitrito a nitrato, mostrando resistencia mediante un cambio de color de rosa a violeta. Proporciona resultados en 10-14 días y es de bajo costo con buenos niveles de sensibilidad y especificidad (Cuevas & Zenteno, 2010)

- **MICOBACTERIOFAGOS**

La utilización de micobacteriófagos para el diagnóstico de tuberculosis resistente a medicamentos (TB-DR) proporciona resultados fenotípicos de manera rápida y a un costo accesible.

1. **La amplificación biológica de fagos**

Este método aumenta la cantidad de fagos en micobacterias expuestas previamente a antibióticos. Tras la fago infección, los fagos que entraron en las bacterias sobrevivientes

se replican, liberando nuevas partículas de fago en el medio. Las placas de lisis en las células infectadas indican la resistencia bacteriana (Cuevas & Zenteno, 2010).

2. Fagos reporteros de luciferasa

Se usan fagos con el gen reportero *fflux*, que codifica la luciferasa de luciérnaga. Este gen solo se expresa en células viables, liberando fluorescencia en presencia de ATP. En muestras de tuberculosis sospechosas, se aplican fagos reporteros, y las cepas resistentes emiten fluorescencia detectable con un luminómetro o película radiográfica. El luminómetro proporciona resultados en unas 54 horas, mientras que la película radiográfica es más económica pero más lenta (94 horas). También se ha usado en muestras de esputo, con resultados en aproximadamente 12 días, siendo útil en países con alta prevalencia de TB-FR (Cuevas & Zenteno, 2010).

• MÉTODOS DIAGNÓSTICOS GENOTÍPICOS O MOLECULARES

Los métodos genotípicos de diagnóstico han sido posibles gracias a la secuenciación del genoma de *M. tuberculosis* y la identificación de genes asociados a la farmacorresistencia. Estos métodos permiten identificar mutaciones con precisión, generando resultados a partir de 100 bacilos o menos en cuestión de horas (Cuevas & Zenteno, 2010)

1. Secuenciación Genómica:

- Método más preciso para definir genotípicamente una cepa farmacorresistente.
- Permite la identificación exacta de mutaciones al analizar la secuencia nucleotídica del ADN.
- Limitaciones: Altos costos de equipo, reactivos, y personal especializado.

2. Sistemas de Detección por Fluorescencia mediante PCR en Tiempo Real:

- Utiliza sondas de ADN marcadas con fluorescencia para detectar mutaciones.

- Amplifica la región de interés y analiza la fluorescencia del producto generado.
- Alta sensibilidad y especificidad, con aplicaciones en diversas muestras clínicas.

3. Polimorfismo Conformacional de Hebra Sencilla por PCR (SSCP):

- Método de bajo costo para identificar mutaciones asociadas con resistencia a antibióticos.
- Basado en la conformación espacial del ADN en condiciones no desnaturalizantes.
- Cuestionamientos sobre su sensibilidad y especificidad.

4. Ensayo de Prueba en Línea (LiPA):

- Utiliza hibridación de ADN sobre una membrana con sondas de oligonucleótidos.
- Alta sensibilidad y especificidad para detectar tuberculosis resistente a Rifampicina.
- Se emplea en muestras previamente diagnosticadas por cultivo en BACTEC.

5. GenoType MTBDRplus:

- Método comercial para detectar cepas resistentes a Rifampicina e Isoniacida.
- Puede aplicarse en cultivo o directamente en esputo.
- Alta sensibilidad y especificidad para ambas drogas.

6. Microdispositivos de ADN (DNA Microarray):

- Técnica reciente que utiliza hibridación de sondas marcadas con fluorocromos.
- Permite analizar cientos de mutaciones en genes simultáneamente.
- Ahorro de tiempo considerable, pero limitado por altos costos de equipo y personal especializado.

. El resumen de estos métodos de diagnóstico para TB-FR se observa en la Tabla 5.

Tabla 5. Resumen de métodos de diagnóstico de tuberculosis farmacorresistente

Metodo	Descripción	Tipo de muestra	Tiempo de resultados	Sensibilidad	Especificidad	Costos	Principal(es) desventajas
Fenotípicas Bactec	Método radiométrico basado en la identificación del crecimiento de micobacterias en medios de cultivo con determinada droga, mediante el marcaje con C14.	Cultivo	28-42 días 60-90 días	>90%	>90%	20-50US(Dolares) Por muestra.	Disponibilidad de desperdicios radioactivos, altos costos, personal capacitado, 3 semanas para obtener resultados.
Bactec MGIT	Método fluorométrico basado en la identificación de crecimiento de micobacterias en medios con antibiótico, mediante un sensor de fluorescencia sensible al consumo de O ₂ .	Cultivo	7-14 días	(SIREP) 100%	(S)89,8%-(R)100%	60US (Dolares) Por muestra.	Altos costos, personal capacitado, tiempo para crecimiento de los bacilos
MODS	Método basado en el rápido crecimiento de basilos en placas de cultivo líquido, inoculadas con muestras de esputo y antibiótico; detectando la forma de cordón de las microcolonias de TB con microscopio de luz invertida.	Esputo	7 días	(I,R) 86,6%-97,8%	(I,R) 99,6% - 100%	2-3 US(Dolares) Por muestra.	Necesidad de microscopio invertido y personal capacitado
Alamar azul	Método colorimétrico que identifica la presencia de micobacterias en medios con antibióticos, con base en reacciones de oxidoreducción evidentes por el colorante alamar azul.	Cultivo, Esputo	3-5 semanas	(I,R) 98%	(I,R) 100%	3-10US(Dolares) Por muestra.	No hay resultados contundentes para drogas bacteriostáticas como estreptomina y etambutol.
Resazurina	Método similar al alamar azul, que emplea el indicador resazurina, detecta cambio de coloración de azul a rosa.	Cultivo, Esputo	4-5 semanas	(I,R) 89,4%-94%	(I,R) 100%	3-10US(Dolares) Por muestra.	Genera aerosoles biocontaminantes, falsos positivos por contaminación de placas
Nitroductasa	Cuantifica la actividad de la enzima oxidoreductasa, que reduce el nitrato en nitrato en medio líquido, detecta bacilos resistentes por un cambio en la coloración de rosa a rojo o violeta.	Cultivo Esputo	21-28 7-18 días	(I,R) 100% (R)87,5%	(I,R) 100%	3-10US(Dolares) Por muestra.	Genera aerosoles biocontaminantes.
LPR	Método basado en la identificación de micobacterias mediante la emisión de luz por lucifera, como respuesta a la infección de bacilos con fagos que tienen inserto el gen flxX.	Cultivo Esputo	1-12 semanas 12 días	(I,R)68-100% 97%	(I,R)73-99%	8-10US(Dolares) Por muestra.	Requiere personal capacitado
Genotípicas secuenciación	Método que identifica y analiza la secuencia nucleotídica de un fragmento de gen específico mediante un paquete de computo, con la finalidad de identificar mutaciones que se sabe causan drogocorresistencia.	ADN de cultivo, esputo y extrapulmon	8 horas	100%	100%	15US(Dolares) Por muestra.	Alto costo, personal altamente capacitado.
Q-PCR	Permite la detección de mutaciones en fragmentos de genes causantes de drogocorresistencia mediante el uso de sondas de ADN marcadas con fluorescencia.	ADN de cultivo, esputo y extrapulmon	8 horas	70-90%	>85%	5-10US(Dolares) Por muestra.	Alto costo, personal altamente capacitado, conocimiento de posibles lugares de mutación, baja sensibilidad para la identificación de resistencia fenotípica.
SSCP	Identifica cepas mutadas con base en que las diferencias en la secuencia de hebras individuales de ADN en condiciones no desnaturalizantes, ocasionan diferencias en autoplegamiento y por tanto distinto patrón de migración en geles de poliacrilamida en comparación con cepas sensibles.	ADN de cultivo.	8-12 horas	(R) 88% (I) 80%	R 98% I 100%	3-6US(Dolares) Por muestra.	Baja sensibilidad en especial para mutaciones en isoniacida, rifampicina y etambutol.
LiPA	Sistema colorimétrico que identifica mutaciones basadas en la hibridación reversa de fragmentos de PCR de <i>Mycobacterium</i> biotinizados, con sondas de nucleótidos colocados en línea en una tira de nitrocelulosa.	ADN de cultivo y esputo	12 horas	(R) > 95% (R) 80-100%	(R) 100% (R) 100%	45-50US(Dolares) Por muestra.	Comercialmente solo hay disponibilidad para detección de mutaciones de resistencia a Rifampicina.
GenoType MTBDRplus	Técnica similar a LiPA, detecta resistencia a isoniacida y rifampicina.	ADN de cultivo y esputo	6 horas	(R) 98,7% (I)92% (R) 96,8%(I)	(I,R) 99,1%	30-50US(Dolares) Por muestra.	So lo esta disponible para diagnóstico de resistencia a isoniacida y rifampicina.
Microarreglos	Fundamentado en el diagnóstico de drogocorresistencia en la hibridación de ADN de <i>Mycobacterium</i> con múltiples sondas específicas con fluorocromos adheridas a una membrana, permitiendo el análisis de miles de genes en un solo ensayo.	ADN de cultivo y esputo	6-8 horas	ND	ND	ND	Conocimiento previo de todas las mutaciones causantes de drogocorresistencia, alto costo, personal altamente capacitado.

E: etambutol; I: Isoniacida; LiPA: ensayo de prueba en línea; LPR: Fagos reporteros de lucifera; MODS: microscopic observation drug susceptibility assay; P: Pirazinamida; Q-PCR: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real; R: Rifampicina; S: Estreptomina; SSCP: polimorfismos conformacionales de hebra sencilla.

Costos: US dólares, no se consideran costos derivados de manejo, transportación, gastos de pago personal y equipamientos.

Nota: Modificado de Cuevas & Zenteno, (2010)

1.2.10. GENOTYPE ® MTBDR PLUS V2.0

El ensayo “Genotype MTBDR plus v2.0”, es una prueba molecular cualitativa in vitro que se utiliza para identificar el complejo *Mycobacterium tuberculosis* y determinar su resistencia a los medicamentos Rifampicina e Isoniacida. Este ensayo se lleva a cabo utilizando muestras de esputo con baciloscopia positiva, cultivos o aislamientos obtenidos en medios sólidos (Ogawa y Lowenstein Jensen) o medios líquidos (Bactec MGIT 960).

El fundamento de esta prueba se basa en la tecnología de tiras de ADN, en la cual las tiras de membrana se encuentran recubiertas con sondas específicas inmovilizadas pertenecientes a secuencias silvestres (Wildtype) y de las mutaciones más frecuentes de los genes katG e InhA (Isoniacida) y RpoB (Rifampicina) que son complementarias a los ácidos nucleicos amplificados, como se observa en la Figura 11. En un proceso altamente específico, se produce la unión entre estas sondas y el ADN complementario presente en la muestra.

En este contexto, la detección de la resistencia a la Rifampicina se lleva a cabo mediante la identificación de las mutaciones más comunes en el gen RpoB, que codifica la subunidad beta de la RNA polimerasa. Para realizar este análisis, se emplea una tira de membrana que cuenta con una zona denominada "control de locus" y 8 sondas de tipo "wildtype" (WT) que permiten analizar el segmento entre los códones 505 y 533. Además, se incluyen cuatro sondas específicas para las mutaciones asp516val, His526Tyr, His526Asp y Ser531leu, como se observa en la Tabla 6.

Tabla 6. Bandas de tipo salvaje y bandas de mutación del marcador de resistencia a Rifampicina, *rpoB*.

Ausencia banda WT	Codón analizado	Presencia banda de mutación	Mutación
<i>rpoB</i> WT1	505-509		F505L T508A S509T
<i>rpoB</i> WT2	510-513		E510H L511P*
<i>rpoB</i> WT2/WT3	510-517		Q513L* Q513P del514-516
<i>rpoB</i> WT3/WT4	513-519	<u><i>rpoB</i> MUT1</u>	D516V D516Y del515
<i>rpoB</i> WT4/WT5	516-522		del518* N518I
<i>rpoB</i> WT5/WT6	518-525		S522L S522Q
<i>rpoB</i> WT7	526-529	<u><i>rpoB</i> MUT2A</u> <u><i>rpoB</i> MUT2B</u>	H526Y H526D H526R H526P* H526Q H526N H526L H526S H526C
<i>rpoB</i> WT8	530-533	<u><i>rpoB</i> MUT3</u>	S531L S531Q* S531W L533P

Abreviaciones: WT, bandas wild type o salvaje; MUT, bandas de mutación

Nota: Rando (2021)

Por otro lado, para identificar la resistencia a la Isoniacida en un nivel elevado, se examinan las mutaciones más frecuentes en el gen *KatG*, que codifica la catalasa peroxidasa bacteriana. En la tira de membrana, se encuentra una zona de "control de locus" y una sonda de tipo "wildtype" (WT) que analiza el codón 315, como se observa en la Tabla 7. Asimismo, se utilizan dos sondas específicas para las mutaciones Ser315Thr1 y Ser315Thr2.

Para detectar la resistencia a la Isoniacida en un nivel bajo, se analizan las mutaciones más comunes en la región del gen *InhA*, que codifica la NADH enoil ACP reductasa bacteriana. En la tira de membrana, se incluyen una zona de "control de locus", dos sondas "wildtype" y cuatro sondas para las mutaciones C-15T, A-16G, T-8C y T-8A, Como se muestra en la Tabla 8.

Tabla 7. Bandas de tipo salvaje y bandas de mutación marcador de alto nivel de resistencia a Isoniacida, *KatG*

Ausencia banda WT	Codón analizado	Presencia banda de mutación	Mutación
<i>katG</i> WT1	315	<i>katG</i> MUT1	S315T1
		<i>katG</i> MUT2	S315T2

Abreviaciones: WT, bandas wild type o salvaje; MUT, bandas de mutación

Nota: Rando (2021)

Tabla 8. Bandas de tipo salvaje y bandas de mutación marcador de bajo nivel de resistencia a Isoniacida, *InhA*

Ausencia banda WT	Posición de bases analizadas	Presencia banda de mutación	Mutación
<i>inhA</i> WT1	-15	<i>inhA</i> MUT1	C-15T
	-16	<i>inhA</i> MUT2	A-16G
<i>inhA</i> WT2	-8	<i>inhA</i> MUT3A	T-8C
		<i>inhA</i> MUT3B	T-8A

Abreviaciones: WT, bandas wild type o salvaje; MUT, bandas de mutación

Nota: Rando (2021)

Esta técnica permite detectar de manera precisa y rápida la presencia del complejo *M. tuberculosis* en la muestra analizada, así como identificar si existe resistencia a los medicamentos Rifampicina e Isoniacida. La utilización de tecnologías basadas en ADN ha revolucionado el diagnóstico de enfermedades infecciosas, incluida la tuberculosis, al proporcionar resultados más rápidos y confiables, lo que permite una intervención y tratamiento oportunos para los pacientes afectados.

Actualmente puede usarse a partir de cultivos o sobre muestras clínicas, incluso con baciloscopia negativa. Diversos metaanálisis establecen una sensibilidad global del 98% para la resistencia a la Rifampicina y del 84,3% para la Isoniacida, con especificidad del 98-99,5%, respectivamente.

Se han descrito resultados no interpretables por ausencia simultánea de bandas naturales y mutadas en el mismo locus, debidas a mutaciones no contenidas en el kit (Alcaide *et.al.*,

2017).

Figura 11. Tira de nitrocelulosa con bandas de reacción.



Donde: CC: control de conjugado; AC: control de amplificación; TUB: *M. tuberculosis complex*
WT: sondas wildtype y MUT: sondas de mutación

Nota: Asencios (2012)

1.2.11. TRATAMIENTO DE TUBERCULOSIS

El tratamiento para la tuberculosis en Perú sigue las directrices establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Ministerio de Salud del país. El esquema terapéutico para la tuberculosis en Perú es la terapia estándar de corta duración, conocida como el tratamiento directamente observado (TDO). El TDO se basa en la combinación de varios medicamentos antituberculosos y su administración y supervisión son realizadas por profesionales de la salud, generalmente consiste en una fase inicial de cuatro medicamentos

durante dos meses, seguida de una fase de mantenimiento con dos medicamentos durante otros cuatro meses. Los medicamentos utilizados incluyen Isoniacida, Rifampicina, pirazinamida y etambutol. En casos especiales, como la tuberculosis resistente a medicamentos, se pueden utilizar otros fármacos de segunda línea y el tratamiento se extiende durante un período más prolongado.

Para el tratamiento de la TBMDR, nuevos estudios y la aparición de nuevos fármacos y reutilización de fármacos ya existentes han provocado un cambio importante en las recomendaciones de la OMS, como se observa en la Tabla 9; publicándose las nuevas guías de 2019 en la que los grupos de fármacos han cambiado completamente en la cual se utiliza un esquema sin inyectables, priorizando fármacos del grupo A. (Aznar, 2019)

Tabla 9. Grupo de fármacos para el tratamiento de TBMDR.

Grupos y pasos	Fármaco y abreviatura	
Grupo A: Incluir los tres fármacos	Levofloxacina o moxifloxacina	Lfx Mfx
	Bedaquilina ^{h,c}	Bdq
	Linezolid ^d	Lzd
	Grupo B: Agregar uno o ambos fármacos	Clofazimina
	Cicloserina o terizidona	Cs Trd
Grupo C: Agregar para completar el esquema y cuando no se puedan usar fármacos de los grupos A y B	Etambutol	E
	Delamanid ^{e,e}	Dlm
	Pirazinamida ^f	Z
	Imipenem-cilastatina o meropenem ^g	Ipm-Cln Mpm
	Amikacina o estreptomicina ^h	Am S
	Etionamida o protionamida ⁱ	Eto Pto
	Ácido paraaminosalicílico ^j	PAS

Nota: Organización Panamericana de la Salud. (2023).

El Ministerio de Salud de Perú y otras instituciones de salud pública han establecido programas y guías específicas para el tratamiento de la tuberculosis farmacorresistente. Estos programas se centran en el uso de medicamentos de segunda línea más potentes y efectivos, así como en la importancia de la supervisión estrecha y el monitoreo de la adherencia al tratamiento. Actualmente el tratamiento es individualizado y se adapta a cada paciente según sus resultados de pruebas de sensibilidad a medicamentos. Se utilizan combinaciones de medicamentos de segunda línea, como fluoroquinolonas, aminoglucósidos, cicloserina, linezolid, entre otros. Los esquemas terapéuticos pueden ser prolongados y requerir el uso de múltiples medicamentos durante 18 meses o más. La administración de estos medicamentos de segunda línea puede tener efectos secundarios graves y requiere una supervisión estrecha por parte de profesionales de la salud. Además, es fundamental proporcionar apoyo psicosocial a los pacientes durante el tratamiento debido a su duración y los efectos adversos asociados.

CAPÍTULO II.

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. ÁREA DE ESTUDIO:

El presente estudio se desarrolló en el laboratorio de tuberculosis (Nivel de bioseguridad 2) y en el Laboratorio de Biología molecular del Laboratorio de referencia regional de salud pública del Cusco de la GERESA, con muestras enviadas por 5 Laboratorios intermedios, Hospitales intermedios, seguro Social (ESSALUD) y Establecimientos penitenciarios (INPE) de la región del Cusco (Figura 12 y 13).

Los laboratorios intermedios comprenden 120 laboratorios locales:

- Red La Convención (32 Laboratorios y Hospital Quillabamba)
- Red Kimbiri (8 Laboratorios)
- Red Canas Canchis Espinar (11 Laboratorios, Hospital Sicuani y Espinar)
- Red Cusco Norte (34 Laboratorios)
- Red Cusco Sur (31 laboratorios y Hospital de Santo Tomas)

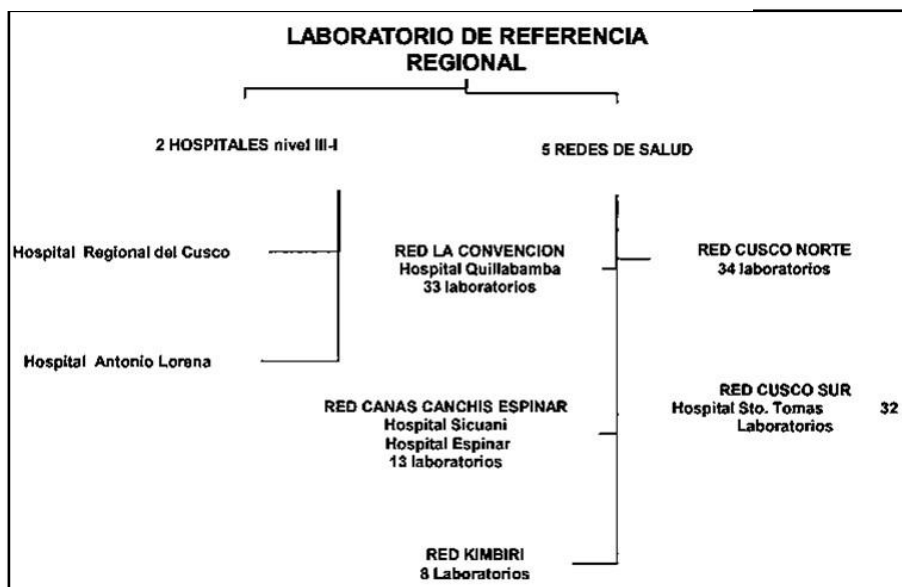
Hospitales Intermedios III-1:

- Hospital regional del Cusco
- Hospital Antonio Lorena

Establecimientos Penitenciarios:

- Establecimiento Penitenciario “Qquencoro” de Cusco
- Establecimiento Penitenciario de Quillabamba
- Establecimiento Penitenciario de Sicuani

Figura 12. Organigrama de la red de Laboratorios del Cusco



Nota: LRRC (2013)

Figura 13. Organización de red de laboratorios en la región del Cusco



Nota: LRRC (2013)

2.2. MATERIALES

2.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO

Se obtuvieron 168 muestras de esputo con baciloscopia positiva, cepas de *Mycobacterium tuberculosis* de 87 cultivos en medio líquido (BACTEC MGIT 960) y cepas de 68 cultivos de medios sólido (Ogawa y Loweinsten Jensen) de 323 pacientes con tuberculosis, durante el Periodo setiembre del 2022 a abril del 2023.

2.2.2. MATERIALES DE LABORATORIO

2.2.2.1. EQUIPOS

- Agitador de tubos-vórtex. (THERMO SCIENNTIFIC)
- Balanza analítica (METTLER TOLEDO)
- Baño María 45°C (MEME Rr)
- Cabina de PCR (LABCONCO)
- Cabina de bioseguridad clase II tipo A(LABCONCO)
- Centrifuga refrigerada con contenedor de aerosoles (THERMO BIO)
- Congeladora -20°C (SIN MARCA)
- Homogenizador (THERMO CIENTIFICA)
- Refrigeradora 4-8°C (MABE)
- Termobloque 95° (LABNET)
- Termociclador (CTQ-CYCLER 96 HAIN LIFESCIENCIE)
- TwinCubator (HAIN LIFESCIENCIE)

2.2.2.2. REACTIVOS

- Citrato trisódico ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- Conjugado concentrado

- Fosfato disódico anhidro HNa_2PO_4
- Fosfato monopotásico KH_2PO_4
- Genolyse vs 1.0.
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- N-acetil L-cisteína
- Solución de aclarado
- Solución de desnaturalización
- Solución de dilución de conjugado
- Solución de dilución de sustrato
- Solución de hibridación
- Solución de lavado astringente
- Sustrato concentrado

2.2.2.3. FUNGIBLES Y CONSUMIBLES:

- Bandeja de hibridación para equipo TwinCubator
- Espátulas de acero inoxidable
- Pipetas de transferencia de 3ml
- Tips de 0.5-10ul con filtro
- Tips de 1000ul con filtro
- Tips de 20ul con filtro
- Tips de 200ul con filtro
- Tubos de centrifuga de 50ml de polipropileno (base cónica)
- Tubos de microcentrifuga de 1.5ml
- Tubos de microcentrifuga tapa rosca de 2ml

- Tubos de polipropileno de 0.2ml para PCR

2.2.2.4. OTROS

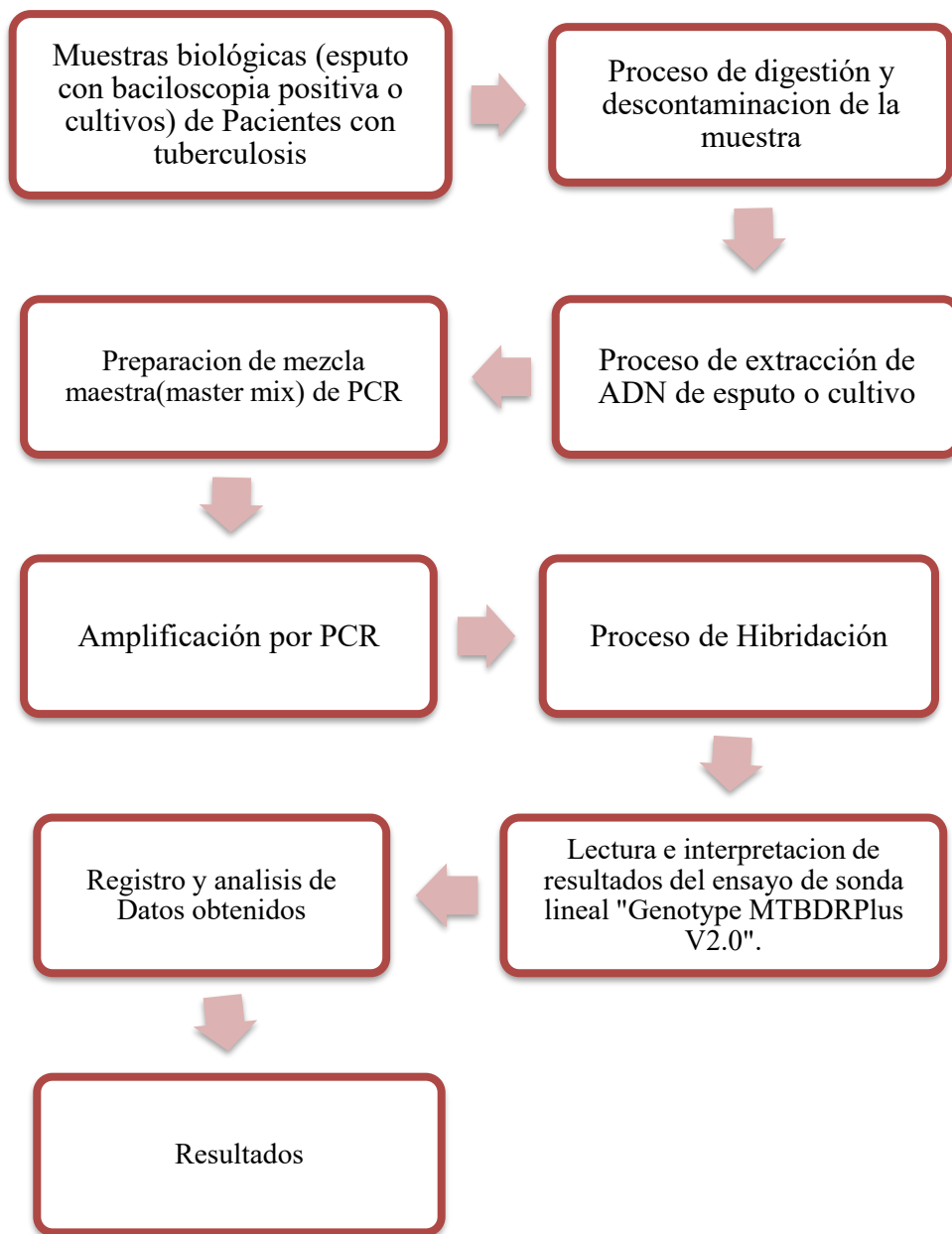
- Cronómetro (SIN MARCA)
- Micropipeta de rango variable 0,5 - 10ul (SANTORIUS)
- Micropipeta de rango variable 10 - 100ul (SANTORIUS)
- Micropipeta de rango variable 100- 1000ul (SANTORIUS)
- Micropipeta de rango variable 20 - 200ul (SANTORIUS)
- Agua de grado molecular
- Alcohol a 70°C
- Gradillas para tubos de 0.2ml
- Gradillas para tubos de 1.5ml
- Lapicero de tinta líquida, libre de ADNAsas.
- Pinzas
- Lejía al 1%
- Equipo de protección personal (EPP)
- Guantes de látex y quirúrgicos
- Gasas estériles
- Paquete estadístico JAMOVI v2.3.
- R studio, versión 2023.03 "Cherry Blossom".

2.3. METODOLOGÍA

2.3.1. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN:

El presente trabajo de investigación es explicativo, con enfoque cuantitativo de diseño no experimental, transversal y observacional.

2.3.2. FLUJOGRAMA DE LA METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN



2.3.3. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras biológicas de pacientes con tuberculosis, que presentan los principales factores de riesgo para tuberculosis resistente según la resolución ministerial N° 752-2018 del MINSA detallados en la tabla 10, fueron transportadas desde los diferentes centros de salud, penitenciarios y hospitales de la región Cusco en contenedores refrigerados (Cooler) con destino al área de tuberculosis del Laboratorio de referencia regional de la GERESA – Cusco (ANEXO 4), se realizó el diagnóstico utilizando el ensayo de sonda en línea “GenoType® MTBDRPlus V2.0”, según el protocolo del Instituto Nacional de Salud (INS, 2019), para determinar si los pacientes presentaban tuberculosis farmacorresistente.

Tabla 10. Principales factores de riesgo para TB resistente.

1.	Fracaso a esquema con medicamentos de primera línea.
2.	Contacto de caso confirmado de TB resistente.
3.	Recaída dentro de los siguientes 6 meses de haber sido dado de alta de un esquema con medicamentos de primera línea.
4.	Recaída luego de haber sido dado de alta con medicamentos de segunda línea.
5.	Personas privadas de su libertad (PPL) y residentes de albergues, comunidades terapéuticas, entre otros.
6.	Antecedente de tratamientos múltiples (más de dos episodios previos de TB).
7.	Antecedente de irregularidad al tratamiento, abandono o terapia no supervisada.
8.	Contacto con persona que falleció por TB.
9.	Comorbilidades o condición previa: VIH, diabetes mellitus, insuficiencia renal crónica, tratamiento inmunosupresor y otros.
10.	Trabajadores y estudiantes de la salud.

Nota: Ministerio de Salud (2019)

Por tanto, en el presente estudio el material biológico utilizado, fue de 168 muestras de esputo con baciloscopia positiva, cepas de *M. tuberculosis* de 87 cultivos en medio líquido (BACTEC MGIT 960) y cepas de 68 cultivos de medios sólido (Ogawa y Loweinsten Jensen) de 323 pacientes con tuberculosis, contando con 171 casos en el año 2022 y 152 casos en el año 2023. Se utilizó el ensayo de sonda en línea “GenoType® MTBDRPlus v2.0”, obteniéndose las extracciones del material genético de *M.*

tuberculosis en una cabina de bioseguridad clase II tipo A en el área de Tuberculosis, utilizando el kit de extracción GenoLyse® y posteriormente, la amplificación en el área de Biología molecular, finalmente la hibridación se realizó según el protocolo brindado por el Instituto Nacional de Salud. (INS, 2019).

2.3.4. DIGESTIÓN Y DESCONTAMINACIÓN DE LA MUESTRA

La digestión y descontaminación de las muestras se realizó por el método N-acetil L-cisteína-hidróxido de Sodio (NALC.NaOH). Siguiendo el Protocolo del Laboratorio de Referencia Nacional de Micobacterias del Instituto Nacional de salud, 2019. Como se detalla a continuación:

- Con una pipeta de transferencia tomar un volumen de 3mL (hasta un máximo de 5mL) de esputo y dispensar en un tubo de centrifuga de 50mL.
- Con una pipeta serológica de 10mL, agregar igual volumen de solución de descontaminación (ANEXO 1), ajustar las tapas y mezclar cada tubo en un vortex por 10 segundos.

Nota: Es necesario asegurarse que la muestra este completamente licuada, si en caso la muestra siga mucoide o viscosa, agregar solución descontaminante 1ml (hasta máximo 2ml) o una pequeña cantidad de NALC en polvo(0.30gr hasta máximo de 0.35gr) directamente al tubo y mezclar por inversión.

- Dejar actuar a la solución descontaminante por 15 minutos a temperatura y/o baño maría (25°) en agitación.
- Transcurrido el tiempo agregar a cada muestra tampón fosfato PH 6,8 (ANEXO 2) hasta completar los 50mL y mezclar por inversión.
- Centrifugar por 15 minutos a 3000g o su equivalente en rpm, y a una temperatura de

10 C°.

- Decantar el sobrenadante y resuspender el sedimento agregando 1.5mL de tampón fosfato y agitar en un vórtex por 5 segundos.
- Realizar la siembra en dos tubos de medio de cultivo Lowenstein-Jensen a razón de 0.2ml por tubo.
- Rotular con la fecha y los datos correspondientes a cada tubo.
- Conservar la muestra a 4-8°C para luego ser utilizado en el proceso de extracción.

2.3.5. EXTRACCIÓN DE ADN

Se realizó siguiendo el manual de uso del Kit de extracción GenoLyse V1.0 (ANEXO 6), a partir de muestras de esputo descontaminadas, cultivos líquidos y sólidos.

- Tomar 500ul de la muestra descontaminada de esputo y transvasar en un tubo de microcentrífuga tapa rosca de 2mL. (en caso de cultivo líquido transvasar 1000uL)
- Concentrar la muestra por centrifugación dentro de una cabina de bioseguridad durante 15 minutos utilizando una microcentrífuga con contenedor de aerosoles a 10 000 g.
- Decantar el sobrenadante y adicionar 100uL de A-LYS, tapar y agitar en un vortex por 5 segundos.

Nota: Tener en cuenta que se debe incluir una muestra de control negativo para la detección de una posible contaminación de extracción de ADN.

Para el control negativo, se procede de la siguiente manera:

- Dispensar 100uL de tampón de lisis (A-LYS) en un tubo de microcentrífuga de 1,5mL con tapa de rosca
- Centrifugar por 5 segundos.
- Inactivar las bacterias en un baño maría o termobloque a 95°C por 5 minutos y

centrifugar por 5 segundos.

- Agregar 100uL de tampón de desnaturalización (A-NB) tapar y agitar en un vortex por 5 segundos.
- Centrifugar durante 5 minutos a 12000g.
- Recuperar el sobrenadante en un tubo de microcentrífuga de 1,5mL.
- Conservar la solución de ADN a -20°C hasta su uso.

Extracción de ADN a partir de cultivo sólido:

El procedimiento se realizó según el Protocolo del Laboratorio de Referencia Nacional de Micobacterias del INS, 2019. Es el siguiente:

- Coger con ayuda de una espátula de siembra una masa bacteriana de colonias y resuspender en 100uL de tampon de lisis(A-LYS)
- Agitar en agitador de tubos tipo vortex y centrifugar por 5 segundos.
- Inactivar las bacterias en baño maría o termobloque a 95°C por 5 min y centrifugar por 5 segundos.
- Agregar 100ul de tampón de neutralización (A-NB), tapar y agitar en un vortex por 5 segundos.
- Centrifugar durante 5 minutos a 14000rpm.
- Recuperar el sobrenadante en un tubo de microcentrífuga de 1.5mL.
- Conservar el ADN a -20°C hasta su uso.

2.3.6. CARGADO DE ADN

El procedimiento se realizó según el Protocolo del Laboratorio de Referencia Nacional de Micobacterias del INS, 2019, en el área limpia y de sembrado de Biología molecular de la GERESA, dentro de una cabina de PCR, completamente estéril (ANEXO 7). En el cual se

añade 5ul de muestras extraídas a los tubos con 45ul de máster mix (ANEXO 3), para obtener un volumen de 50ul. Es importante colocar los controles (positivo y negativo).

- **Tubo control negativo:** Añadir 5uL de agua grado molecular en uno de los tubos que contiene el mix de PCR, en cada ensayo realizado.
- **Tubo control positivo:** Añadir ADN de controles positivos con perfil de resistencia a Isoniacida y Rifampicina, por lote.

2.3.7. AMPLIFICACIÓN

Se llevo a cabo en el área de PCR de Biología molecular (ANEXO 7), donde se colocaron los tubos de PCR cargados con ADN en el termociclador, siguiendo el protocolo de amplificación, brindado por el Laboratorio de Referencia Nacional de Micobacterias del INS, 2019.

Tabla 11. *Protocolo de amplificación*

Etapas	Temperatura/tiempo	Muestras de esputo	Muestras de cultivo
Desnaturalización	95°C/15 min	1 ciclo	1 ciclo
Ciclos de amplificación (1)	95°C/30seg 65°C/2min	20 ciclos	10 ciclos
Ciclos de amplificación (2)	95°C/25seg 50°C/40seg 70°C/40seg		
Extensión final	70°C/8min	1 ciclo	1 ciclo

Nota: INS (2019)

Los productos de amplificación pueden almacenarse a 4 °C (si se utiliza dentro de las 24 horas) y -20°C (si se usa después de las 24 horas)

2.3.8. HIBRIDACIÓN

Se realizó en el laboratorio de micobacterias de nivel 2, siguiendo el protocolo brindado por el Instituto Nacional de Salud. (ANEXO 8).

Previo al procedimiento se incubo la solución HYB (Hibridador) y STR (Astringente) para su uso.

- Usando una pinza se retiraron las tiras de nitrocelulosa las cuales están contenidas dentro de tubos y se rotularon.
- Se dispense 20 ul de la solución de desnaturalización (DEN) en la esquina inferior de cada uno de los pocillos de la bandeja de hibridación.
- A la solución DEN se añadió 20ul de muestra amplificada (amplicones), se pipetea de arriba a abajo y luego se incubo a temperatura ambiente durante 5 min
- En la esquina superior de cada pocillo se añadió 1ml de tampón de hibridación precalentado (HYB, verde), se agito suavemente la bandeja hasta que la solución obtuvo un color homogéneo.
- Con una pinza se colocó una tira en cada pocillo, es necesario que las tiras queden completamente cubiertas por la solución de hibridación y el lado con las sondas hacia arriba.
- Se coloco la bandeja de hibridación sobre la plataforma de agitación del equipo de hibridación durante 30 minutos a 45°C.
- Posteriormente, se aspira el tampón de hibridación completamente con una punta de micropipeta.
- Se añadió 1ml de solución de lavado astringente (STR, roja) a cada tira y luego se incubo durante 15 min a 45°C.

- Se procedió a aspirar también en su totalidad la solución STR.
- Se hizo el lavado una vez cada tira con 1ml de solución de aclarado (RIN) sobre la plataforma de agitación de Twincubator durante 1 minuto, luego de la incubación el lavado se eliminó.
- Se añadió 1ml de conjugado diluido a cada tira y se incubó durante 30 minutos sobre la plataforma de agitación del equipo.
- Se eliminó la solución y luego se realizaron dos lavados con 1ml de solución de aclarado RIN durante 1 minuto cada lavado sobre la plataforma de agitación del equipo y se desechó la solución por cada lavado
- Luego se realizó un lavado a cada tira con 1ml de agua destilada sobre la plataforma de agitación del equipo y nuevamente se desechó la solución por cada lavado
- Se añadió 1ml de sustrato diluido a cada tira y se incubará en Twincubator por 5 a 10 minutos, sin agitación y protegiéndolo de la luz hasta que las bandas se observaran claramente visibles.
- Se lavaron las tiras dos veces con 1ml de agua destilada y se desechó totalmente el líquido.
- Posteriormente se retiraron las tiras usando pinzas y se colocaron en papel toalla para su secado respectivo.
- Finalmente se pegaron las tiras en la ficha de registro de tiras reveladas y se realizó la lectura.

2.4. ANÁLISIS DE DATOS

2.4.1. REGISTRO DE DATOS OBTENIDOS

Al determinar el estado de resistencia se anotaron los datos obtenidos en una hoja de registro de Microsoft Excel 2016.

2.4.2. REPORTE E INTERPRETACIÓN DE DATOS OBTENIDOS

Los datos obtenidos fueron registrados en el programa Microsoft Excel 2016, y posteriormente fueron analizados estadísticamente mediante el programa JAMОВI v2.3 (Jamovi, 2023) y R Studio, versión 2023.03 "Cherry Blossom", para la limpieza de datos (R Core Team, 2023). Ambos programas cuentan con paquetes y librerías especializadas para el manejo de datos a nivel profesional y académico.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. DETECCIÓN DE MUTACIONES GENÉTICAS DE *Mycobacterium tuberculosis* RESISTENTES A ISONIACIDA Y RIFAMPICINA.

Los resultados se presentan en el ANEXO 10 (la **tabla 33** con un total de 171 casos en el año 2022 y en la **tabla 34**; con 152 casos en el año 2023), evaluándose un total de 323 pacientes con tuberculosis.

Asimismo; En la **Figura 14** se muestra una ficha representativa de registro de tiras reveladas correspondiente a 17 pacientes, para su análisis respectivo; donde: los pacientes N° 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 y 17 no presentan ninguna mutación detectada. Por el contrario, al examinar la muestra de esputo del paciente N° 09, se identificó la ausencia de la sonda wildtype en el gen KatG y la presencia de la mutación KatG MUT1 (Mutación 1 para el gen KatG, específicamente la mutación Ser315Thr). Este hallazgo indica una resistencia a Isoniacida por parte de este paciente.

Según Vigo *et al.* (2020), en el artículo de revisión denominado "Mutaciones que confieren resistencia a fármacos antituberculosos de primera línea en Perú: una revisión sistemática de la literatura", mencionó que gran parte de los estudios realizados en el país para observar la resistencia a Isoniacida y Rifampicina en cepas de *M. tuberculosis*, se realizaron utilizando la prueba molecular "Genotype MTBDRplus V2.0". Esta técnica, permite detectar de manera precisa y rápida la presencia de mutaciones en genes de resistencia a medicamentos de primera línea de *M. Tuberculosis* (Alcaide *et al.* 2017).

Donde:

CC: Control de conjugado

AC: Control de amplificación

TUB: Complejo *Mycobacterium tuberculosis*

RpoB: Gen RpoB

KatG: Gen KatG

InhA: Gen InhA.

RpoB WT1: Sonda tipo wildtype 1, analiza codón 505-509

RpoB WT2: Sonda tipo wildtype 2, analiza codon 510- 513

RpoB WT2/ WT3: Sonda tipo wildtype 2 y 3, analiza codón 510-517

RpoB WT3/ WT4: Sonda tipo wildtype 3 y 4, analiza codon 513-519

RpoB WT4/ WT5: Sonda tipo wildtype 4 y 5, analiza codon 516– 522

RpoB WT5/ WT6: Sonda tipo wildtype 5 y 6, analiza codon 518 -525

RpoB WT7: Sonda tipo wildtype 7, analiza codon 526- 529

RpoB WT8: Sonda tipo wildtype 8, analiza codon 530- 533

RpoBMUT1: Presencia de mutación Asp516Val

RpoBMUT2A: Presencia de mutación His526Tyr

RpoBMUT2B: Presencia de mutación His526Asp

RpoBMUT3: Presencia de mutación Ser531Leu

KatGWT: Sonda tipo wildtype para el gen KatG, analiza el codon 315

KatGMUT1: Presencia de mutación Ser315Thr1

KatGMUT2: Presencia de mutación Ser315Thr2

InhAWT1: Sonda tipo wildtype para el gen InhA, analiza el codon 15 y 16

InhAWT2: Sonda tipo wildtype para el gen InhA, analiza el codon 8

InhAMUT1: Presencia de mutación Cys15Thr

InhAMUT2: Presencia de mutación Ala16Gly

InhAMUT3A: Presencia de mutación Thr8Gly

InhAMUT3B: Presencia de mutación Thr8Ala

3.2 IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES GENÉTICAS EN *Mycobacterium tuberculosis* RESISTENTES A ISONIACIDA Y RIFAMPICINA

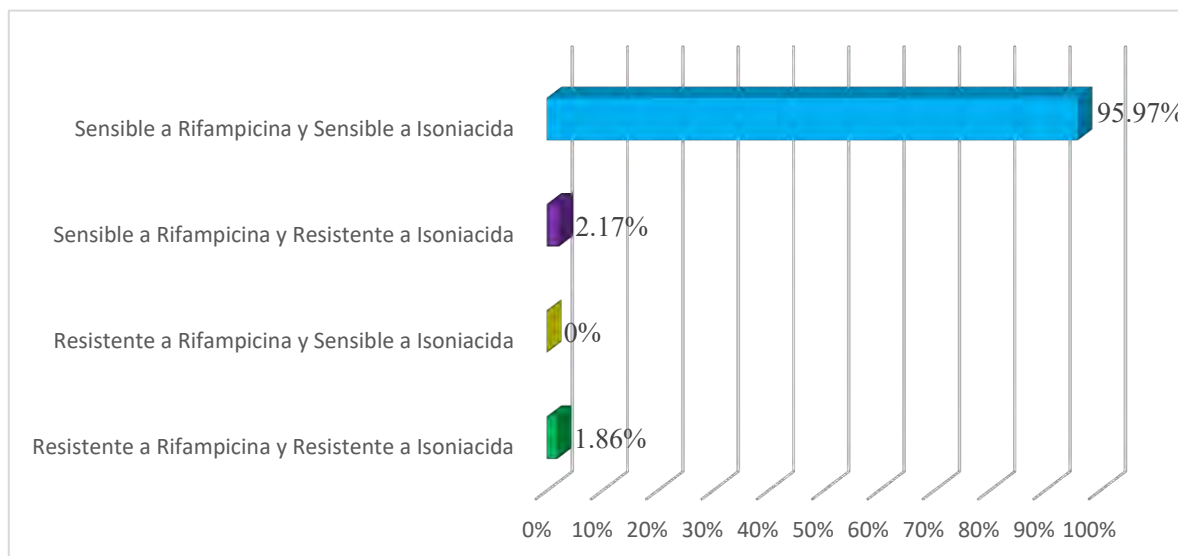
En la **Tabla 12** y **Figura 15** se describen los principales perfiles obtenidos para resistencia de Rifampicina y Isoniacida, se ha podido determinar que en efecto se cuenta con 7 casos (2.17%) resistentes solamente a Isoniacida, mientras que ninguno son resistentes solamente a Rifampicina, además que 6 (1.86%) presentan TB-MDR, es decir son resistentes tanto a Rifampicina como a Isoniacida. Finalmente, se ha determinado que 310 (95.97%) son sensibles tanto a Rifampicina como Isoniacida.

Tabla 12. *Perfiles de resistencia obtenidos con la prueba “GenoType® MRBDRplus V2.0”*

Perfiles de resistencia	N	%
Resistente a Rifampicina y Resistente a Isoniacida	6	1.86
Resistente a Rifampicina y Sensible a Isoniacida	0	0.00
Sensible a Rifampicina y Resistente a Isoniacida	7	2.17
Sensible a Rifampicina y Sensible a Isoniacida	310	95.97
Total de pruebas	323	100%

Donde: N: Número de pacientes con TB; %: Porcentaje de pacientes con TB

Figura 15. *Gráfica de Perfiles de resistencia obtenidos con la prueba “GenoType® MRBDRplus V2.0”*



Nota: Elaboración propia, 2023

3.2.1. MUTACIONES DETECTADAS EN LOS CASOS RESISTENTES A ISONIACIDA

De acuerdo a la **Tabla 13** y **Figura 16** se encontraron 13 casos de resistencia a Isoniacida en total, con 4 (30.8%) que corresponden al 2022 y 9 (69.2%) que corresponden al 2023. En cuanto a las mutaciones se pudo determinar que el 61.54% de las mutaciones ocurrió en el gen inhA, donde el único patrón discernible es la ausencia de WT1 y la presencia de MUT1, que corresponde a la mutación C-15T.

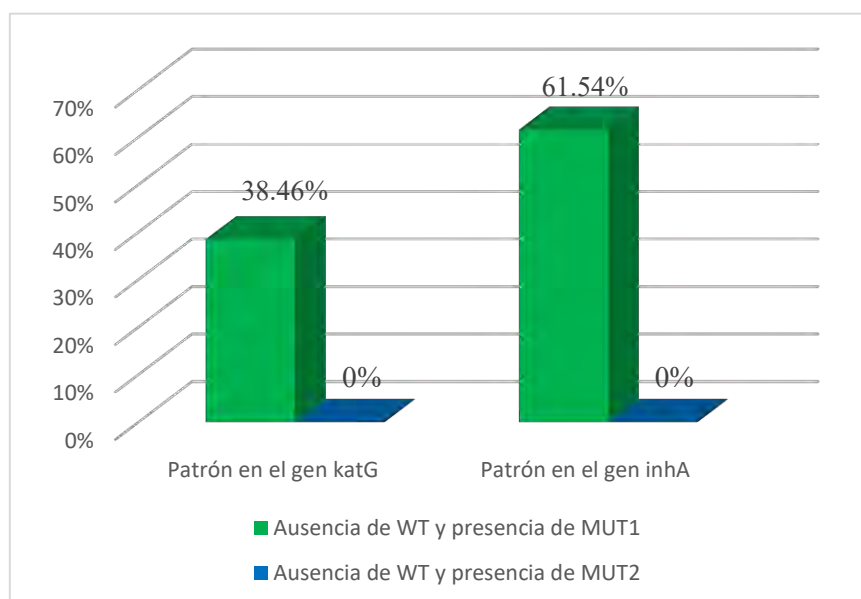
Tabla 13. Patrones de bandas de resistencia a Isoniacida

	n	%	Mutación
Patrón en el gen katG			
Ausencia de WT y presencia de MUT1	5	38.46	Ser315Thr1
Ausencia de WT y presencia de MUT2	0	0	Ser315Thr2
Ausencia total de katG	0	0	Desconocida
Patrón en el gen InhA			
Ausencia de WT1 y presencia de MUT1	8	61.54	C15T
Total	13	100	

Donde: n: número de pacientes con TB-FR; %: Porcentaje de pacientes con TB-FR.

Nota: Elaboración propia, 2023

Figura 16. Gráfica de patrones de bandas de resistencia a Isoniacida



Nota: Elaboración propia, 2023

Los resultados en el presente estudio demuestran que la mutación C15T en el gen *InhA*, asociada con la resistencia a la Isoniacida, fue identificada como la más prevalente en la región del Cusco. Este hallazgo difiere con los resultados de otros estudios, como los realizados por Llerena *et al.* (2017), quienes en su trabajo de investigación titulado “Descripción de las mutaciones de *Mycobacterium tuberculosis* que confieren resistencia a Rifampicina e Isoniacida detectadas mediante “GenoType® MTBDRplus V.2” en Colombia” Obtuvieron 689 resultados de pruebas siendo: 581(84,3%) sensibles, 58 (8,4 %) resistentes y 50 (7,2 %) multirresistentes, reportando que la mutación Ser315Thr1 (91,9 %) en el gen *KatG* de resistencia a Isoniacida fue la más frecuente y en el gen *rpoB* de resistencia a Rifampicina, la más frecuente fue la mutación Ser531Leu (36,6 %), seguida por la Asp516Val (21,6 %). También, Franco *et al.* (2017) en: “Detección de genes asociados a resistencia para Isoniacida y Rifampicina en cepas de *Mycobacterium tuberculosis* en Ecuador”, reportaron mutaciones encontradas en los genes *rpoB* (91,6 %) de resistencia Rifampicina y *KatG* (90,3 %) de resistencia a Isoniacida, concluyendo además que en Ecuador las mutaciones asociadas a la drogorresistencia son similares a las reportadas en otros países.

En el Perú; Tanta (2019) realizó un estudio de la prevalencia de mutación genética en pacientes con TB resistente a Isoniacida en Lima Norte durante el 2016-2018, siendo el total de pacientes 324, solo 148 presentaron resistencia a Isoniacida (46%), presentando la mayoría de pacientes MDR en un 74.3% y de resistencia solo a Isoniacida 25,7%. De los cuales la mutación más frecuente hallada fue en el gen *KatG* (61.5%).

Asi también, Pecho *et al.* (2020), realizaron la revisión de los resultados de las pruebas de sensibilidad (MODS, “Genotype MTBDRplus” y pruebas convencionales) de pacientes con tuberculosis del hospital Nacional Rebagliati, Donde identificaron 226 pruebas “Genotype MTBDR plus” que expresaron TBMDR, y se reportó que 180 eran resistentes a Isoniacida, además

de este grupo el 64,4% era por mutación en el gen KatG, seguido en un 34.4% en el gen InhA y solo el 1,1% en ambos genes simultáneamente. Así mismo, Vargas *et al.* (2021) usó la prueba “GenoType MTBDRplus” y la prueba de sensibilidad convencional por el método de agar en placa, encontrándose que el 54% de las mutaciones más frecuentes fueron del gen KatG y el 46% del gen InhA. Y Santos *et al.* (2022), cuyo objetivo fue determinar la estructura genética de las cepas drogorresistentes de *Mycobacterium tuberculosis* que circularon en todo el Perú durante los años 2011-2015 a través de haplotipos obtenidos de un ensayo con sondas en línea, reportaron que para la resistencia a Isoniacida, la frecuencia de mutaciones se distribuye de la siguiente manera, KatG S315T (59,5%) e InhA C-15T (25,7%).

Se sugiere que esta discrepancia puede deberse a diferencias geográficas, ya que el presente estudio se centra en una región específica en lugar de abarcar todo el país.

3.2.2. MUTACIONES DETECTADAS EN LOS CASOS RESISTENTES A RIFAMPICINA

Se han encontrado 6 casos de resistencia a Rifampicina en total, donde 1 (16.67%) corresponde al 2022 y 5 (83.33%) corresponden al 2023. En lo que respecta a la mutación se pudo determinar que el 66.66% (4) de las mutaciones corresponden la Ausencia de WT8 y presencia de MUT3 (mutación Ser531Leu), siendo esta la principal. De manera secundaria, se tiene 01 caso (16.67%) de mutación Ausencia de WT3 y WT4 y presencia de MUT1 (mutación Asp516Val) y finalmente se tiene 01 caso(16.67%) de mutación desconocida.

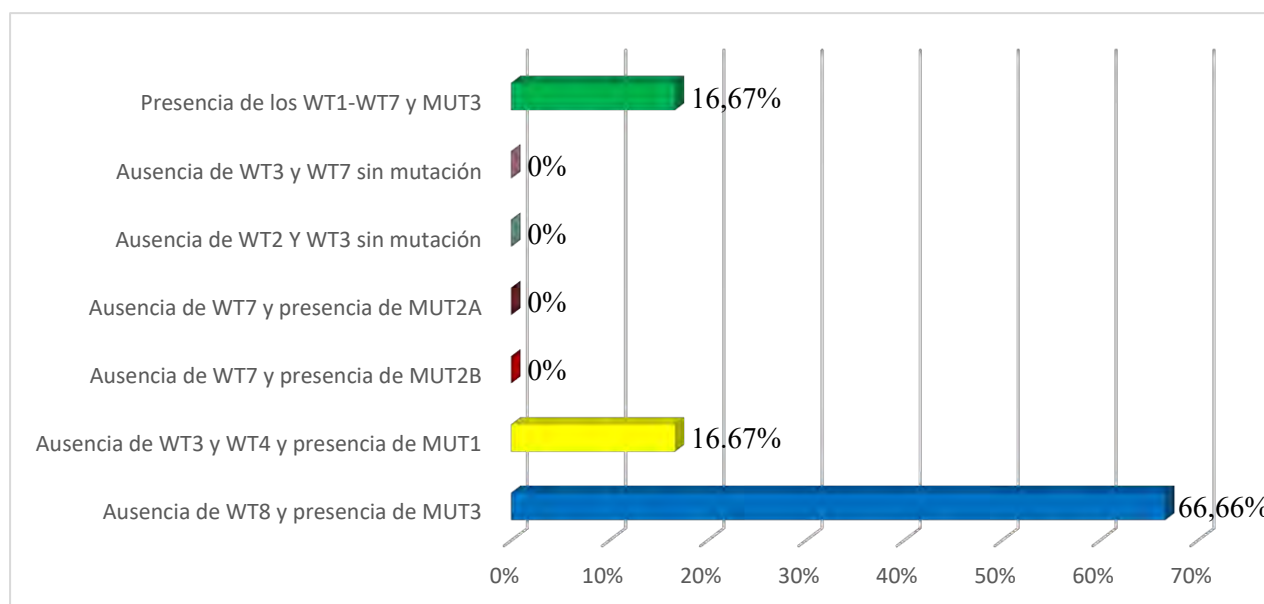
Como se observa en la **Tabla 14** y **Figura 17**.

Tabla 14. *Patrones de bandas de resistencias a Rifampicina*

Patrón	n	%	Mutación
Ausencia de WT8 y presencia de MUT3	4	66.66	Ser531Leu
Ausencia de WT3 y WT4 y presencia de MUT1	1	16.67	Asp516Val
Ausencia de WT7 y presencia de MUT2B	0	0.00	His525Tyr
Ausencia de WT7 y presencia de MUT2A	0	0.00	His526Asp
Ausencia de WT2 Y WT3 sin mutación	0	0.00	Desconocida
Ausencia de WT3 y WT7 sin mutación	0	0.00	Desconocida
Presencia de los WT1-WT7 y MUT3	1	16.67	Desconocida
Total	6	100	

Donde: n: número de pacientes con TB-FR; %: Porcentaje de pacientes con TB-FR.

Nota: Elaboración propia, 2023

Figura 17. *Gráfico de patrones de bandas de resistencias a Rifampicina*

Nota: Elaboración propia, 2023

Los resultados obtenidos en el estudio realizado muestran que, en la región del Cusco, la mutación Ser531Leu en el gen RpoB, asociada con la resistencia a la Rifampicina, fue identificada como la más frecuente. Este resultado concuerda con hallazgos similares reportados en otros estudios de investigación citados en los antecedentes de este trabajo, como los reportados por Llerena *et al.*

(2017) donde informaron que en el gen RpoB, la mutación Ser531Leu (36,6 %), seguida por la Asp516Val (21,6 %) fueron las más frecuentes. Y Santos *et al.* (2022) en: “Estructura genética de cepas drogorresistentes de *Mycobacterium tuberculosis* en Perú basada en haplotipos obtenidos de un ensayo con sondas en línea” reportaron que las mutaciones de mayores frecuencias fueron: RpoB S531L (55,4%) y RpoB D516V (18,5%) para la resistencia a Rifampicina.

3.3. RELACIÓN ENTRE EL GEN MUTADO RESISTENTE A ISONIACIDA Y LOS ANTECEDENTES DE TRATAMIENTO EN PACIENTES CON TB DE LA REGIÓN DEL CUSCO.

La relación entre los antecedentes de tratamiento de los 13 pacientes con mutación en InhA C-15T de resistencia a Isoniacida. De acuerdo a la tabla cruzada se ha podido determinar que entre los pacientes que no contaban historial previo de tratamiento, 04 (30.8% del total) no presentaban la mutación C15-T, mientras que el 6 (46.1%) presentaban la mutación. Entre los pacientes que tuvieron un historial de tratamiento, se ha determinado que 1 (7.7%) no presentaron la mutación C15-T, mientras que 2 (15.4%) presentaron la mutación. Como se muestra en la **Tabla 15** y **Figura 18**.

El Odds Ratio para la presencia de la mutación, de acuerdo a los antecedentes de tratamiento del paciente. Se ha obtenido un valor de OR =1.33 que indica que una asociación positiva entre el tratamiento y la presencia de mutación, de tal forma que el historial de tratamiento indica 1.33 veces probabilidad de presentar la mutación, no obstante, de acuerdo con los intervalos de confianza, existe una gran variabilidad para el OR, de esta forma estos resultados no son conclusivos. Como se observa en la **Tabla 16**.

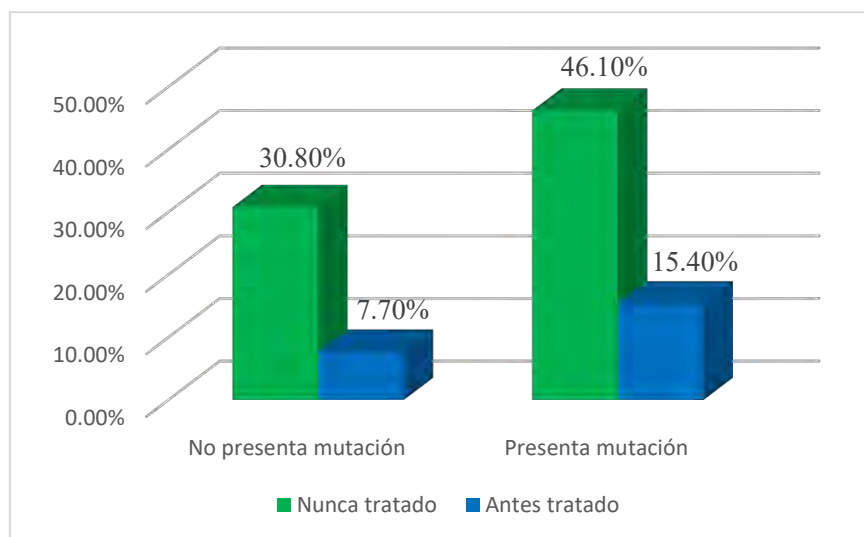
Tabla 15. Relación estadística entre el gen mutado resistente a Isoniacida y los antecedentes del paciente

Antecedente	InhA MUT1 C-15T					
	Presenta mutación		No presenta mutación		Total	
	n	P	n	P	n	P
Antes tratado	2	15.4%	1	7.7%	3	23.1 %
Nunca tratado	6	46.1%	4	30.8%	10	76.9 %
Total	8	61.5%	5	38.5%	13	100%

Donde: n: número de pacientes con TB-FR; P: Porcentaje de pacientes con TB-FR

Nota: Elaboración propia, 2023

Figura 18. Gráfico de la relación estadística entre el gen mutado resistente a Isoniacida y los antecedentes del paciente



Nota: Elaboración propia, 2023

Tabla 16. Cálculo de los Odds Ratio de acuerdo a la presencia de genes a Isoniacida y los antecedentes del paciente

	Intervalo de confianza al 95%		
	Valor	Inferior	Superior
Odds ratio	1.33	0.0884	20.1

Donde: gl: grados de libertad; N: Número total de pacientes con TB-FR y χ^2 : estadístico de Chi cuadrado

Nota: Elaboración propia, 2023

Los resultados indican que existe una asociación positiva entre el antecedente de tratamiento y la presencia de mutación, esta afirmación coincide con los reportados por Araya (2014), que en su trabajo de investigación titulado “Descripción de la tuberculosis multidrogorresistente en Chile, período 2008-2011”, destaca que el abandono del tratamiento contribuye a la farmacorresistencia en pacientes previamente tratados. Así también; en Colombia, Leyes *et al.* (2020) estudiaron variables sociodemográficas, clínicas y de vigilancia en salud pública, el estado de la susceptibilidad de los aislamientos de *M. tuberculosis* a los fármacos antituberculosos para lo cual evaluaron 2 701 pacientes con tuberculosis en el Departamento del Atlántico, durante los años 2011 a 2016, tanto por el método de proporciones de Canetti, Rist y Grosset, como por metodología “Genotype MTBDR plus v2.0”. Reportando que, en los casos nuevos, la resistencia se encontró en un 7,30%, con un 5,25% mostrando resistencia a Isoniacida y un 0,68% a Rifampicina. En los casos previamente tratados, la resistencia alcanzó el 18,27%, con un 10,81% de resistencia a Isoniacida y un 1,77% a Rifampicina. La prevalencia de tuberculosis multidrogorresistente (MDR) fue del 1,1% en casos nuevos y del 5,7% en casos previamente tratados. Concluyendo que los principales factores de riesgo asociados a la resistencia incluyen tratamiento previo, fracaso al tratamiento, contacto con pacientes con TB resistente y comorbilidad con VIH.

En la región del Cusco, Castañeda (2021) concluyo que los factores de riesgo asociados a la tuberculosis drogorresistente y que tienen una relación estadísticamente significativa, son el Abandono del tratamiento, la irregularidad del tratamiento, la falta de seguimiento, el diagnóstico tardío, alcoholismo y desnutrición, siendo los factores de riesgo de mayor relevancia el diagnóstico tardío y la irregularidad en el tratamiento.

3.4. MUTACIONES MÁS FRECUENTES DE RESISTENCIA, SEGÚN FACTORES

DEMOGRÁFICOS

3.4.1. PARA LAS MUTACIONES RESISTENTES A ISONIACIDA

A. Por edad

Se presenta una tabla que muestra la relación entre la edad del paciente y la presencia o ausencia del gen C-15T. En el grupo de menores de edad, solo 1 paciente (7.7%) presenta la mutación. En los adultos, la prevalencia es más alta, con 6 casos (46.1%) que tienen la mutación. En los adultos mayores, 3 pacientes (23.1%) no tienen la mutación, mientras que 2 (15.4%) sí la presentan. Así, los adultos son el grupo etario con la mayor prevalencia de la mutación. **Tabla 17** y **Figura 19**.

La prueba de Chi Cuadrado realizada entre el grupo etario de los pacientes y la presencia de la mutación *InhA* MUT1 C-15T mostró un p-valor de 0.116, que es mayor que el valor de significancia de 0.05. Esto indica que no hay una relación estadísticamente significativa entre la edad y la presencia de la mutación. Sin embargo, la medida de asociación V de Cramér fue de 0.576, lo que sugiere una relación fuerte entre ambos factores, aunque esta conclusión es válida solo para la muestra estudiada. Como se muestra en la **Tabla 18**.

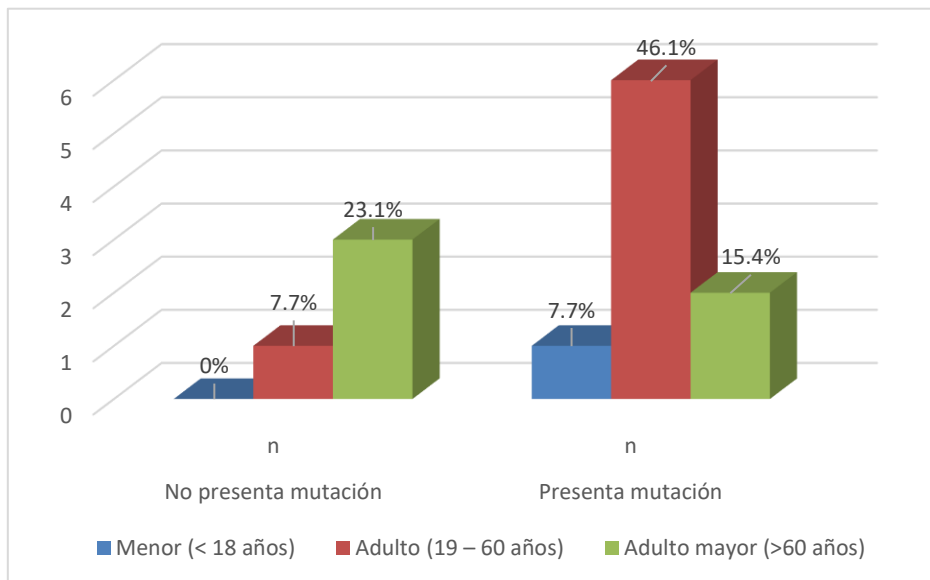
Tabla 17. *Relación entre la edad del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida*

Grupo etario	InhA MUT1 C-15T					
	No presenta mutación		Presenta mutación		Total	
	n	P	n	p	n	p
Menor (< 18 años)	0	0.0%	1	7.7%	1	7.7%
Adulto (19 – 60 años)	1	7.7%	6	46.1%	7	53.8%
Adulto mayor (>60 años)	3	23.1%	2	15.4%	5	38.5%
Total	4	30.8%	9	69.2%	13	100%

Donde: n: número de pacientes con TB-FR; p: Porcentaje de pacientes con TB-FR.

Nota: Elaboración propia, 2023

Figura 19. Gráfico de la relación entre la edad del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida



Nota: Elaboración propia, 2023

Tabla 18. Prueba de Chi cuadrado entre la edad del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida

	Valor	gl	p-valor
χ^2	4.31	2	0.116
V de Crammer	0.576		
N	13		

Donde: gl: grados de libertad; N: Número total de pacientes con TB-FR y χ^2 : estadístico de Chi cuadrado

Nota: Elaboración propia, 2023

B. Por Sexo

La relación entre el sexo del paciente y el gen mutado C-15T. De entre los pacientes de sexo femenino se puede determinar que 3 (23.1% del total) no presentan mutación mientras que 5 (38.4%) presenta mutación. Para los pacientes masculinos se puede determinar que 2 (15.4%) no presentan mutación en dicho gen, mientras que 3 (23.1%) presentan la

mutación. **Tabla 19 y Figura 20.**

La prueba de Chi Cuadrado realizada para evaluar la relación entre el sexo del paciente y la presencia de la mutación C-15T no mostró una asociación estadísticamente significativa, ya que el valor de significancia fue mayor que 0.05. Además, el valor de V de Cramér fue de 0.0250, lo que indica que no hay una relación entre el sexo y la presencia de la mutación.

Tabla 20.

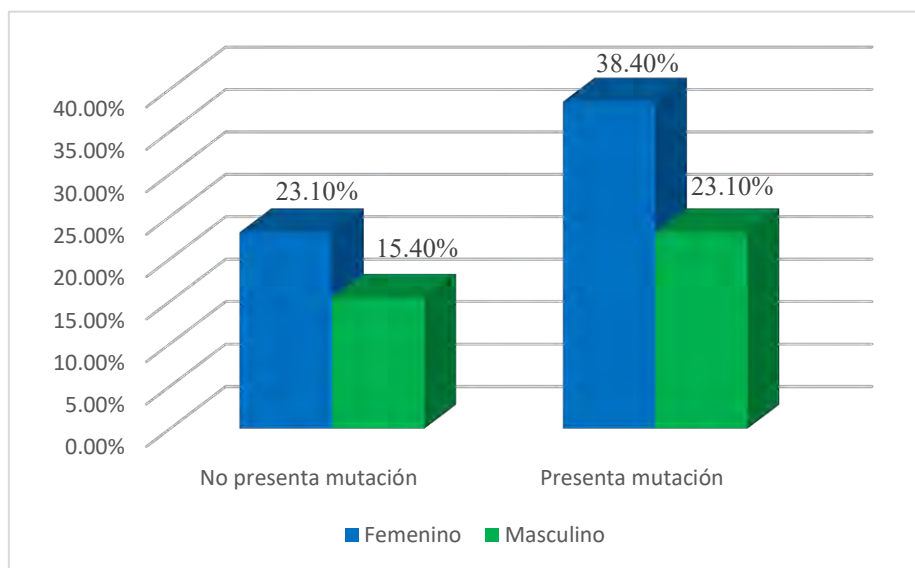
Tabla 19. *Relación entre el sexo del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida*

Sexo	InhA MUT1 C-15T					
	No presenta mutación		Presenta mutación		Total	
	n	P	n	p	n	p
Femenino	3	23.1%	5	38.4%	8	61.5%
Masculino	2	15.4%	3	23.1%	5	38.5%
Total	5	38.5%	8	61.5%	13	100%

Donde: n: número de pacientes con TB-FR; p: Porcentaje de pacientes con TB-FR

Nota: Elaboración propia, 2023

Figura 20. *Gráfico entre el sexo del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida*



Nota: Elaboración propia, 2023

Tabla 20. Prueba de Chi Cuadrado entre el sexo del paciente y el gen mutado resistente a Isoniacida

	Valor	Gl	p-valor
χ^2	0	1	1
V de Crammer	0.0250		
N	13		

Donde: gl (grados de libertad), N (número total de pacientes con TB-FR), y χ^2 (estadístico de Chi cuadrado).

Nota: Elaboración propia, 2023

C. Por ocupación

La relación entre la ocupación del paciente y la presencia de la mutación C-15T, presentada en la **Tabla 21** y **Figura 21**, revela que los pacientes desempleados tienen la mayor incidencia de mutaciones, con 3 casos que representan el 23.0% del total. Los grupos de estudiantes y personal de salud muestran cada uno 2 casos de mutación, lo que equivale al 15.4% del total. Por lo tanto, se concluye que los pacientes desempleados son los más expuestos a esta mutación.

La **Tabla 22** presenta los resultados de la prueba de Chi cuadrado, que evaluó la relación entre la ocupación del paciente y el gen mutado. Con un valor de significancia de 0.05, se encontró que el p-valor de 0.0381 es mayor a 0.05, lo que indica que no hay una relación estadísticamente significativa entre la ocupación y la presencia de la mutación. Sin embargo, el valor de V de Crammer calculado en 0.420 sugiere una asociación fuerte entre estas variables en la muestra analizada.

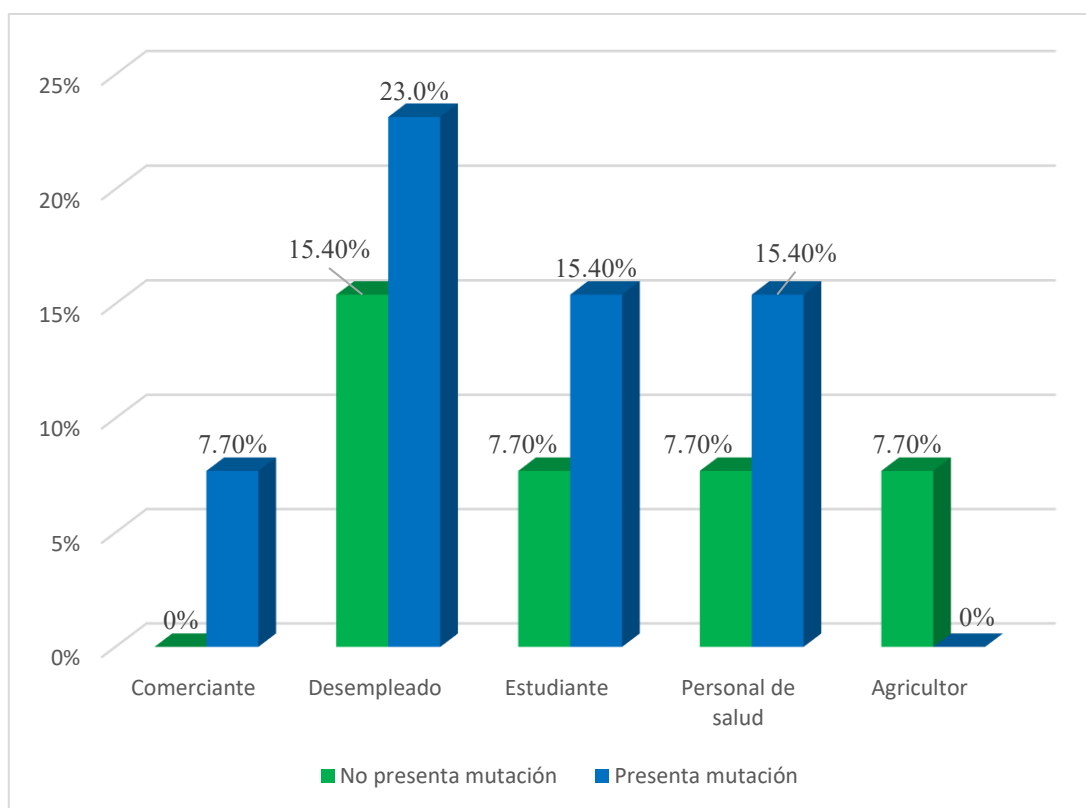
Tabla 21. Relación entre la ocupación del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida

Ocupación	InhA MUT1 C-15T					
	No presenta mutación		Presenta mutación		Total	
	n	P	n	p	n	p
Comerciante	0	0.0%	1	7.7%	1	7.7%
Desempleado	2	15.4%	3	23.0%	5	38.4%
Estudiante	1	7.7%	2	15.4%	3	23.1%
Personal de salud	1	7.7%	2	15.4%	3	23.1%
Agricultor	1	7.7%	0	0.0%	1	7.7%
Total	5	38.5%	8	61.5%	13	100%

Donde: n: número de pacientes con TB-FR; P: Porcentaje de pacientes con TB-FR

Nota: Elaboración propia, 2023

Figura 21. Gráfico de la relación entre la ocupación del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida



Nota: Elaboración propia, 2023

Tabla 22. Prueba de Chi Cuadrado entre la ocupación del paciente y el gen mutado resistente a Isoniacida

	Valor	Gl	p-valor
χ^2	2.30	4	0.681
V de Crammer	0.420		
N	13		

Donde: gl: grados de libertad; N: Número total de pacientes con TB-FR y χ^2 : estadístico de Chi cuadrado

Nota: Elaboración propia, 2023

3.4.2. PARA LAS MUTACIONES RESISTENTES A RIFAMPICINA

A. Por Edad

La **Tabla 23** y **Figura 22** muestra una tabla cruzada de acuerdo a la edad del paciente (grupo etario) y la presencia o ausencia del gen MUT3 (Ser531Leu). Se ha observado que, esta mutación no se da en ningún menor de edad. Para los adultos, 03 (49.9%) presenta la mutación, siendo esta la prevalencia más alta dentro de todos los grupos etarios. Para los adultos mayores, se ha encontrado 01 caso (16.7%) que cuenta con dicha mutación. Por lo tanto, se puede determinar que los adultos son el grupo etario con mayor prevalencia de este gen, seguido en menor parte por los adultos mayores.

La **Tabla 24** muestra la correspondiente prueba de Chi Cuadrado para determinar el grado de asociación entre la pertenencia a un grupo etario y la presencia o no, de la mutación Ser531Leu. De acuerdo al p-valor de 0.494, no se puede afirmar que la edad incida en la presencia de la mutación, dado que dicho valor es mayor que 0.05, o sea del nivel de significancia. Además, se ha obtenido un valor V de Cramer, de 0.250 que es indicativo de una relación débil o ausente entre los intervalos etarios y la presencia de la mutación. Por lo tanto, se puede concluir que la edad no es un factor de riesgo para la mutación Ser531Leu.

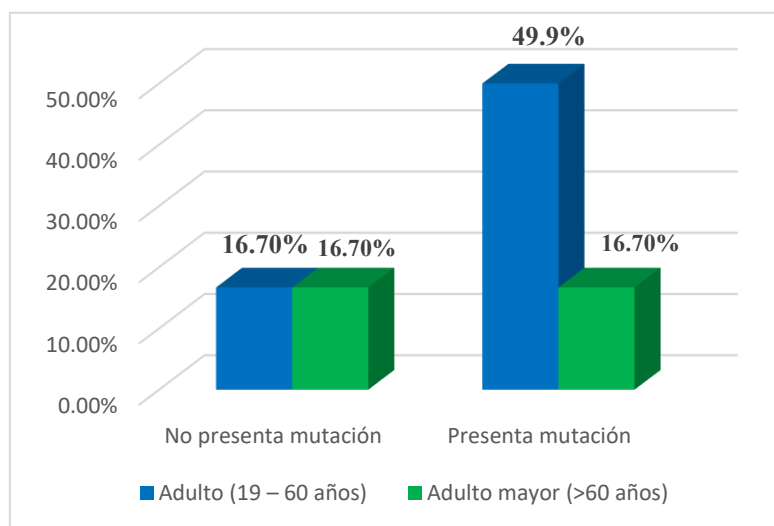
Tabla 23. Relación entre la edad del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina

Grupo etario	RpoB MUT3 (Ser531Leu)				Total	
	No presenta mutación		Presenta mutación		n	p
	n	P	n	p		
Adulto (19 – 60 años)	1	16.7%	3	49.9%	4	66.6%
Adulto mayor (>60 años)	1	16.7%	1	16.7%	2	33.4%
Total	2	33.4%	4	66.6%	6	100%

Donde: n: número de pacientes con TB-FR; p: Porcentaje de pacientes con TB-FR.

Nota: Elaboración propia, 2023

Figura 22. Gráfico de relación entre la edad del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina



Nota: Elaboración propia, 2023

Tabla 24. Prueba de Chi Cuadrado entre la edad del paciente y el gen mutado resistente a Rifampicina

	Valor	gl	p-valor
χ^2	0.375	1	0.540
V de Cramer	0.250		
n	6		

Donde: gl: grados de libertad; N: Número total de pacientes con TB-FR y χ^2 : estadístico de Chi cuadrado

Nota: Elaboración propia, 2023

B. Por Sexo

Se muestra una tabla cruzada de acuerdo al sexo del paciente y la presencia o ausencia del gen MUT3 (Ser531Leu). Se ha observado que, esta mutación se da tanto en varones como en mujeres, en particular 02 (33.33%) mujeres presenta la mutación, así como 02 (33.33%) varones. No obstante, se observa que para los pacientes que no presentan la mutación, son dos (33.33%) mujeres quienes no presentan dicha mutación, como se observa en la **Tabla 25** y **Figura 23**.

La correspondiente prueba de Chi Cuadrado para determinar el grado de asociación entre el sexo del paciente y la presencia de la mutación Ser531Leu. De acuerdo al p-valor de 0.221, no se puede afirmar que el sexo del paciente determine la presencia de la mutación, dado que dicho valor es mayor que 0.05, o sea mayor que el nivel de significancia. Además, se ha obtenido un valor V de Cramer, de 0.5 que es indicativo de una relación débil entre el sexo y la mutación. Por lo tanto, se puede concluir que el sexo del paciente no tiene relación con la presencia (o ausencia) de la mutación en la población. **Tabla 26**.

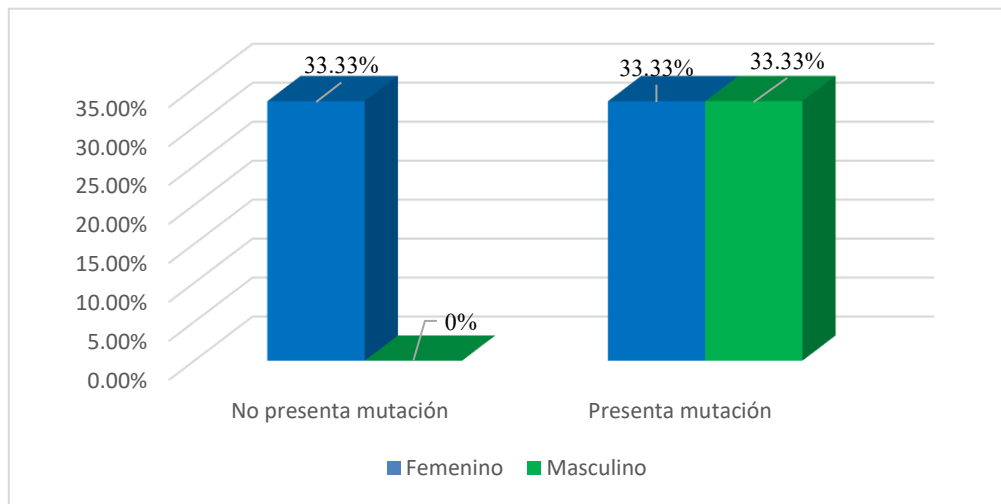
Tabla 25. *Relación entre el sexo del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina*

Sexo	RpoB MUT3 (Ser531Leu)					
	No presenta mutación		Presenta mutación		Total	
	n	P	n	p	n	p
Femenino	2	33.33%	2	33.33%	4	66.6%
Masculino	0	0.0%	2	33.33%	2	33.4%
Total	2	33.33%	4	66.33%	6	100%

Donde: n: número de pacientes con TB-FR; p: Porcentaje de pacientes con TB-FR.

Nota: Elaboración propia, 2023

Figura 23. Gráfica de relación entre el sexo del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina



Nota: Elaboración propia, 2023

Tabla 26. Prueba de Chi Cuadrado entre el sexo del paciente y el gen mutado resistente a Rifampicina

	Valor	gl	p-valor
χ^2	1.50	1	0.221
V de Crammer	0.5		
n	6		

Donde: gl: grados de libertad; N: Número total de pacientes con TB-FR; y χ^2 : estadístico de Chi cuadrado

Nota: Elaboración propia, 2023

A. Por Ocupación

En la **Tabla 27** y **Figura 24** se muestra una tabla cruzada de acuerdo la ocupación del paciente y la presencia o ausencia del gen MUT3 (Ser531Leu). Se ha observado que, la mutación es más frecuente en pacientes desempleados con un conteo de 02 (33.2%) del total, luego esta mutación se da entre comerciantes (01 caso) y personal de salud (01) caso. La **Tabla 28** presenta los resultados de la prueba de Chi Cuadrado para evaluar la asociación entre la ocupación del paciente y la presencia de la mutación Ser531Leu. Con

un p-valor de 0.392, que es mayor al nivel de significancia de 0.05, no se puede concluir que la ocupación influya en la presencia de la mutación. Sin embargo, el valor del V de Cramer de 0.7 indica una relación fuerte dentro de la muestra, aunque esta conclusión no es generalizable a la población.

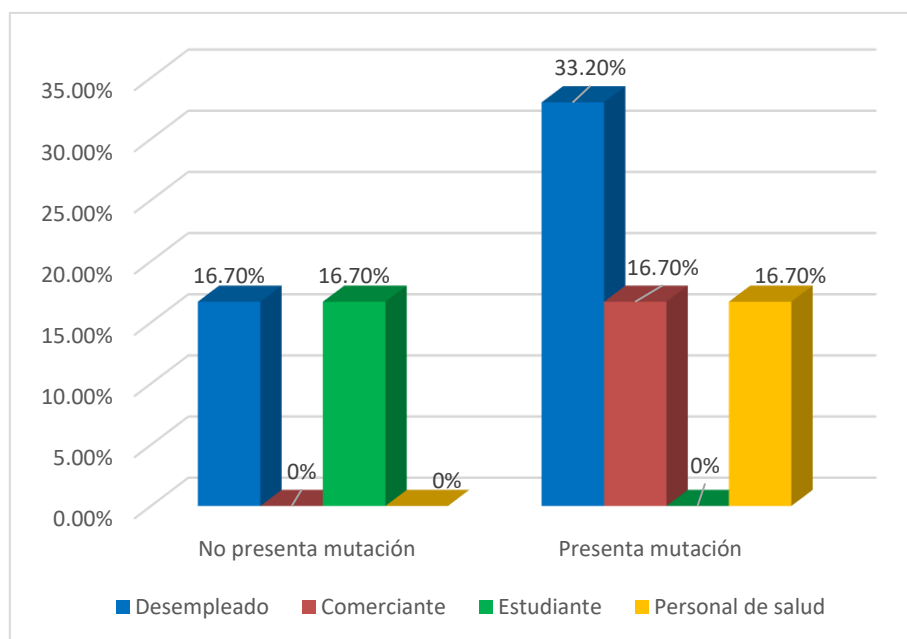
Tabla 27. Relación entre la ocupación del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina

Ocupación	RpoB MUT3 (Ser531Leu)					
	No presenta mutación		Presenta mutación		Total	
	n	P	n	P	n	P
Desempleado	1	16.7%	2	33.2%	3	49.9%
Comerciante	0	0.0%	1	16.7%	1	16.7%
Estudiante	1	16.7%	0	0.0%	1	16.7%
Personal de salud	0	0.0%	1	16.7%	1	16.7%
Total	2	33.4%	4	66.6%	6	100%

Donde: n: número de pacientes con TB-FR; p: Porcentaje de pacientes con TB-FR.

Nota: Elaboración propia, 2023

Figura 24. Gráfica de relación entre la ocupación del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina



Nota: Elaboración propia, 2023

Tabla 28. Prueba de Chi Cuadrado entre la ocupación del paciente y el gen mutado resistente a Rifampicina

	Valor	gl	p-valor
χ^2	3.00	3	0.392
V de Crammer	0.7		
n	6		

Donde: gl: grados de libertad; N: Número total de pacientes con TB-FR y χ^2 : estadístico de Chi cuadrado

Nota: Elaboración propia, 2023

Los resultados muestran que en relación a las variables demográficas: Por la edad, la prevalencia más elevada de mutación resistente a Isoniacida y Rifampicina se observa en adultos, siendo este el grupo etario con la mayor incidencia, en concordancia con hallazgos similares reportados en los antecedentes presentados del trabajo. En Chile, Araya (2014), reporto que la TB-MDR predomina en el sexo masculino y respecto al grupo etáreo el joven -adulto es el más afectado. En Perú, Davila (2016) informo que el sexo, la edad, la ocupación (empleados) y el antecedente de tratamiento previo por TB, son factores asociados al desarrollo de TB-MDR donde es frecuente en el rango de la edad entre 19 – 38 años y respecto al sexo, en pacientes varones. Asi mismo Vargas *et al.* (2021) reportaron la frecuencia de mutaciones genéticas KatG e InhA que confieren resistencia a Isoniacida en una población de 777 pacientes, demostrando que el 68 % de pacientes con farmacoresistencia fue del sexo masculino y el rango de edad entre 17 a 72 años.

Respecto a la variable Sexo y contrario a lo reportado por Araya (2014), Leyes *et al.* (2020), Davila (2016), y Vargas *et al.* (2021), que indicaron una mayor frecuencia de farmacoresistencia en pacientes masculinos, en nuestra región se observa, en términos generales, una mayor incidencia en mujeres. Por otro lado, la Variable ocupación es la de mayor grado de relación en la generación de resistencia, siendo el desempleo uno de los factores que presenta mayor incidencia.

Aunque no se encontró una relación estadísticamente significativa para todas las variables, la medida de asociación V de Crammer indicó una fuerte relación entre estas. Por lo que, es necesario señalar que esta relación puede aplicarse solo a la muestra del presente estudio.

Se sugiere realizar investigaciones adicionales en la región con un tamaño de muestra más amplio para examinar la relación entre las variables demográficas y la presencia de las mutaciones más frecuentes tanto para la resistencia a Isoniacida como para Rifampicina.

3.5. FRECUENCIA EN MUTACIONES DE ACUERDO A LA PROVINCIA DE RESIDENCIA

3.5.1. PARA LA MUTACIÓN RESISTENTE A LA ISONIACIDA

En la *Tabla 29 y Figura 25* se muestra la relación entre la provincia de origen del paciente y la presencia de la mutación C-15T, de esta forma se encuentra que la provincia del Cusco es la que concentra la mayoría de las mutaciones (4 o 30.7% del total de casos), las provincias de Calca, Canchis, Chumbivilcas y La Convención cuentan cada una con 01 caso de mutación de resistencia o 7.7% del total de casos observados. Por lo tanto, se puede concluir que la presencia de mutaciones para la resistencia a Isoniacida corresponde principalmente a la provincia del Cusco, es decir, al entorno urbano.

En la *Tabla 30* muestra los resultados de la prueba de Chi Cuadrado, para determinar la asociación entre la provincia de residencia del paciente y la presencia de la mutación C-15T. Para un nivel de significancia del 0.05, no se puede afirmar que existe una relación estadísticamente significativa entre la provincia de residencia y la presencia de la mutación C-15T. Para las observaciones de la muestra, se ha calculado un coeficiente de asociación V de Crammer de 0.644 que indica una relación fuerte entre la provincia de origen y la presencia de la mutación C-15T.

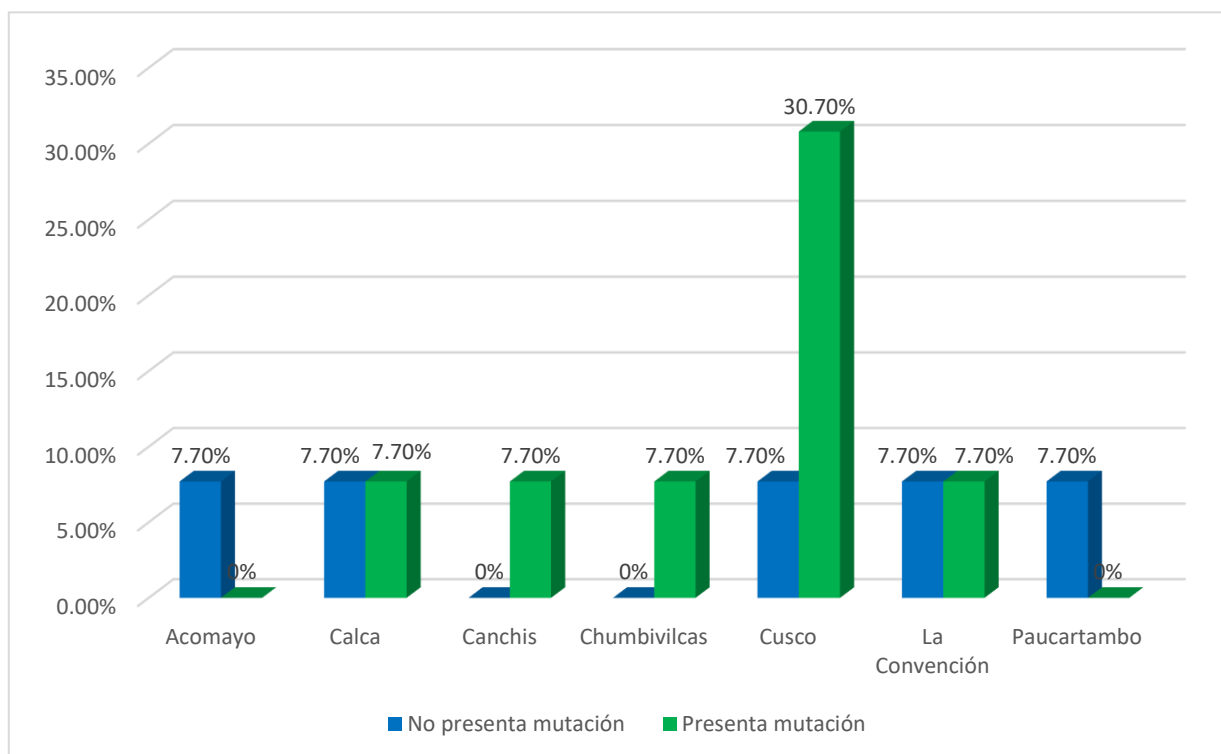
Tabla 29. Relación entre la provincia de residencia del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida

Provincia	InhA MUT1 C-15T					
	No presenta mutación		Presenta mutación		Total	
	n	P	N	p	n	p
Acomayo	1	7.7%	0	0.0%	1	7.7%
Calca	1	7.7%	1	7.7%	2	15.4%
Canchis	0	0.0%	1	7.7%	1	7.7%
Chumbivilcas	0	0.0%	1	7.7%	1	7.7%
Cusco	1	7.7%	4	30.7%	5	38.4%
La Convención	1	7.7%	1	7.7%	2	15.4%
Paucartambo	1	7.7%	0	0.0%	1	7.7%
Total	5	38.5%	8	61.5%	13	100%

Donde: n: número de pacientes con TB-FR; p: Porcentaje de pacientes con TB-FR.

Nota: Elaboración propia, 2023

Figura 25. Gráfica de relación entre la provincia de residencia del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Isoniacida



Nota: Elaboración propia, 2023

Tabla 30. Prueba de Chi Cuadrado entre la provincia de residencia del paciente y el gen mutado resistente a Isoniacida

	Valor	gl	p-valor
χ^2	5.40	6	0.494
V de Crammer	0.644		
n	<u>13</u>		

Donde: gl: grados de libertad; N: Número total de pacientes con TB-FR y χ^2 : estadístico de Chi cuadrado.

Nota: Elaboración propia, 2023

3.5.2. PARA LA MUTACIÓN RESISTENTE A LA RIFAMPICINA

En la **Tabla 31** y **Figura 26** se muestra la relación entre la provincia de origen del paciente y la presencia de la mutación Ser531Leu. Se ha determinado que la provincia del Cusco concentra la mayor cantidad de casos mutados (02), seguido por Acomayo (01) y Chumbivilcas (01). De esta manera, se puede concluir, la mutación Ser531Leu tiene mayor prevalencia en el entorno urbano de la provincia del Cusco, sobre otras provincias más rurales.

En la **Tabla 32** muestra los resultados de la prueba de Chi Cuadrado, para determinar la asociación entre la provincia de residencia del paciente y la presencia de la mutación Ser531Leu. Se ha obtenido un p-valor de 0.392, que al ser mayor que el nivel designificancia de 0.05, determina que no existe asociación entre la provincia de residencia del paciente y la presencia de la mutación Ser531Leu, para la población de casos. No obstante el valor V de Crammer de 0.707 es indicativo de una relación entre provincia de residencia y la presencia de la mutación Ser531Leu, para la muestra.

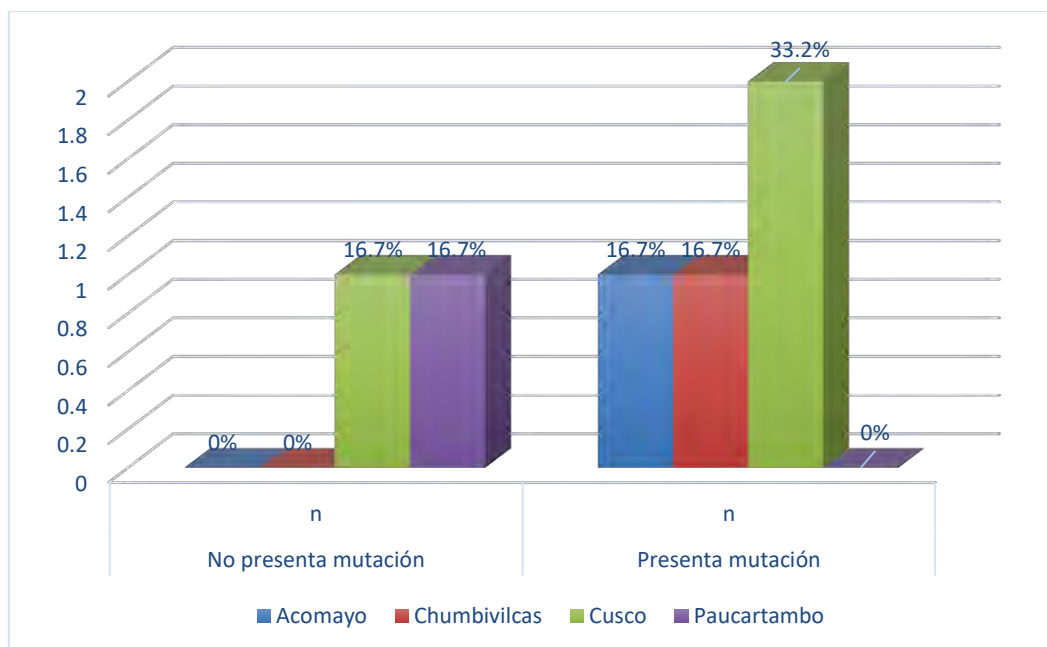
Tabla 31. Relación entre la provincia de residencia del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina

Provincia	RpoB MUT3 (Ser531Leu)				Total	
	No presenta mutación		Presenta mutación		n	p
	n	P	n	p		
Acomayo	0	0.0%	1	16.7%	1	16.7%
Chumbivilcas	0	0.0%	1	16.7%	1	16.7%
Cusco	1	16.7%	2	33.2%	3	49.9%
Paucartambo	1	16.7%	0	0.0%	1	16.7%
Total	2	33.4%	4	40.9%	6	100%

Donde: n: número de pacientes con TB-FR; p: Porcentaje de pacientes con TB-FR

Nota: Elaboración propia, 2023

Figura 26. Relación entre la provincia de residencia del paciente y la presencia del gen mutado resistente a Rifampicina



Nota: Elaboración propia, 2023

Tabla 32. Prueba de Chi Cuadrado entre la provincia de residencia del paciente y el gen mutado resistente a Rifampicina

	Valor	gl	p-valor
χ^2	3.00	3	0.392
V de Crammer	0.707		
N	6		

Donde: gl: grados de libertad; N: Número total de pacientes con TB-FR y χ^2 : estadístico de Chi cuadrado.

Nota: Elaboración propia, 2023

Los resultados de este estudio constituyen un aporte significativo a la comprensión de la resistencia a los medicamentos de primera línea. Por primera vez, se documenta la presencia frecuente de las mutaciones C15T en el gen *InhA* y Ser531Leu en el gen *RpoB* en la región del Cusco, las cuales están asociadas con la resistencia a los fármacos mencionados. Este análisis destaca la importancia de la investigación localizada en áreas geográficas específicas para una mejor comprensión y abordaje de la resistencia antimicrobiana.

CONCLUSIONES

1. Se detectaron de manera eficiente las mutaciones genéticas en *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a Isoniacida y Rifampicina en pacientes con tuberculosis en la región del Cusco, utilizando el ensayo de sonda en línea “GenoType MTBDRplus v2.0”, durante el período comprendido entre septiembre de 2022 y abril de 2023.
2. Mediante ensayo de sonda en línea “GenoType MTBDRplus v2.0”, se pudo identificar 6 casos de resistencia Rifampicina, donde 04 mutaciones (66.67%) corresponde a la mutación Ser531Leu y 01 mutación (16.67%) corresponde a la mutación Asp516Val. Para la Isoniacida, se identificó un total de 13 casos de resistencia, donde el 61,54% de las mutaciones (08) ocurrieron en el gen InhA, cuyo patrón discernible es la ausencia de WT1 y la presencia de MUT1, que corresponde a la mutación C-15T.
3. Existe una relación entre la mutación (C-15T) del gen InhA de resistencia a Isoniacida y los antecedentes de tratamiento. Se pudo determinar que los pacientes con historial de tratamiento tienen una probabilidad 1.33 veces mayor a presentar el gen mutado que aquellos que nunca tuvieron historial de tratamiento.
4. Para los factores demográficos (edad, sexo y ocupación), y la resistencia a Isoniacida, se ha encontrado que la edad, y la ocupación son las covariables con una relación moderada-fuerte con la presencia del gen mutado. Para la resistencia a Rifampicina, se ha encontrado una relación moderada-fuerte con las covariables de ocupación y sexo del paciente.
5. La mutación resistente a Isoniacida y Rifampicina se hallan concentradas en la provincia del Cusco, con un 30.8% en cada caso. Además, se tiene una relación moderada y fuerte entre la procedencia y la presencia de la mutación.

RECOMENDACIONES

1. Que, los laboratorios de referencia en Perú que desarrollan trabajos con la prueba molecular Genotype en el área de tuberculosis organicen talleres y cursos regulares sobre el uso y optimización de la prueba molecular “GenoType MTBDRplus v2.0”, así como sobre nuevas tecnologías emergentes para la detección de resistencia.
2. Los laboratorios de referencia en Perú, especializados en la detección de tuberculosis, establezcan alianzas estratégicas con instituciones académicas y centros de investigación, con el objetivo de colaborar en estudios conjuntos que impulsen la optimización de las metodologías de diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis, promoviendo así avances en el manejo de la enfermedad.
3. Que, los investigadores profundicen en el estudio de la relación entre las variables demográficas y la aparición de mutaciones de resistencia a medicamentos de primera línea en la región del Cusco. Esto permitirá una mejor comprensión de los factores que influyen en la resistencia, facilitando el desarrollo de estrategias de intervención más efectivas y personalizadas para el control de la tuberculosis en la región.
4. El Ministerio de Salud (Minsa), en colaboración con instituciones asociadas, debe organizar campañas de sensibilización sobre la tuberculosis resistente. Estas campañas deberían informar al público sobre la importancia de la detección temprana y el tratamiento adecuado, destacando las graves consecuencias de la resistencia a medicamentos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, G. A., Vega, A., y Ribón, W. (2013). Tuberculosis multidrogosensible. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, 45(3), 87-92.
<https://revistas.uis.edu.co/index.php/revistasaluduis/article/view/3899>
- Alcaide, F., Esteban, J., González-Martin, J., & Palacios, J. J. (2017). Métodos de determinación de sensibilidad a los antimicrobianos en micobacterias. *Revista Elsevier, Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 35(8), 529-535.
<https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-determinacion-sensibilidad-antimicrobianos-micobacterias-S0213005X16301033>
- Alarcón, V., Alarcón, E., Figueroa, C., & Mendoza-Ticona, A. (2017). Tuberculosis en el Perú: situación epidemiológica, avances y desafíos para su control. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*, 34, 299-310.
<http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2017.342.2384>
- ANMAT. (2 de Febrero de 2012). Obtenido de Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica -ANMAT - Argentina:
<https://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/i023.htm>
- Araya Kutscher, F. (2014). Descripción de la tuberculosis multidrogosensible en Chile, período 2008-2011 [Tesis de maestría, Universidad de Chile].
https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/180865/Tesis_FRANCISCA%20ALEJANDRA%20ARAYA%20KUTSCHER.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Asencios, L., Galarza, M., Quispe, N., Vásquez, L., Leo, E., Valencia, E., ... & Cáceres, O. (2012). Prueba molecular “Genotype® MTBDRplus”, una alternativa para la detección rápida de tuberculosis multidrogosensible. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 29, 92-98.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172646342012000100
- Aznar Ruiz de Alegria, M. L. (2019). Tuberculosis multirresistente en un área rural de Angola. [Tesis de doctorado, Universidad Autónoma de Barcelona].
<https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/669704/mlarda1de1.pdf;jsessionid=20256391803181479936FE2D0030A882?sequence=1>
- Barrueco, A. M. (2018). *Mycobacterium tuberculosis* resistente: un reto actual [Doctoral

dissertation, Universidad complutense].

<http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/ALFREDO%20MALDONADO%20BARRUECO.pdf>

Bravo Gutiérrez, J. H. (2018). Factores de riesgo asociados a tuberculosis multidrogoresistente en el hospital II Vitarte Essalud durante el periodo enero del 2010–diciembre 2016.

[Tesis de pregrado, Universidad Ricardo Palma].

<https://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14138/1306/23JBRAVO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Bravo Fuentes, H. E. (2019). Determinantes sociales e irregularidad del tratamiento antituberculoso esquema sensible, Cusco, 2018. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco].

http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/4080/253T20190238_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Castañeda Ponze, E. D. (2021). Factores de riesgo asociados a la tuberculosis drogoresistente en la región Cusco 2015. (Tesis de maestría, Universidad Católica de Santa María)

<https://repositorio.ucsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12920/11358/A4.2300.MG.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Coila Chilo, M. (2019). Riesgo laboral y medidas preventivas en el personal que atiende pacientes con tuberculosis del Hospital Regional del Cusco, 2018. [Tesis de Postgrado,

Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco].

https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/4941/253T20191193_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Cuevas-Córdoba, B., & Zenteno-Cuevas, R. (2010). Tuberculosis drogorresistente: mecanismos moleculares y métodos diagnósticos. *Enfermedades Infecciosas y microbiología clínica*, 28(9), 621-628.

<https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-tuberculosis-drogorresistente-mecanismos-moleculares-metodos-S0213005X10000686>

Culqui Carrasco, C. A. (2022). Factores de riesgo asociados a tuberculosis multidrogoresistente en pacientes de establecimientos de salud del primer nivel de atención en el norte del Perú entre los años 2016-2022. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de Piura].

<https://repositorio.unp.edu.pe/handle/20.500.12676/3438?show=full>

Dávila Asenjo, D. (2016). Factores asociados a multidrogorresistente en pacientes con diagnóstico de tuberculosis Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen 2014. [Tesis de maestría, Universidad de San Martín de Porres].

https://repositorio.usmp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12727/2585/DAVILA_D.pdf?sequence=1&isAllowed=y

DGE (febrero de 2019). Dirección de epidemiología de México. Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de las Micobacteriosis (Tuberculosis y Lepra) Obtenido de

https://epidemiologia.salud.gob.mx/gobmx/salud/documentos/manuales/18_Manual_Micobacteriosis.pdf

Farga, V. (2004). La conquista de la tuberculosis. Revista chilena de enfermedades respiratorias, 20(2), 101-108. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-73482004000200009>

Fontalvo Rivera, D., & Gómez Camargo, D. (2015). Genes del *Mycobacterium tuberculosis* involucrados en la patogenicidad y resistencia a antibióticos durante la tuberculosis pulmonar y extrapulmonar. *Medicas UIS*, 28(1), 39-51.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-03192015000100004

Franco G, et al. (2017) Detección de genes asociados a resistencia para Isoniacida y Rifampicina en cepas de *Mycobacterium tuberculosis* en Ecuador. *Revista científica INSPILIP V*. (1), Número 2, Guayaquil, Ecuador. DOI: 10.31790/inspilip.v1i2.30.g35

Gómez Tangarife, V. J., Gómez Restrepo, A. J., Robledo Restrepo, J., y Hernández Sarmiento, J.M. (2018). Resistencia a Medicamentos en *Mycobacterium tuberculosis*: contribución de mecanismos constitutivos y adquiridos. *Revista de Salud Pública*, 20, 491-497. <https://www.scielosp.org/pdf/rsap/2018.v20n4/491-497>

Hospital Nacional Hipólito Unanue. (2022). Resolución Directoral N° 073-2022-HNHU-DG. <https://www.gob.pe/institucion/hnhu/normas-legales/2889734-073-2022-hnhu-dg>

Hospital Regional del Cusco, H. (2022). *Reporte epidemiológico de tuberculosis*. Cusco: Oficina de Inteligencia Sanitaria.

https://hrcusco.gob.pe/wpcontent/uploads/2023/02/AUTOM_REPORTE_TBC_DICI_EMBRE_2_022.pdf

- Instituto Nacional de Salud. (2019). Protocolo del Laboratorio de Referencia Nacional de Micobacterias "Ensayo de sonda en línea para la identificación y detección de resistencia a Rifampicina e Isoniacida del complejo *Mycobacterium tuberculosis*" (3a ed., MET-CNSP-064).
- Jamovi. (15 de 07 de 2023). The Jamovi Project (Version 2.3). Sydney. Obtenido de <https://www.jamovi.org/about.html>
- Jaramillo López, J. S. (2009). Análisis de mutaciones en los genes asociados a la resistencia a antituberculosos de primera línea en aislados colombianos de *Mycobacterium tuberculosis*. Obtenido de [https://bdigital.uniquindio.edu.co/bitstream/handle/001/5999/Juan%20Sebastian%20Jaramillo%20Lopez%20%20Cod%2071278%20\(An%C3%A1lisis%20de%20muta.pdf](https://bdigital.uniquindio.edu.co/bitstream/handle/001/5999/Juan%20Sebastian%20Jaramillo%20Lopez%20%20Cod%2071278%20(An%C3%A1lisis%20de%20muta.pdf)
- LRRC(2013). Laboratorio de referencia regional del Cusco. Obtenido de http://www.diresacusco.gob.pe/salud_comunitaria/lab_ref/generales.pdf
- Llerena, C., & Medina, R. (2017). Description of *Mycobacterium tuberculosis* mutations conferring resistance to Rifampicin and Isoniazid detected by “GenoType (r) MTBDR plusV. 2” in Colombia. *Biomedica*, 37(1), 28-33. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28527245/>
- Leyes, F. J. R. M., Ortega, L. A., Sarmiento, M. G., & Serrano, R. M. (2020). Perfil de resistencia del *Mycobacterium tuberculosis* a fármacos antituberculosos de primera línea y sus combinaciones. *Revista cubana de medicina tropical*, 72(2), 1-16. <https://revmedtropical.sld.cu/index.php/medtropical/article/view/525/394>
- Martínez Martínez, Y. B. (2014). Secuenciación del genoma de una clona de *Mycobacterium tuberculosis* resistente a todos los medicamentos anti-tuberculosis de primera línea (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León). <http://eprints.uanl.mx/4189/1/1080253851.pdf>
- Ministerio de Salud del Perú. (2019). Norma técnica de salud para la atención integral de las personas afectadas por tuberculosis. <http://www.tuberculosis.minsa.gob.pe/portaldpctb/recursos/20190404114640.PDF>
- Ministerio de Salud del Perú. (2021). Memoria 2016 – 2020: Dirección de Prevención y Control de Tuberculosis – DPCTB. Dirección General de Intervenciones Estratégicas en Salud Pública. <https://www.gob.pe/minsa/portaldpctb/recursos/20220929124245.pdf>

- MINSA. (25 de marzo de 2023). *Ministerio de Salud del Peru*. Obtenido de Plataforma digital única del Estado Peruano: <https://www.gob.pe/21334-que-es-la-tuberculosis-tb-tratamiento>
- MINSA, C. (19 de marzo de 2022). *Centro Nacional de Epidemiología, prevención y Control de enfermedades*. Obtenido de https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/boletin/boletin_202211_08_173444.pdf
- MINSALUD. (29 de Marzo de 2023). *Ministerio de Salud y protección ocupacional*. Obtenido de GOV.CO: <https://www.minsalud.gov.co/salud/publica/PET/Paginas/Tuberculosis.aspx>
- Montalla, V. (2021). *Mycobacterium tuberculosis: An Overview of its General Characteristics, Pathophysiology, and Future Directions*. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/354528725_Mycobacterium_tuberculosis_An_Overview_of_its_General_Characteristics_Pathophysiology_and_Future_Direc
- Monteserin, J. (2016). Genotipos de *Mycobacterium tuberculosis* prevalentes en Argentina y su relación con mutaciones de resistencia a Isoniacida. Obtenido de https://ridaa.unq.edu.ar/bitstream/handle/20.500.11807/205/TD_2016_monteserin_002.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Organización Mundial de la Salud (2021). *Global Tuberculosis Report* <https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021>
- OMS. (14 de Octubre de 2021). *Organización mundial de la salud*. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>
- Organización Mundial de la Salud. (27 de octubre de 2022). Aumenta la morbimortalidad por tuberculosis durante la pandemia de COVID-19. Obtenido de <https://www.who.int/es/news/item/27-10-2022-tuberculosis-deaths-and-disease-increase-during-the-covid-19-pandemic>
- OPS. (2023). Organización Panamericana de la Salud. Obtenido de <https://www.paho.org/es/temas/tuberculosis>
- Organización Panamericana de la Salud. (2023). Directrices unificadas de la OMS sobre la tuberculosis. Módulo 4: Tratamiento. Tratamiento de la tuberculosis farmacorresistente. Actualización del 2022. Washington, D.C.: OPS. Obtenido de <https://doi.org/10.37774/9789275327869>

- Pecho Silva, S. (2020). Tratamiento de tuberculosis MDR/XDR en Perú. ¿Vamos por buen camino? *Revista Peruana de Investigación en Salud*, 4(3), 134-137.
<https://doi.org/10.35839/repis.4.3.699>
- Pecho-Silva, S., & Navarro-Solsol, A. C. (2020). Detección de las mutaciones katG e inhA para guiar el uso de isoniazida y etionamida en el tratamiento de la tuberculosis multidrogorresistente en el Perú [Carta al editor]. *Acta Médica Peruana*, 37(4), 395-397. <https://doi.org/10.35663/amp.2020.374.1049>
- Quispe Huamanquispe, D. G. (2009). Perfil molecular de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras biológicas del tracto respiratorio inferior de pacientes limeños con sospecha de tuberculosis. (Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos).
https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/885/Quispe_hd%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Rando Segura, A. (2021). Caracterización molecular de la resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* en un área rural de Angola. (Tesis de doctorado, Universitat Autònoma de Barcelona)
<https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/674427/ars1de1.pdf?sequence=1>
- R Core Team. (15 de 07 de 2023). R: A Language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Obtenido de:
<https://www.R-project.org/>.
- Sánchez Salinas, O. (2011). Efecto de 150 subcultivos continuos sobre la composición genética y de virulencia de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* (Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León).
<https://cd.dgb.uanl.mx/bitstream/handle/201504211/4852/19800.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sandoval, R., Monteghirfo, M., Salazar, O., & Galarza, M. (2020). Resistencia cruzada entre Isoniacida y Etionamida y su alta correlación con la mutación C-15T en aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* de Perú. *Revista argentina de microbiología*, 52(1), 37-42. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.03.005>
- Santos-Lazaro, D., Puyen, Z. M., & Gavilan, R. G. (2022). Estructura genética de cepas drogorresistentes de *Mycobacterium tuberculosis* en Perú basada en haplotipos obtenidos de un ensayo con sondas en línea. *Revista Peruana de Medicina*

Experimental y Salud Publica, 38, 577-586.

<http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2021.384.7834>

- Tanta Lartiga, L. A. (2019). Prevalencia de mutación genética en pacientes con tuberculosis resistente a Isoniacida en Lima Norte durante el periodo 2016-2018. [Tesis de Pregrado, Universidad Ricardo Palma].
<https://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14138/1879/LTANTA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Tello, A. (2008). Estudio de la resistencia a Rifampicina en aislamientos clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* en el Perú. [Tesis para optar el Título Profesional de Biólogo Microbiólogo. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú].
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/1377/Tello_ca.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Vargas-Ponce, K. G., Trujillo-Valencia, C. L., Saravia-Ruiz, T., Salas-López, J. A., & Llanos-Tejada, F. K. (2021). Mutaciones genéticas que confieren resistencia a Isoniacida en pacientes con tuberculosis en Lima Centro, Perú 2017-2018. *Acta Médica Peruana*, 38(2), 151-153. <http://dx.doi.org/10.35663/amp.2021.382.1892>
- Vigo, A., Solari, L., Santos, D., & Puyén, Z. M. (2020). Mutaciones que confieren resistencia a fármacos antituberculosis de primera línea en Perú: una revisión sistemática de la literatura. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 36, 636-645. <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2019.364.4722>

ANEXOS

ANEXO 1: PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE DESCONTAMINACIÓN

Según el Protocolo del Laboratorio de Referencia Nacional de Micobacterias del Instituto Nacional de Salud (INS), 2019: "Ensayo de sonda en línea para la identificación y detección de resistencia a Rifampicina e Isoniacida del complejo *Mycobacterium tuberculosis*"

Hidróxido de Sodio (NAaOH)	g	40
Agua destilada	mL	1000

Citrato trisódico ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	g	29
Agua destilada	mL	1000

- Pesar los solutos en una balanza analítica en las cantidades señaladas.
- Disolver los solutos en un matraz con agua destilada, por separado, hasta lograr la completa disolución de los solutos en un agitador magnético (hot plate)
- Mezclar en iguales cantidades el citrato trisódico y el hidróxido de sodio.
- Para procesar muestras alicuotar las soluciones en botellas o frascos conteniendo no más de 60mL cada uno. Esta cantidad es adecuada para el procesamiento aproximado de 10 muestras.
- Esterilizar las botellas en autoclave a 121°C por 15 minutos a 1 atmosfera de presión.
- Rotular con el nombre respectivo y fecha de preparación.
- Guardar en refrigeración (4-8°C) hasta su uso (máximo hasta 30 días)
- En el momento del uso agregar 50mL de la solución de descontaminación en el tubo de centrifuga de 50mL en el cual se peso 0.25g de N-acetil L-cisteina ($\text{Na}_3\text{C}_9\text{NO}_3\text{S}$) previamente. Mezclar y utilizar.

ANEXO 2. PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN BUFFER FOSFATO P.H 6.8

Según el Protocolo del Laboratorio de Referencia Nacional de Micobacterias del Instituto Nacional de Salud (INS), 2019: "Ensayo de sonda en línea para la identificación y detección de resistencia a Rifampicina e Isoniacida del complejo *Mycobacterium tuberculosis*"

SOLUCIÓN A	Fosfato Disódico Anhidro HNa_2PO_4	g	9.47
	Agua destilada	mL	1000
SOLUCIÓN B	Fosfato Monopotasico KH_2PO_4	g	9.07
	Agua destilada	mL	1000

- Pesar en una balanza analítica las cantidades señaladas para la solución “A”.
- Disolver los solutos en agua destilada en un matraz de un litro por separado hasta lograr completar la disolución de las sales en un agitador magnético (hot plate)
- Mezclar igual volumen de la solución “A” y “B”
- Utilizar un potenciómetro para medir y llevar a un PH 6.8 (para ajustar el PH, añadir solución “A” para elevar el PH o la solución “B” para bajar el PH)
- Para procesar muestras, alicuotar el Buffer en botellas o frascos conteniendo no mas de 500mL cada uno. Esta cantidad es adecuada para el procesamiento aproximado de 10 muestras.
- Esterilizar las botellas en autoclave a 121°C por 15 minutos a 01 atmósfera de presión.
- Rotular con el nombre del buffer y fecha de preparación
- Guardar en refrigeración 4-8°C hasta su uso (máximo hasta 30 días).

ANEXO 3. PREPARACIÓN DE LA MEZCLA MAESTRA (MASTER MIX) EN EL AREA PRE-PCR

Según el Protocolo del Laboratorio de Referencia Nacional de Micobacterias del Instituto Nacional de Salud (INS), 2019: "Ensayo de sonda en línea para la identificación y detección de resistencia a Rifampicina e Isoniacida del complejo *Mycobacterium tuberculosis*".

- Preparar la mezcla de amplificación dentro de una cabina de PCR y en un ambiente separado libre de ADN.
- Retirar los tubos AM-A(Contenido Taq polimerasa, nucleótidos y buffer) y AM-B(Conteniendo primers biotinilados más aditivos) de la congeladora a -20°C y dejar descongelar por 5 minutos a temperatura ambiente.
- Realizar la siguiente mezcla por cada muestra:


MEZCLA MAESTRA (MÁSTER MIX)	
REACTIVO	VOLUMEN
AM-A	10uL
AM-B	35uL
TOTAL	45uL

- Determinar el número de muestras a amplificar y colocar las cantidades calculadas de AM-A y AM-B en un tubo de centrifuga (mezcla madre)
- Alicuotar la mezcla madre en volúmenes de 45uL en tubos de 0.2ml de PCR.
- Añadir 5uL de agua de grado molecular en uno de los tubos que contiene el mix de PCR (tubo control negativo)

ANEXO 4. OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS



Cubeta de traslado para muestras de tuberculosis debidamente rotulados, sellados y con Parafilm.


SOLICITUD PARA INVESTIGACIÓN SERIOLÓGICA EN TUBERCULOSIS

023032313532 LRR-DIRESA-CUSCO (SERVICIO GRATUITO)

1. N° de Reg. S.R. 2749

1. HOSPITAL REGIONAL CUSCO Servicio: Emergencia Cima: 32

2. [Redacted] Apellidos [Redacted] Nombres [Redacted] Edad: 3 Sexo: [Redacted]

Hist. Clínica: [Redacted] DNI: [Redacted] Teléfono: [Redacted]

Dirección: Comunidad Layibambis Distrito: Chalabamba Provincia: Pacariamba

3. Tipo de Muestra: Espudo Otra Especificar: Heces

4. Antecedentes de Tratamiento: Antes tratado: Recaido Abandono Recup Fracaso

5. Para Diagnóstico: S.R. Seq. Diagnost. Rx Anormal Otros

6. Control de Tratamiento: Mes Esq. TB sensible Esq. MDR Esq. XDR Otros

7. Ex. Solicitado: Baciloscopia Ter. M. Zda. M. Otras (especificar N°) Cultivo

Prueba de sensibilidad: Rápida Especificar: Convencional Especificar:

8. Fecha de observación de la muestra: [Redacted]

9. Calidad de la muestra: Buena Inadecuada

10. Observaciones: CEPA / PRUEBA SENSIBILIDAD

Datos del Solicitante
 MELVIN RICARDO GASTRO PRIETO
 MEDICO BACIOLOGO
 DNI: 24002144

11. RESULTADOS: (PARA SER LLENADO POR EL LABORATORIO)

Fecha	Procedimiento	N° de Registro de Laboratorio	Aspecto Macroscopico	Aspecto Resultados (solo anotar en la casilla correspondiente)	
				NEGATIVO Anotar (-)	POSITIVO (Anotar +...+++ con color rojo)
13-06-23	Baciloscopia	3246	Diarrea		(+++)
	Cultivo	1036			(+++)

12. Apellidos y Nombres del Laboratorio: Hospital Regional - Cusco

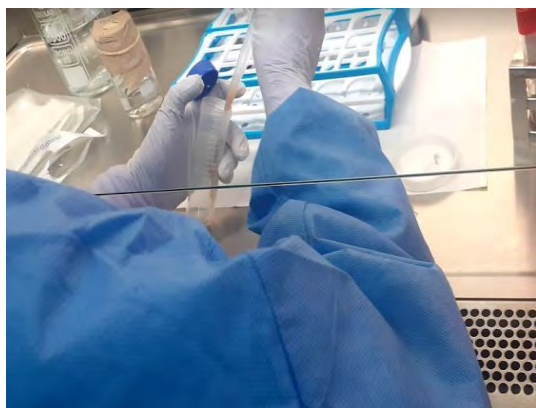
13. Fecha de Entrega: 18/07/23

14. Observaciones: LABORATORIO Servicio Baciloscopia

Orden de solicitud de muestra positiva (+ + +) debidamente llenado.

ANEXO 5. DIGESTIÓN Y DESCONTAMINACIÓN DE LAS MUESTRAS

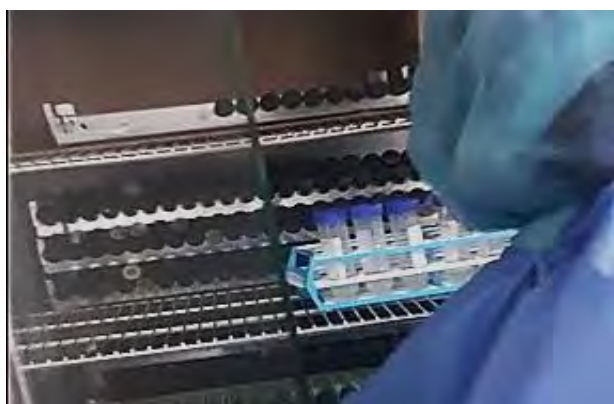
Materiales sometidos desinfectados y sometidos a luz UV



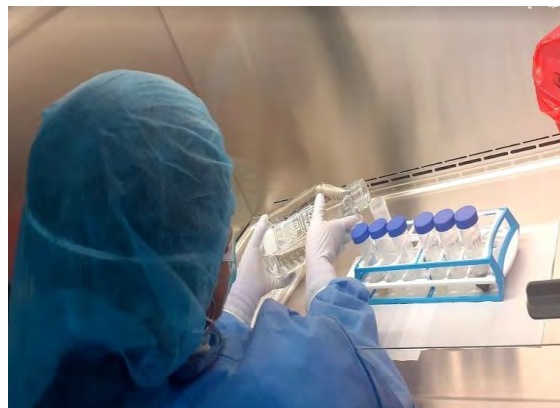
a



b



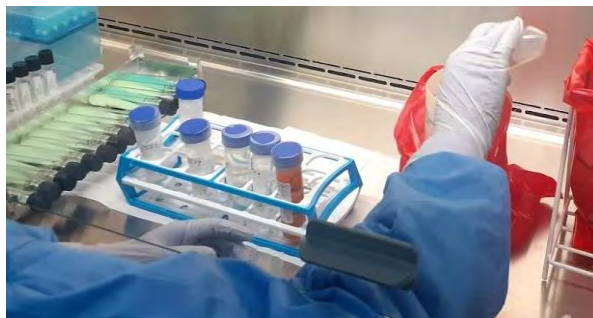
c



d



e



f

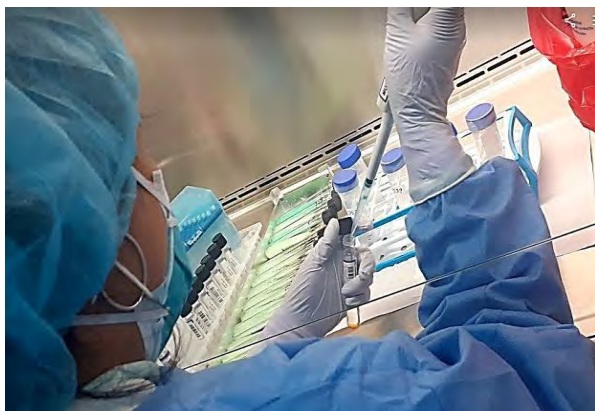


g



h

a) Dispensado de muestras en tubos Falcon de 50ml; b) Agregado de solución de descontaminación (NALC-NaOH); c) Incubación de las muestras por 15min; d) Agregando Buffer a las muestras; e) Centrifugamos a 3000rpm por 15 min en centrifuga refrigerada; f) Decantado de sobrenadante; g) Agregando Buffer al precipitado; h) Muestra concentrada



i

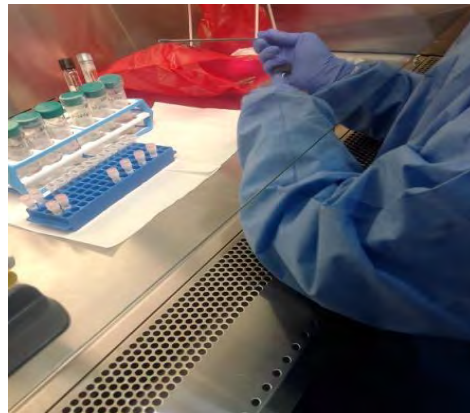


j

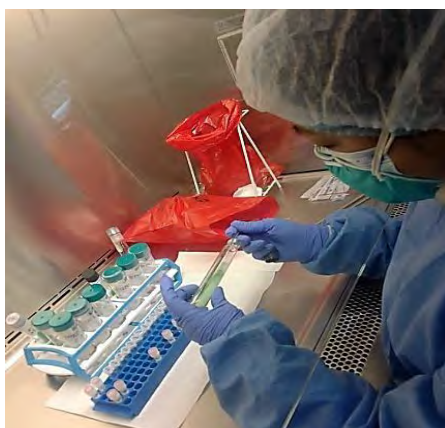
En muestras extrapulmonares o negativas, se realiza sembrado: i) En medio liquido (Bactec MGIT 960); j) En medio solido(Lowestein Jensen)

ANEXO 6. EXTRACCIÓN DE ADN DE *Mycobacterium tuberculosis*

a



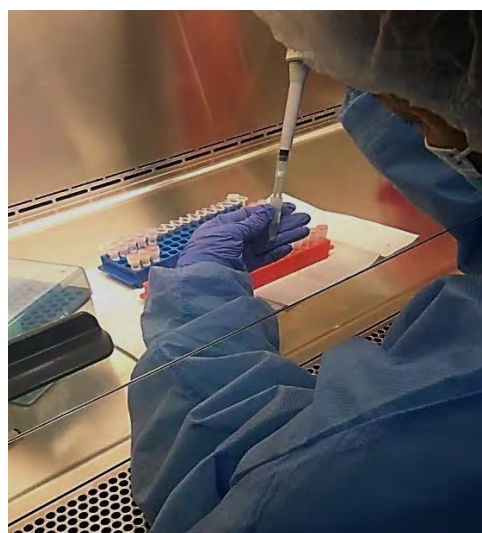
b



c



d



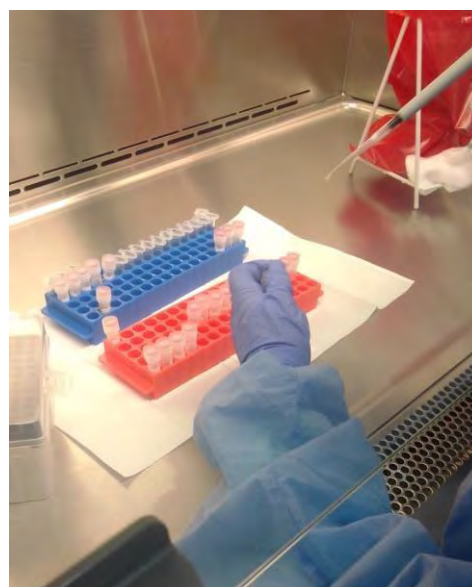
e



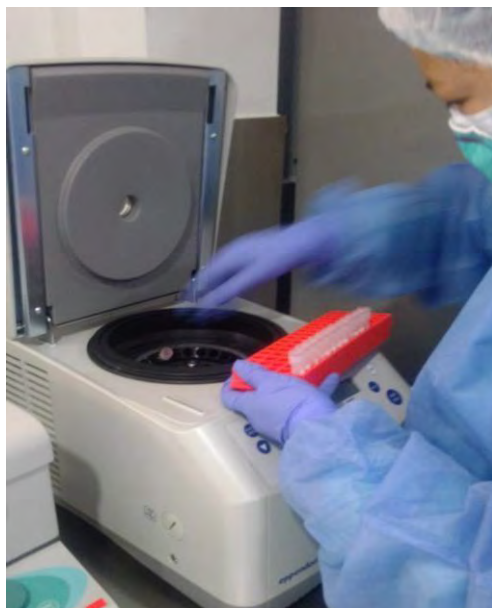
f



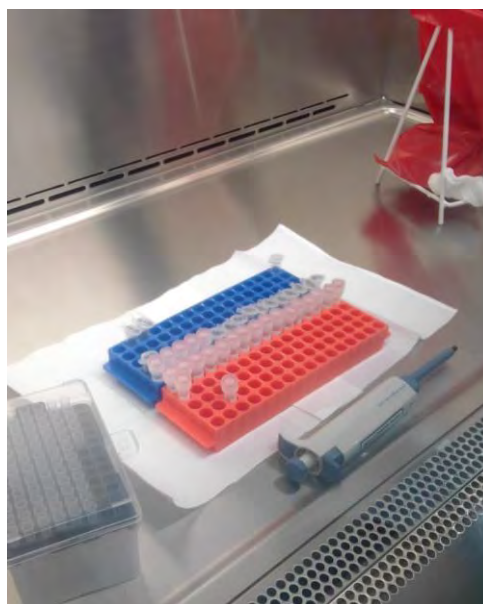
g



h



i

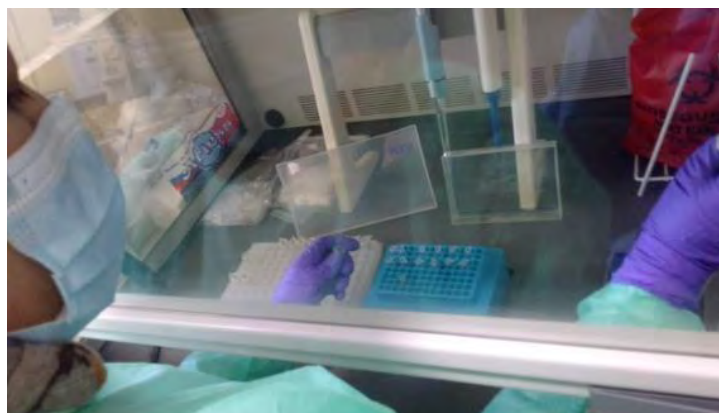


j

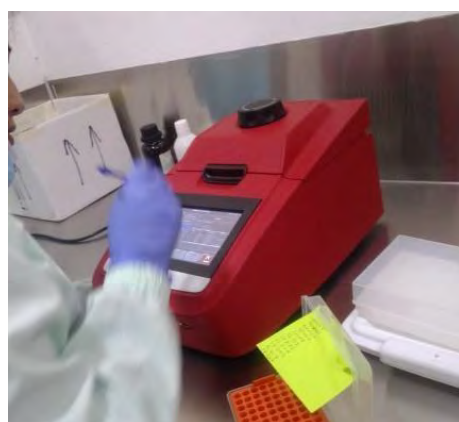
a) Rotulado de material b) Obtención de cepas de medio liquido (Bactec MGIT 960); c) Obtención de muestras de medio solido (Ogawa o Loweistein Jensen) d) Centrifuga a 12000 rpm por 15min; e) Agregado de tampón de lisis A; f) Posicionado en termobloque; g) Un push en centrifuga refrigerada; h) Agregado de tampón de lisis B; i) Última Centrifugada a 12000rpm por 15 min; j) Recuperación de sobrenadante.

ANEXO 7. CARGADO DEL MATERIAL GENÉTICO Y AMPLIFICACIÓN.

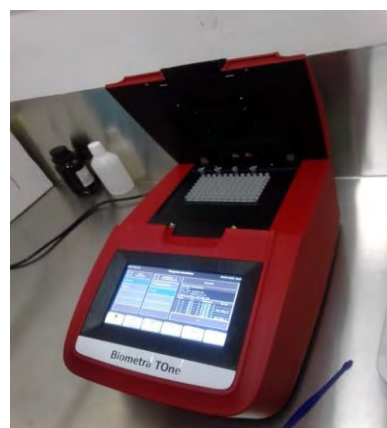
En el área limpia: Añadiendo 45ul de Master mix.



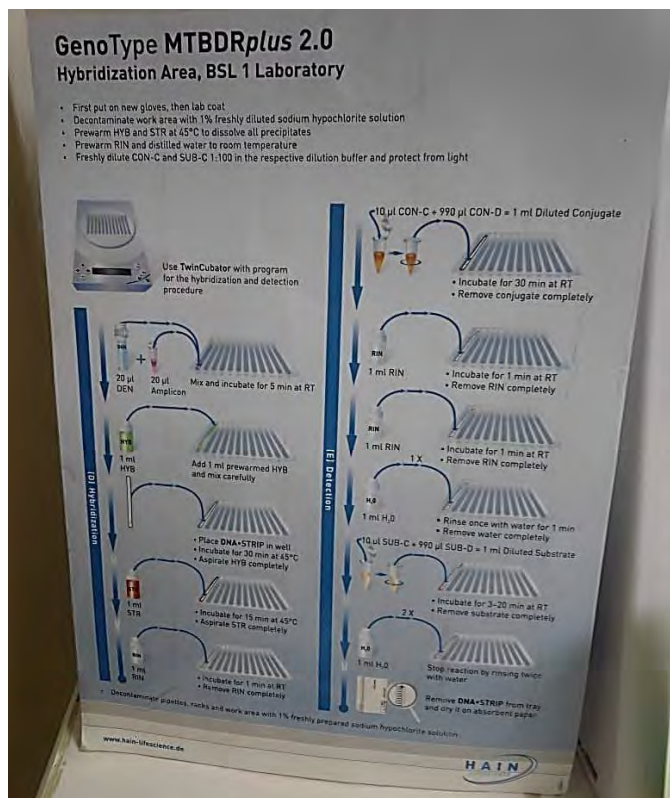
En el área de sembrado: 5ul de muestras extraídas.



Amplificación de ADN.



ANEXO 8. PROCESO DE HIBRIDACIÓN



a) Guía de Hibridación, “GenoType MTBDRPlus V2.0”



b



c



d

e



f



g



h



i

ANEXO 9. SOLICITUD AL LABORATORIO DE REFERENCIA REGIONAL DEL CUSCO PARA AUTORIZACIÓN DE OBTENCIÓN DE DATOS.

CUSCO
GOBIERNO REGIONAL CUSCO
GERENCIA REGIONAL DE SALUD CUSCO
TRAMITE DOCUMENTARIO
FORMULARIO ÚNICO DE TRAMITE (FUT)

N° _____

1. SEÑOR GERENTE REGIONAL DE SALUD CUSCO

2. ESPERILLA
 APELLIDO PATERNO: MAMANI APELLIDO MATERNO: Mamani Judith NOMBRES
 DNI: 76078677 DOMICILIO: Tr. la Libertad 3-Bilbanra TELÉFONO: 920746387

3. Señor Gerente solicito: **MARCAR EL CASILLERO CON UN ASFA (X)**

<input type="checkbox"/> APROBACIÓN	<input type="checkbox"/> EXONERACIÓN	<input type="checkbox"/> REGISTRO
<input type="checkbox"/> AUTENTICACIÓN	<input type="checkbox"/> EXPEDICIÓN	<input type="checkbox"/> VISACIÓN
<input checked="" type="checkbox"/> AUTORIZACIÓN	<input type="checkbox"/> INSCRIPCIÓN	<input type="checkbox"/> RECTIFICACIÓN/MODIFICACION
<input type="checkbox"/> CERTIFICADO	<input type="checkbox"/> INSPECCIÓN	<input type="checkbox"/> SUBSIDIO
<input type="checkbox"/> CONSTANCIA	<input type="checkbox"/> OTORGAMIENTO	<input type="checkbox"/> OTROS
<input type="checkbox"/> RECONSIDERACIÓN/APELACIÓN		

ESPECIFICAR EL PEDIDO Con referencia al Laboratorio regional de salud Pública Cusco Solicito que me brinde información de la data de resultados de diagnostico mediante ensayo de sonda en línea kit Genovip HTBDRa1 en paciente con tuberculosis, durante el periodo setiembre (2022)-Abril (2023) del área de tuberculosis, con motivos de tesis.

4.- ANEXOS si Ud. Desea adjuntar documentos, señale los principales. Si le falta espacio puede escribir en el reverso de este formulario

REGIO. CUSCO
GERENCIA REGIONAL DE SALUD
UNIDAD DE TRAMITE DOCUMENTARIO

16 MAY 2023

Folio: _____
 Hoja: 6808

Cusco, 16 de Mayo de 2023

[Firma]

ANEXO 10. RESULTADOS DE LA PRUEBA “GenoType® MTBDR v2.0”.

Tabla 33. Resultados “GenoType® MTBDRPlus”, Septiembre - Diciembre 2022

N°	MES	CODIGO DE BARRA	RIF	INH	KatG	InhA	InhA / katG	CC	AC	TUB	rpoB rpoB	rpoB WT1	rpoB WT2	rpoB WT3	rpoB WT4	rpoB WT5	rpoB WT6	rpoB WT7	rpoB WT8	rpoB MUT1	rpoB MUT2A	rpoB MUT2B	rpoB MUT3	KatG	katG WT	katG MUT1	katG MUT2	inhA	InhA WT1	InhA WT2	InhA MUT1	InhA MUT2	inhA MUT3A	IhA MUT3B	
1	SEP	23032234651	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
2	SEP	23032234653	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
3	SEP	23032234692	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
4	SEP	23032234714	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
5	SEP	23032234715	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
6	SEP	23032234931	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
7	SEP	23032235226	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
8	SEP	23032235229	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
9	SEP	23032235232	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
10	SEP	23032235274	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
11	SEP	23032235279	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
12	SEP	23032235421	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
13	SEP	23032235478	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
14	SEP	23032235486	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
15	SEP	23032233782	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
16	SEP	23032232934	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
17	SEP	23032232671	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
18	SEP	23032234302	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
19	SEP	23032234543	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
20	SEP	23032235578	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
21	SEP	23032235801	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
22	SEP	23032236071	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
23	SEP	23032236201	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0

24	SEP	23032236293	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
25	SEP	23032236338	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
26	SEP	23032236570	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
27	SEP	23032234595	R	R		1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0
28	SEP	23032235223	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
29	SEP	23032236662	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
30	SEP	23032236664	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
31	SEP	23032236665	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
32	SEP	23032236667	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
33	SEP	23032236672	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
34	SEP	23032236810	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
35	SEP	23032236813	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
36	SEP	23032236818	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
37	SEP	23032236819	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
38	SEP	23032236820	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
39	SEP	23032236822	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
40	SEP	23032236963	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
41	SEP	23032235220	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
42	SEP	23032235788	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
43	SEP	23032235789	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
44	SEP	23032235875	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
45	SEP	23032235933	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
46	SEP	23032237212	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
47	SEP	23032237213	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
48	SEP	23032237253	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
49	SEP	23032237257	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
50	SEP	23032237269	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
51	SEP	23032237270	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
52	OCT	23032237405	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
53	OCT	23032237595	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0

54	OCT	23032237862	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
55	OCT	23032234412	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
56	OCT	23032234990	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
57	OCT	23032235581	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
58	OCT	23032235582	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
59	OCT	23032235639	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
60	OCT	23032236613	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
61	OCT	23032236658	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
62	OCT	23032238090	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
63	OCT	23032238091	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
64	OCT	23032238215	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
65	OCT	23032238320	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
66	OCT	23032238321	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
67	OCT	23032238367	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
68	OCT	23032238418	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
69	OCT	23032238424	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
70	OCT	23032238446	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
71	OCT	23032238497	S	R		1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0
72	OCT	23032238522	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
73	OCT	23032236832	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
74	OCT	23032236833	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
75	OCT	23032236933	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
76	OCT	23032236934	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
77	OCT	23032236935	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
78	OCT	23032236936	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
79	OCT	23032236964	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
80	OCT	23032236965	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
81	OCT	23032236562	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
82	OCT	23032238841	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
83	OCT	23032238937	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0

84	OCT	23032239070	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
85	OCT	23032239114	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
86	OCT	23032239151	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
87	OCT	23032239152	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
88	OCT	23032239190	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
89	OCT	23032237450	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
90	OCT	23032239427	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
91	OCT	23032239474	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
92	OCT	23032239487	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
93	OCT	23032239545	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
94	OCT	23032239576	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
95	OCT	23032239614	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
96	OCT	23032239632	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
97	OCT	23032239633	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
98	OCT	23032239634	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
99	OCT	23032238447	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
100	OCT	23032238486	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
101	OCT	23032238759	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
102	OCT	23032239020	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
103	OCT	23032240168	S	R		1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0
104	NOV	23032240211	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
105	NOV	23032240225	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
106	NOV	23032240226	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
107	NOV	23032240380	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
108	NOV	23032240433	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
109	NOV	23032240450	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
110	NOV	23032240515	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
111	NOV	23032238482	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
112	NOV	23032240519	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
113	NOV	23032240521	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0

114	NOV	23032240523	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
115	NOV	23032240524	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
116	NOV	23032240660	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
117	NOV	23032240661	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
118	NOV	23032240662	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
119	NOV	23032240824	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
120	NOV	23032241054	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
121	NOV	23032241055	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
122	NOV	23032241115	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
123	NOV	23032241238	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
124	NOV	23032241239	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
125	NOV	23032241240	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
126	NOV	23032241384	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
127	NOV	23032241431	S	R		1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0
128	NOV	23032241537	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
129	NOV	23032241565	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
130	NOV	23032241574	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
131	NOV	23032241686	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
132	NOV	23032239139	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
133	NOV	23032241791	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
134	NOV	23032240263	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
135	NOV	23032240355	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
136	NOV	23032240634	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
137	NOV	23032241918	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
138	NOV	23032242094	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
139	NOV	23032242284	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
140	NOV	23032242285	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
141	NOV	23032241117	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
142	NOV	23032239641	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
143	DIC	23032242788	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0

144	DIC	23032242789	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
145	DIC	23032243062	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
146	DIC	23032243087	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
147	DIC	23032241785	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
148	DIC	23032243235	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
149	DIC	23032243387	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
150	DIC	23032243449	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
151	DIC	23032243450	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
152	DIC	23032241388	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
153	DIC	23032243687	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
154	DIC	23032241116	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
155	DIC	23032242294	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
156	DIC	23032242388	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
157	DIC	23032242648	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
158	DIC	23032243875	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
159	DIC	23032243876	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
160	DIC	23032243954	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
161	DIC	23032243968	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
162	DIC	23032243969	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
163	DIC	23032243970	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
164	DIC	23032243062	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
165	DIC	23032244749	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
166	DIC	23032244755	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
167	DIC	23032244782	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
168	DIC	23032241390	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
169	DIC	23032243304	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
170	DIC	23032245142	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
171	DIC	23032245173	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0

Donde:

1: Presencia 0: Ausencia; S: sensible R: Resistente; SEP: Septiembre; OCT: Octubre; NOV: Noviembre y DIC: Diciembre.

Tabla 34. Resultados “GenoType® MTBDRPlus”, Enero - Abril 2023

N°	MES	CODIGO DE BARRA	RIF	INH	KatG	InhA	InhA / KatG	CC	AC	TUB	rpoB rpoB	rpoB WT1	rpoB WT2	rpoB WT3	rpoB WT4	rpoB WT5	rpoB WT6	rpoB WT7	rpoB WT8	rpoB MUT1	rpoB MUT2A	rpoB MUT2B	rpoB MUT3	katG	katG WT	katG MUT1	katG MUT2	InhA	InhA WT1	InhA WT2	InhA MUT1	InhA MUT2	InhA MUT3A	InhA MUT3B
1	ENE	23032300064	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
2	ENE	23032300120	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
3	ENE	23032300132	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
4	ENE	23032300133	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
5	ENE	23032300273	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
6	ENE	23032242390	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
7	ENE	23032243572	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
8	ENE	23032244135	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
9	ENE	23032244728	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
10	ENE	23032245119	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
11	ENE	23032243939	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
12	ENE	23032300360	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
13	ENE	23032300406	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
14	ENE	23032244665	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
15	ENE	23032300429	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
16	ENE	23032300631	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
17	ENE	23032300635	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
18	ENE	23032300750	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
19	ENE	23032300760	R	R		1		1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0
20	ENE	23032244433	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
21	ENE	23032245118	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
22	ENE	23032252216	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
23	ENE	23032300062	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0

24	ENE	23032300853	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
25	ENE	23032300192	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
26	ENE	23032300937	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
27	ENE	23032300938	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
28	ENE	23032300981	R	R		1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0
29	ENE	23032300985	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
30	ENE	23032301110	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
31	ENE	23032301124	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
32	FEB	23032301218	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
33	FEB	23032301262	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
34	FEB	23032301265	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
35	FEB	23032301277	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
36	FEB	23032301278	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
37	FEB	23032301281	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
38	FEB	23032301326	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
39	FEB	23032301402	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
40	FEB	23032301452	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
41	FEB	23032301453	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
42	FEB	23032301455	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
43	FEB	23032301472	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
44	FEB	23032301483	S	R	1			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0
45	FEB	23032301488	S	R		1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0
46	FEB	23032301492	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
47	FEB	23032301493	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
48	FEB	23032301551	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
49	FEB	23032301562	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
50	FEB	23032301567	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
51	FEB	23032300769	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
52	FEB	23032301620	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
53	FEB	23032301663	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0

54	FEB	23032301785	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
55	FEB	23032301786	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
56	FEB	23032301791	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
57	FEB	23032301844	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
58	FEB	23032301858	R	R	1			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0
59	FEB	23032301875	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
60	FEB	23032301917	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
61	FEB	23032301999	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
62	FEB	23032302001	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
63	FEB	23032302114	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
64	FEB	23032302115	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
65	FEB	23032302116	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
66	FEB	23032302117	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
67	FEB	23032302119	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
68	FEB	23032302120	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
69	FEB	23032302147	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
70	FEB	23032302148	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
71	FEB	23032302166	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
72	FEB	23032302167	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
73	FEB	23032302168	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
74	FEB	23032302179	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
75	FEB	23032302196	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
76	FEB	23032302198	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
77	FEB	23032302325	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
78	FEB	23032302326	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
79	FEB	23032302380	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
80	FEB	23032302383	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
81	FEB	23032302540	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
82	MAR	23032302554	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
83	MAR	23032302618	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0

84	MAR	23032302773	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
85	MAR	23032302777	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
86	MAR	23032302947	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
87	MAR	23032303000	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
88	MAR	23032303050	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
89	MAR	23032303051	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
90	MAR	23032303080	R	R	1			1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0		
91	MAR	23032303091	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
92	MAR	23032303195	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
93	MAR	23032303405	S	R		1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	
94	MAR	23032303434	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
95	MAR	23032303502	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
96	MAR	23032303503	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
97	MAR	23032303504	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
98	MAR	23032303532	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
99	MAR	23032303559	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
100	MAR	23032303564	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
101	MAR	23032303612	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
102	MAR	23032303877	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
103	MAR	23032303886	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
104	MAR	23032303922	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
105	MAR	23032303923	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
106	MAR	23032304008	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
107	MAR	23032304024	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
108	MAR	23032304167	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
109	MAR	23032304152	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
110	MAR	23032304175	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
111	MAR	23032304289	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
112	MAR	23032304389	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		
113	MAR	23032304431	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0		

114	MAR	23032304471	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
115	MAR	23032304484	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
116	MAR	23032304486	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
117	MAR	23032304505	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
118	MAR	23032304536	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
119	MAR	23032304575	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
120	ABR	23032304708	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
121	ABR	23032304709	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
122	ABR	23032304994	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
123	ABR	23032304997	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
124	ABR	23032305007	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
125	ABR	23032305050	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
126	ABR	23032305052	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
127	ABR	23032305472	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
128	ABR	23032305492	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
129	ABR	23032305540	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
130	ABR	23032305610	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
131	ABR	23032305612	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
132	ABR	23032305613	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
133	ABR	23032305913	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
134	ABR	23032305971	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
135	ABR	23032306051	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
136	ABR	23032306175	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
137	ABR	23032304569	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
138	ABR	23032306594	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
139	ABR	23032306595	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
140	ABR	23032306722	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
141	ABR	23032306745	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
142	ABR	23032307272	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
143	ABR	23032307313	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	

144	ABR	23032307509	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
145	ABR	23032307570	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
146	ABR	23032306407	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
147	ABR	23032307296	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
148	ABR	23032306670	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
149	ABR	23032306924	R	R	1			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0
150	ABR	23032307197	S	R	1			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	
151	ABR	23032304963	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
152	ABR	23032306522	S	S				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0

Donde:

1: Presencia 0: Ausencia; S: sensible R: Resistente; ENE: Enero; FEB: Febrero; MAR: Marzo y ABR: Abril.