



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

ANÁLISIS DE LA DISCORDANCIA EN LA DETECCIÓN DE RESISTENCIA A
RIFAMPICINA ENTRE LAS METODOLOGÍAS GENOTÍPICA GENEXPERT
MTB/RIF ULTRA Y FENOTÍPICA BACTEC MGIT 960 SIRE ANTE POSIBLES
MUTACIONES SILENCIOSAS EN MUESTRAS PROCESADAS ENTRE 2020 -
2024

Línea de investigación:
Genética, bioquímica y biotecnología

Trabajo académico para otorgar el título de segunda especialidad
profesional

Autor

Giraldo Chávez, Jorge Amílcar

Asesor

Salas Asencios, Ramsés

ORCID: 0000 00002 40751736

Jurado

Sáez Flores, Gloria María

Rodrigo Rojas, María Elena

Aguilar Ramírez, Priscilia

Lima - Perú

2025

ANÁLISIS DE LA DISCORDANCIA EN LA DETECCIÓN DE RESISTENCIA A RIFAMPICINA ENTRE LAS METODOLOGÍAS GENOTÍPICA GENEXPERT MTB/RIF ULTRA Y FENOTÍPICA BACTEC MGIT 960 SIRE ANTE POSIBLES MUTACIONES SILENCIOSAS EN MUESTRAS PROCESADAS ENTRE 2020-2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

9%

INDICE DE SIMILITUD

8%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

hdl.handle.net

Fuente de Internet

1%

2

tesisred.net

Fuente de Internet

1%

3

Submitted to Universidad Peruana Cayetano Heredia

Trabajo del estudiante

<1%

4

www.resisttb.org

Fuente de Internet

<1%

5

colombiacheck.com

Fuente de Internet

<1%

6

digital.csic.es

Fuente de Internet

<1%

7

www.labome.org

Fuente de Internet

<1%

8

www.researchgate.net

Fuente de Internet

<1%

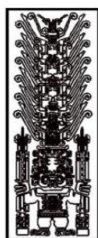
9

Submitted to Universidad Gerardo Barrios de El Salvador

Trabajo del estudiante

<1%

poznan.ksiegarnienaukowe.pl



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

**ANÁLISIS DE LA DISCORDANCIA EN LA DETECCIÓN DE RESISTENCIA A
RIFAMPICINA ENTRE LAS METODOLOGÍAS GENOTÍPICA GENEXPERT
MTB/RIF ULTRA Y FENOTÍPICA BACTEC MGIT 960 SIRE ANTE
POSIBLES MUTACIONES SILENCIOSAS EN MUESTRAS PROCESADAS
ENTRE 2020 - 2024**

Línea de Investigación:
Genética, bioquímica y biotecnología

Trabajo académico para otorgar el título de segunda especialidad profesional

Autor:

Giraldo Chávez, Jorge Amílcar

Asesor:

Salas Asencios, Ramsés

Jurado:

Sáez Flores, Gloria María
Rodrigo Rojas, María Elena
Aguilar Ramírez, Priscilia

Lima – Perú
2025

A la comprensión y apoyo constante de mi familia en la superación de mi persona que son el motivo e inspiración para la culminación de este trabajo.

ÍNDICE

RESUMEN	5
ABSTRACT	6
I. INTRODUCCIÓN.....	7
1.1 Descripción del problema.....	9
1.2 Antecedentes	10
1.3 Objetivo	13
1.4 Justificación.....	14
1.5 Impacto del estudio	17
II. METODOLOGIA	18
2.1 Selección de códigos	18
2.1.1 Criterio de aceptación.....	18
2.1.2 Criterio de rechazo.....	19
2.2 Procedimiento analítico.....	19
2.2.1 Reactivación de cepas	19
2.2.2 Método Bactec MGIT 960 SIRE.....	19
2.3 Procedimiento postanalíticos.....	20
III. RESULTADOS	21
IV. CONCLUSIONES.....	26
V. RECOMENDACIONES	28
VI. REFERENCIAS	29
VII. ANEXOS	35

Anexo A.....	35
Anexo B	36
Anexo C	37
Anexo D.....	38
Anexo E	39
Anexo F.....	40

RESUMEN

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa de gran relevancia en la salud pública mundial especialmente debido a la aparición de cepas resistentes a fármacos, como la rifampicina, fármaco clave en el tratamiento antituberculoso, que es un flagelo en aumento en el Perú. Actualmente, en nuestro país se emplean diversos métodos para el diagnóstico y detección de resistencia, como el sistema Genexpert, un método genotípico que se basa en la detección del ácido desoxirribonucleico del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y gran parte de las mutaciones que confieren resistencia a rifampicina, ampliamente usado a nivel nacional; Por otro lado, se encuentra el sistema BD BACTEC MGIT, método fenotípico a base de cultivo líquido en la que se puede aislar y realizar pruebas de susceptibilidad, utilizado por laboratorios de gran demanda e implementado en algunas regiones del Perú. El uso complementario de estas metodologías ha revelado ciertas discrepancias en la detección de resistencia entre estas dos metodologías, sobre todo con el auge de los métodos moleculares. Para los procedimientos, se utilizó las herramientas informáticas Microsoft Excel y su complemento “Real Statistics” para el índice Kappa de Cohen, así como el sistema GeneXpert para la confirmación de algunos resultados y el sistema BD BACTEC MGIT para las recuperaciones de aislados y pruebas de susceptibilidad. En el análisis, se encontró 138 resultados con resistencia a rifampicina mediante el sistema GeneXpert, 10 resultados fueron descartados por no tener aislados recuperables; de 128 resultados contrastados con los resultados del BACTEC se obtuvo que 15 eran discrepantes. De estos 13 aislados, 2 no fueron ubicados, fueron sometidos a la prueba de susceptibilidad a rifampicina con diluciones seriadas por el sistema BACTEC. Uno de los aislados muestra posibles mutaciones asociadas a bajas concentraciones inhibitorias mínimas (0.3 µg/ml). El estudio muestra que con los resultados analizados entre el 2020 y 2024 se encontró 13 discordancias, siendo el 92.3 % (12) con causa posible a mutaciones silenciosas.

Palabras claves: Tuberculosis, TB-RR, TB-MDR, mutaciones silenciosas.

ABSTRACT

Tuberculosis is an infectious disease of major relevance to global public health, particularly due to the emergence of drug-resistant strains, such as those resistant to rifampicin, a key drug in tuberculosis treatment and a growing public health concern in Peru. Currently, various diagnostic and resistance detection methods are employed in the country, including the GeneXpert system, a genotypic method based on the detection of the DNA of the *Mycobacterium tuberculosis* complex and most of the mutations that confer resistance to rifampicin, which is widely used nationwide. In contrast, the BD BACTEC MGIT system is a phenotypic method based on liquid culture, allowing for strain isolation and drug susceptibility testing, and is implemented in high-demand laboratories and in some regional health facilities in Peru. The complementary use of these methodologies has revealed certain discrepancies in resistance detection, particularly with the rise of molecular methods. For the procedures, Microsoft Excel and its “Real Statistics” add-in were used to calculate Cohen’s Kappa Index, while the GeneXpert system was used to confirm certain results and the BD BACTEC MGIT system was used for isolate recovery and susceptibility testing. The analysis identified 138 rifampicin-resistant results through the GeneXpert system; 10 of these were excluded due to non-recoverable isolates. Of the remaining 128 results compared to those of the BACTEC system, 15 were found to be discrepant. Among these 13 isolates, 2 could not be located, and the remaining were subjected to rifampicin susceptibility testing via serial dilutions in the BACTEC system. One isolate showed possible mutations associated with low minimum inhibitory concentrations (0.3 µg/ml). The study reveals that, among the results analyzed between 2020 and 2024, 13 discrepancies were found, with 92.3% (12 cases) possibly attributable to silent mutations.

Keywords: Tuberculosis, RR-TB, MDR-TB, silent mutations.

I. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa causada por *Mycobacterium tuberculosis*, la cual, por ser una bacteria estrictamente aerobia, afecta principalmente a los pulmones, pero puede afectar a otros órganos del cuerpo. Se transmite por el aire a través de aerosoles infecciosos producidos al toser o estornudar por una persona con la enfermedad activa. Esta bacteria viene afectando a los humanos desde tiempos inmemoriales, según estudios se cree que evolucionó juntamente con los primeros homínidos, demostrando resistencia y adaptabilidad a tal punto que, en la actualidad, combatir la TB es de prioridad para la salud pública mundial. Un ejemplo de su gran adaptabilidad es la generación de mecanismos de resistencia a los fármacos con los que se combate a esta bacteria. Uno de los fármacos de primera línea más importantes para el tratamiento de la TB es la rifampicina (R), la resistencia a esta droga se denomina “TB resistente a R” (TB-RR), pero si la resistencia se presenta de forma adicional a isoniacida (H), droga de primera línea que se administra conjuntamente con la R durante el tratamiento, se denomina TB multidrogo resistente (TB-MDR), siendo esto un escenario complicado porque el tratamiento pasaría a utilizar fármacos de segunda línea para lo cual la micobacteria también presenta resistencia.

Para el desarrollo de la TB en una población, existen determinantes sociales como la desnutrición, alcoholismo, tabaquismo, infección por VIH y diabetes; también existen poblaciones con mayor vulnerabilidad a la infección como niños, personas privadas de la libertad y poblaciones con hacinamiento. Un estudio calcula que un cuarto de la población mundial se encuentra infectada con el bacilo y, de estos, el 10% desarrollará la enfermedad a lo largo de su vida. La Organización Mundial de la Salud (OMS), en su reporte de 2024, estima que 10,8 millones de personas se enfermaron de TB el 2023, 2.3%

más en comparación al 2022. Así mismo, se estima que 400 mil personas desarrollaron TB-RR/TB-MDR el 2023, 1.3% más en relación al 2022. El mismo reporte estima que, en el Perú, 59 mil personas desarrollaron TB, 14% más en comparación al 2022; 4,900 desarrollaron TB-MDR, siendo un 15% más con relación al 2022; adicionalmente, menciona que en Perú solo se llega a una cobertura de tratamiento del 54%.

Un paso esencial para el tratamiento de la TB es el diagnóstico, en la actualidad se cuenta con diferentes metodologías que se usan a nivel mundial, metodologías microbiológicas o fenotípicas, como es el caso de cultivo líquido con indicador para detectar el crecimiento micobacteriano (sistema BD BACTEC™ MGIT™). Este sistema en el Perú lo tienen algunos establecimientos de salud de gran capacidad de muestras y presupuesto, es de riesgo moderado a alto, con un tiempo de respuesta que puede variar de días hasta un mes y medio, detectando bacilos viables con una sensibilidad aproximada de 90%. Con esta metodología, también se realiza la prueba de susceptibilidad a drogas de primera y segunda línea, por lo que en la actualidad es de suma importancia para el diagnóstico. Por otro lado, tenemos las metodologías moleculares o genotípicas, siendo una de las más conocidas el sistema GeneXpert. Esta metodología se encuentra implementada en varios establecimientos de salud a nivel nacional, de fácil manejo, riesgo bajo a moderado, y no es muy exigente en cuanto a infraestructura y bioseguridad, con un tiempo de respuesta de 24 horas, detectando el ADN del complejo de *Micobacterium tuberculosis* (CMT) con una sensibilidad de 90%. Adicionalmente es capaz de identificar mutaciones en la “región determinante para la resistencia a rifampicina” (RDRR). En nuestro país, estos dos sistemas se utilizan de manera complementaria y es en este punto en donde se presentan discordancias en los resultados emitidos; estas discordancias se pueden presentar por diferentes motivos siendo una de ellas las “mutaciones silenciosas”, estas mutaciones se presentan como un cambio en el

material genético, lo que resultaría en una detección de resistencia a R con una metodología genotípica; sin embargo, no causan un cambio proteico resultante lo que da como resultado sensible a R en una metodología fenotípica.

De acuerdo con las estimaciones de la OMS, el Perú tiene un 8% de TB-MDR y es el país con más TB-MDR de las Américas. Debido a este alto porcentaje, el estudio tuvo por objetivo comparar la capacidad del diagnóstico de la resistencia a rifampicina entre una metodología molecular (GeneXpert) y una microbiológica (BACTEC MGIT) para la detección de resistencia a R, con la finalidad de hallar qué tan frecuente es este tipo de discordancias en el diagnóstico de resistencia a R que podría ser a causa de mutaciones silenciosas.

1.1 Descripción del problema

En los últimos años, en respuesta a la creciente demanda, se han estado desarrollando e implementando diferentes metodologías para el diagnóstico y detección de resistencia a R, con un tiempo de respuesta cada vez más corto y a su vez más sensibles. No obstante, estas metodologías no dejan de tener ciertas limitaciones que se pone en evidencia especialmente cuando una muestra es procesada por diferentes métodos, como en el caso de una metodología fenotípica. La detección de la resistencia a R juega un papel importante en el diagnóstico, por lo que un resultado discordante entre metodologías puede generar complicaciones en el tratamiento de la enfermedad. Actualmente en el Perú, estas dos metodologías se utilizan de manera complementaria en la red nacional de salud.

Las mutaciones silenciosas representan una de las principales causas de discrepancias entre los resultados obtenidos por diferentes metodologías, especialmente entre los enfoques genotípicos y fenotípicos. Esto se debe a que, aunque estas mutaciones implican un cambio en la secuencia genética, no se traducen en una alteración funcional en la expresión proteica. Como consecuencia, puede diagnosticarse genotípicamente una resistencia a R, que no se manifiesta en el análisis fenotípico; esto considerando que, dado que los métodos moleculares ofrecen resultados en un tiempo significativamente menor (aproximadamente 24 horas) en comparación con los métodos microbiológicos y esto en un contexto de aumento de la incidencia de TB-MDR en el Perú, un paciente diagnosticado con TB-RR con factores de riesgo de TB-MDR pasaría a un esquema de tratamiento de segunda línea (OMS 2024) lo que se traduciría en secuelas e impacto socioeconómico en el paciente, así como un mayor gasto de recursos para el estado. Profundizar en el conocimiento sobre este tipo de mutaciones podría contribuir significativamente a mejorar la precisión y confiabilidad de los diagnósticos (Anexo A).

1.2 Antecedentes

Con la aparición de las metodologías genotípicas, varios autores han realizado estudios sobre discordancias.

- Estudio de María Alonso, 2011

En su estudio sobre “Isolation of *Mycobacterium tuberculosis* Strains with a Silent Mutation in *rpoB* Leading to Potential Misassignment of Resistance Category”, María Alonso y colaboradores encontraron en el Hospital Universitario Central de Asturias (Oviedo, España) que, de 1,450 cepas en

total, 12 cepas tenían mutaciones silenciosas que interfieren en la hibridación de las sondas de tres pruebas moleculares (GeneXpert con el ensayo Xpert MTB/RIF, Genotype con el ensayo MTBDRplus e INNO-LiPA), alertando que esta mutación genera un patrón que puede interpretarse como un indicador de resistencia.

- Estudio de Deborah A. Williamson, 2012

En la investigación realizada por Deborah A. Williamson y colaboradores, titulado “An evaluation of the Xpert MTB/RIF assay and detection of false-positive rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*”, aborda los resultados falsos resistentes a R asignado por el GeneXpert con el ensayo Xpert MTB/RIF, donde destaca que, de 169 cepas procedentes de inmigrantes del Hospital de la ciudad de Auckland, Nueva Zelanda, 4 presentaban resultado falso resistente, uno de ellos era causado por una mutación silenciosa.

- Estudio de Armand Van Deun, 2013

Armand Van Deun y colaboradores en su investigación titulada “Rifampin Drug Resistance Tests for Tuberculosis: Challenging the Gold Standard” trata sobre el valor pronóstico de algunas mutaciones del gen *rpoB* con resistencia fenotípica confusa, utilizando muestras de Bangladesh y el Congo. En este estudio se encontraron mutaciones silenciosas y concluyeron que la frecuencia de este tipo de mutaciones era insignificante (0.5%) y que no afectaban el diagnóstico; sin embargo, también mencionaron que esta frecuencia podría aumentar con los casos nuevos de la enfermedad.

- Estudio de Oksana Ocheretina, 2014

En 2014, Oksana Ocheretina y colaboradores, en su estudio titulado “Correlation between Genotypic and Phenotypic Testing for Resistance to Rifampin in *Mycobacterium tuberculosis* Clinical Isolates in Haiti: Investigation of Cases with Discrepant Susceptibility Results” aborda la discrepancia en la detección de resistencia a R entre dos metodologías moleculares (GeneXpert con el ensayo Xpert MTB/RIF y Genotype con el ensayo MTBDRplus) y BACTEC MGIT 960 en Haití. Los autores encontraron que 1.3% de la discordancia era causada por mutaciones silenciosas.

- Estudio de Guiqing He, 2024

En el análisis realizado por Guiqing He y colaboradores evaluaron las posibles causas de los resultados discordantes entre GeneXpert con el ensayo MTB/RIF y Bactec MGIT 960 en el estudio titulado “Discordant results between Xpert MTB/RIF assay and Bactec MGIT 960 culture system regarding the detection of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Wenzhou, China”, en sus resultados encontraron que de las 28 cepas que presentaban discordancias, dos eran a causa de mutaciones silenciosas. Los autores concluyeron que estas mutaciones pueden producir un resultado errado de resistencia a R.

Los diferentes estudios revisados muestran que las discrepancias en cuanto a la detección de resistencia a R entre las metodologías moleculares y microbiológicas son causadas por mutaciones que generan una resistencia de bajo nivel, concentraciones

inhibitorias mínimas (MIC) bajas, y por mutaciones silenciosas. Los resultados de los diferentes estudios muestran que los porcentajes de las mutaciones silenciosas son considerablemente menores, aunque esto puede variar en diferentes entornos.

1.3 Objetivo

Evaluar la discordancia en la detección de resistencia a R entre las metodologías genotípica GeneXpert MTB/RIF Ultra y fenotípica BACTEC MGIT 960 SIRE, considerando la posible causa por mutaciones silenciosas en muestras clínicas procesadas entre 2020 y 2024 en el laboratorio Humberto Guerra Allison de la Unidad de Investigación en Tuberculosis e Infecciones Respiratorias del Instituto Alexander Von Humboldt de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

1.3.1 *Objetivos específicos*

- Contrastar los resultados de una metodología genotípica (GeneXpert MTB/RIF Ultra) y fenotípica (BACTEC MGIT 960 SIRE).
- Determinar la frecuencia de discordancia entre una metodología genotípica (GeneXpert MTB/RIF Ultra) y fenotípica (BACTEC MGIT 960 SIRE).
- Identificar la posible causa que genera las discordancias entre una metodología genotípica (GeneXpert MTB/RIF Ultra) y fenotípica (BACTEC MGIT 960 SIRE).

1.4 Justificación

La TB es una de las enfermedades más prevalentes debido a su resiliencia y evolución a través del tiempo, siendo estas características que la convierten al día de hoy en un problema de salud pública; sin embargo, una amenaza aun mayor se manifiesta con la TB-MDR causada por bacilos resistentes a los fármacos isoniacida y rifampicina lo que trae como consecuencia un tratamiento más extenso, con secuelas físicas y mentales, además de un impacto socioeconómico en el paciente y una alta probabilidad de abandono del tratamiento. En el Perú, desde la década de los 90, la TB-MDR no ha cesado de incrementar, posicionando al Perú como el país con más carga de TB-MDR en las Américas, teniendo en cuenta que el gobierno subvenciona el tratamiento integral a las personas con esta enfermedad; una detección de resistencia a R erróneo podría derivar en un tratamiento de segunda línea que aumenta el costo en hasta veinte veces en comparación con un tratamiento de primera línea (OMS, 2016). Un diagnóstico oportuno y preciso es fundamental para el control de esta enfermedad, y esto conlleva a un tratamiento adecuado evitando la proliferación de los bacilos y la aparición de cepas resistentes.

Frente a esta gran necesidad de un diagnóstico temprano y una detección rápida de resistencias, los diagnósticos moleculares se han diversificado y evolucionando, desarrollando sistemas multiplataforma para la identificación de diferentes patologías con un mismo equipo; presentando alta sensibilidad, facilidad en el manejo de la metodología y rapidez en el diagnóstico; adicionalmente algunas metodologías han integrado la detección de la secuencia en la RDRR del gen *rpoB* y mutaciones específicas de la misma.

En noviembre de 2010, la OMS recomienda el uso del sistema GeneXpert con el ensayo Xpert MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA). Esta tecnología automatizada

integra desde la preparación de la muestra hasta la interpretación de resultado, reduciendo casi todo el proceso a un único cartucho; utilizando un ultrasonificador para la extracción del ADN, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real semianidada para la amplificación de la secuencia de 81 pares de bases de la RDRR, con la hibridación de cinco sondas (A, B, C, D y E) detecta la secuencia “silvestre” del CMT y en caso de un cambio en la secuencia de nucleótidos, la sonda correspondiente no logra hibridarse, lo que sería interpretado como una mutación y por tanto resistencia a R. Ya en el 2017, en un reporte técnico, la OMS recomienda la implementación del ensayo MTB/RIF Ultra para el diagnóstico inicial que viene a ser una versión mejorada del MTB/RIF con una mayor sensibilidad, rapidez en el diagnóstico, así como un mejor discernimiento en cuanto a mutaciones silenciosas debido a la incorporación del análisis basado en la temperatura de fusión de la hibridación de cuatro sondas, detectando cambios en la temperatura de fusión entre una secuencia salvaje y una mutada (Anexo B y C).

Por otro lado, las pruebas fenotípicas o microbiológicas permiten la observación directa del crecimiento bacteriano en un medio de cultivo a la cual podemos agregar fármacos y evaluar su resistencia, los cultivos sólidos a base de huevos, como Löwenstein Jensen y Ogawa Kudoh, han sido empleados desde inicios de la década de 1930 para el aislamiento de micobacterias alrededor del mundo. Estos medios continúan siendo ampliamente utilizados en el Perú debido a su bajo costo y sensibilidad relativamente alta (alrededor del 80 %).

A partir de la década de 1990, comenzaron a introducirse medios de cultivo líquidos en diferentes regiones del mundo, y para fines de los años noventa se consolida con el sistema BACTEC MGIT 960. Este sistema automatizado se basa en un caldo Middlebrook 7H9 modificado, contenido en tubos con un sensor de oxígeno de rutenio pentahidratado incrustado en silicio en el fondo del tubo. Dicho sensor emite

fluorescencia al reducirse el oxígeno como resultado del metabolismo aeróbico de las bacterias. Los cultivos se incuban en un equipo que monitorea continuamente la emisión de fluorescencia de cada tubo durante un período de hasta seis semanas, permitiendo el aislamiento de micobacterias con una sensibilidad superior a la de los cultivos sólidos (mayor al 90 %). Por esta razón, este sistema es considerado método de referencia en diversos estudios. Asimismo, el mismo sistema permite la prueba de susceptibilidad a fármacos de primera y segunda línea. En el Perú, el sistema BACTEC MGIT 960 se encuentra implementado en establecimientos especializados y de alta carga, debido a los requerimientos técnicos, infraestructura y bioseguridad que demanda su funcionamiento (Anexo D, E y F).

En el Perú, se encuentran implementadas ambas metodologías que en la red de salud se complementan debido a sus diferentes cualidades; sin embargo, al ser metodologías muy diferentes y utilizar por un lado a la bacteria viable y por el otro lado el ADN de la bacteria, esto conlleva a resultados discordantes que podrían generar confusión y entorpecer el tratamiento de la enfermedad, tal como lo podría originar una detección errónea de resistencia a R. Es en este contexto la importancia de este análisis; entender el mecanismo que causan diferencias en el resultado de una misma muestra para obtener un resultado preciso y de esta manera un tratamiento oportuno al paciente, disminuyendo la transmisión y en consecuencia controlar esta enfermedad, así como un correcto diagnóstico previene secuelas para el paciente y un gasto innecesario para el paciente y estado.

1.5 Impacto del estudio

- **Mejorar el diagnóstico:** El análisis de la discordancia entre las pruebas podría permitir establecer políticas o directrices más efectivas para el diagnóstico y monitoreo de la resistencia a R sobre todo en entornos de alta prevalencia de resistencia.
- **Optimización de Recursos:** Un diagnóstico de la resistencia a R incorrecto trae como consecuencia, retraso y/o extensión del tratamiento, secuelas y abandonos al tratamiento; lo que incrementa el costo de la atención por parte de la red de salud y paciente. Esto podría reducir los costos asociados con el uso de pruebas innecesarias o incorrectas y mejorar la asignación de recursos limitados.
- **Control de la TB:** Un diagnóstico temprano y preciso conlleva a un tratamiento oportuno lo que ayudaría a prevenir la propagación de la enfermedad, así como la aparición de nuevas mutaciones.
- **Comprensión sobre la enfermedad:** Entender el mecanismo de detección de las diferentes metodologías disponibles en el sistema de salud, así como la comprensión del mecanismo de resistencia de las micobacterias ayudaría a generar nuevos protocolos y ajustes en los dispositivos de diagnósticos o el desarrollo de nuevas herramientas de diagnóstico.

II. METODOLOGIA

Se realizó un estudio descriptivo y transversal con el objetivo de evaluar la discordancia en la detección de resistencia a rifampicina entre una metodología molecular como el sistema GeneXpert y otra microbiológica como el sistema BACTEC MGIT a causa de posibles mutaciones silenciosas.

2.1 Selección de códigos

Para este procedimiento se utilizaron las bases de datos del laboratorio Humberto Guerra Allison de la unidad de investigación en tuberculosis e Infecciones respiratorias del Instituto Alexander Von Humboldt de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Se inició con la depuración y selección de la base de datos del equipo GeneXpert ubicando los códigos asociados a resultados con resistencia a R emitidos por el ensayo “Xpert MTB/RIF ultra” procesadas desde enero de 2020 a diciembre de 2024. Posteriormente, estos datos fueron contrastados con la base de datos “Alfa 21” que alberga la información de todas las pruebas realizadas a las muestras por el laboratorio “Humberto Guerra Allison”, con la finalidad de encontrar los resultados discordantes con el método BACTEC MGIT 960 SIRE. También se consideraron aquellos resultados que no tengan un resultado concluyente para su posterior confirmación.

2.1.1 Criterio de aceptación

Todos aquellos aislados y/o criopreservados que presente un resultado de resistencia detectada a R con el sistema GeneXpert utilizando el ensayo Xpert MTB/RIF ultra y con resultado sensible a R con el método BACTEC MGIT 960 SIRE.

2.1.2 Criterio de rechazo

Todo aquel aislado y/o criopreservado que no presenten resistencia detectada a R con el sistema GeneXpert utilizando el ensayo Xpert MTB/RIF ultra, todo aquel aislado y/o criopreservado que presente resultado resistente a rifampicina con el sistema GeneXpert utilizando el ensayo Xpert MTB/RIF ultra y con resultado resistente a rifampicina con el método BACTEC MGIT 960 SIRE, aislados y/o criopreservados no viables y/o contaminados.

2.2 Procedimiento analítico

Todos los procesos se realizaron utilizando la infraestructura y equipamiento del laboratorio Humberto Guerra Allison. Así mismo se siguieron los protocolos de bioseguridad y procedimientos operativos estandarizados (POE) de la institución para cada proceso, además de las recomendaciones de los fabricantes de los sistemas de diagnósticos utilizados.

2.2.1 Reactivación de cepas

Para la recuperación de aislado y/o criopreservados seleccionados se empleó el sistema BACTEC MGIT con los tubos BD BBL MGIT del lote 4082394 y BD BACTEC MGIT Supplement Kit del lote 4207193.

2.2.2 Método Bactec MGIT 960 SIRE

A los cultivos que presentaron resistencia a rifampicina detectada mediante el sistema GeneXpert, utilizando el ensayo Xpert MTB/RIF Ultra, y que no contaban con un resultado confirmado de resistencia a rifampicina mediante el método BACTEC, se

les realizó la prueba de susceptibilidad a rifampicina empleando dicho método con los tubos BD BBL MGIT del lote 4082394 y BD BACTEC MGIT 960 SIRE KIT del lote 4150973; que a su vez fueron empleados para la prueba de susceptibilidad con diluciones seriadas de R.

2.2.3 *Método GeneXpert utilizando el ensayo Xpert MTB/RIF ultra*

Se realizó a los cultivos que cuenten con resultado de detección de resistencia a rifampicina discordante con dicho método. Se empleó un equipo GeneXpert modelo R2 GX IV, cartuchos de GXMTB/RIF-ULTRA-50 del lote 1001384514.

2.3 Procedimiento postanalíticos

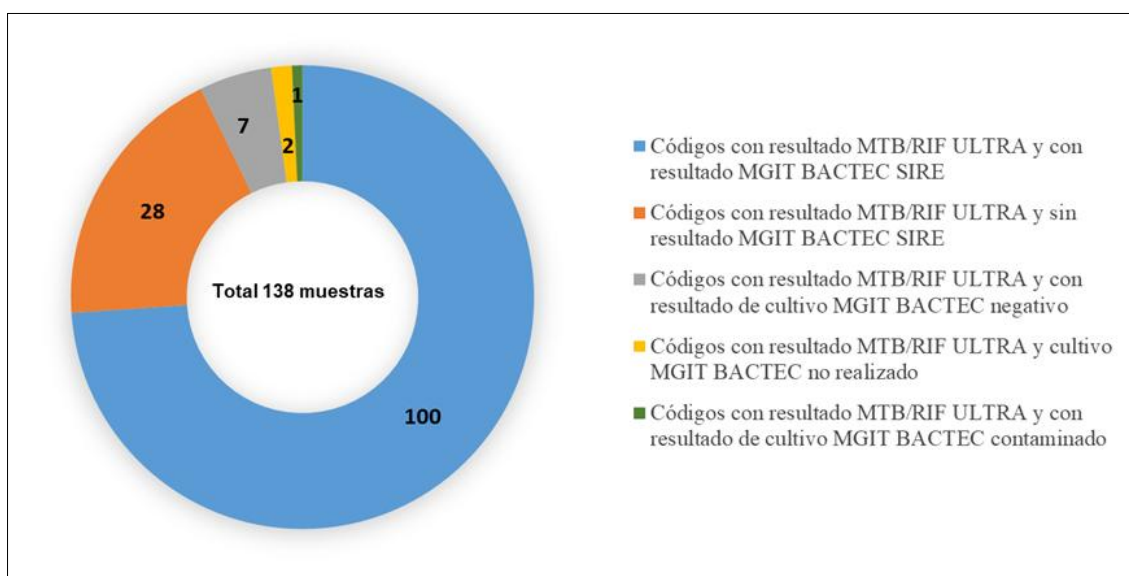
Para los procedimientos postanalíticos se utilizó las herramientas informáticas Microsoft Excel para el análisis bayesiano y su complemento “Real Statistics” para el índice Kappa de Cohen

III. RESULTADOS

El primer análisis consistió en identificar aquellos resultados con resistencia a R, para lo cual se utilizó la base de datos del equipo Genexpert, encontrando 138 códigos con esta característica. Estos códigos fueron contrastados con la base de datos Alfa 21, observándose que 100 (72.5 %) contaban con resultados obtenidos mediante el método BACTEC MGIT 960 SIRE, 28 (20.3 %) no presentaban resultados por algún método fenotípico, 7 (5.1%) mostraron resultado de cultivo BACTEC MGIT sin crecimiento, 2 (1.4%) que no se le realizó ningún tipo de cultivo para el aislamiento de micobacterias, y 1 (0.7%) con un resultado de cultivo BACTEC MGIT contaminado (Figura 1).

Figura 1

Análisis de bases de datos.

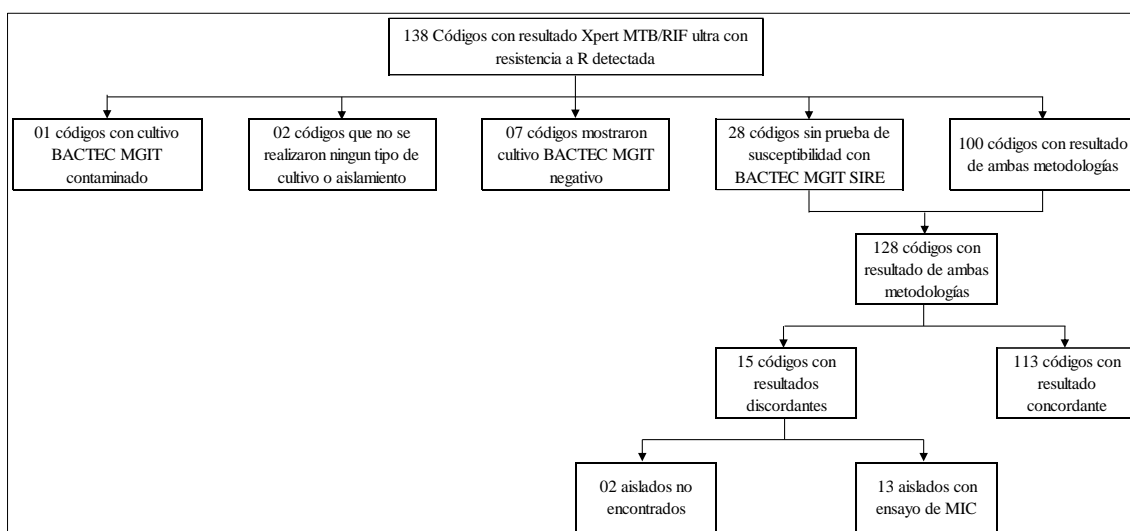


Nota: Verificando las bases de datos se obtuvo 138 códigos con resultado asociados a resistencia a R con el Xpert MTB/RIF ultra. 28 códigos no presentaban resultado con el método BACTEC MGIT SIRE pero al contar con la disponibilidad de la cepa, estas se podrían realizar la susceptibilidad fenotípica. 10 códigos fueron descartados del estudio

por presentar cultivo sin crecimiento, no contar con cepa disponible ya que no se realizó cultivo alguno, y por tener cultivo con resultado contaminado.

Figura 2

Flujograma resumen de la selección de códigos y proceso de aislados.

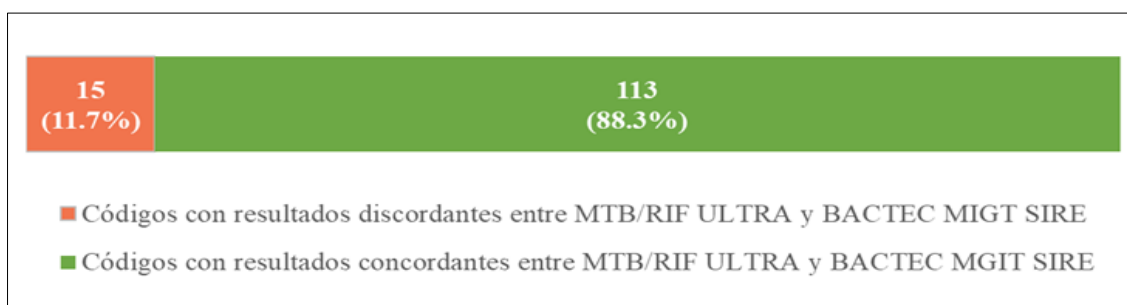


Se procedió con la recuperación de las 28 cepas en cultivo BACTEC MGIT para completar las pruebas de susceptibilidad faltantes mediante el método BACTEC MGIT 960 SIRE, lo cual se permitió comparar ambos resultados. Con la adición de estos nuevos resultados fenotípicos, se obtuvo que de los 128 códigos, 15 (11.7 %) presentaron discordancia entre resultado de ambas pruebas, la cual se caracterizaba por mostrar resistencia detectada a R con el ensayo Xpert MTB/RIF ultra y susceptible a R por el método BACTEC MGIT 960 SIRE dando como resultado un índice de Kappa Cohen de 0 por falta de variabilidad en una de las categorías evaluadas por tanto se procedió a evaluar el desempeño diagnóstico mediante un análisis bayesiano (Tabla 1, Figuras 2 y 3).

Tabla 1*Análisis Bayesiano*

		XPERT MTB/RIF ultra						
		Sensible	Resistente	TOTAL	95% I.C.			
BACTEC MGIT SIRE	Sensible	0	15	15			Límite inferior	Límite superior
	Resistente	0	113	113			81.11%	93.07%
	TOTAL	0	128	128			95.90%	99.92%
					Eficiencia	88.28%	0.61%	25.35%
					Sensibilidad	100.00%		
					Especificidad	0.00%		

Nota: a) En la tabla se puede evidenciar la falta de datos contables que no permite un cálculo adecuado de correlación. b) Cálculo del análisis bayesiano donde la ausencia de datos en la categoría sensible arroja una especificidad nula.

Figura 3*Análisis de discordancia*

Nota: Comparando los resultados de ambas metodologías se encontró que el 11 % de las muestras mostraron discordancias y debido a la naturaleza de la discordancia podría deberse a mutaciones silenciosas.

Para descartar que la discordancia sea a causa de mutaciones que confieren MIC bajas. Se reactivó 13 de los 15 aislados, dos aislados no fueron localizados, y una cepa control H37Rv las cuales se realizaron pruebas de susceptibilidad con diluciones seriadas de R desde 0.5 ug/ml a 0.1 ug/ml mediante el método BACTEC MGIT 960 SIRE. Se pudo identificar un aislado (MS007) que presenta resistencia hasta 0.3 ug/ml, lo que nos indica que se puede atribuir a mutaciones que generan resistencia a MIC bajas (Tabla 2).

Tabla 2

Análisis de resistencia a bajas concentraciones

CODIGO	Concentración de R en ug/ml				
	0.5*	0.4	0.3	0.2	0.1
MS001	S	S	S	S	S
MS002	S	S	S	S	S
MS003	S	S	S	S	S
MS004	S	S	S	S	R
MS005	S	S	S	S	S
MS006	S	S	S	S	S
MS007**	S	S	R	R	R
MS008	S	S	S	S	R
MS009	S	S	S	S	R
MS010	S	S	S	S	R
MS011	S	S	S	S	R
MS012	S	S	S	S	R
MS013	S	S	S	S	S
H37Rv	S	S	S	S	S

Nota: *La OMS establece el valor de corte epidemiológico (ECOFF) en 0.5 ug/ml, las concentraciones por debajo de esta no se toman aun en cuenta debido a los pocos estudios realizados.

**Algunos estudios y la OMS indican que existen mutaciones que confieren resistencia desde 0.125 ug/ml siendo estos raros y no se cuenta con la suficiente información para ser considerados como una resistencia para un diagnóstico.

Cabe resaltar que, en el primer análisis, de los 138 códigos seleccionados, 136 correspondieron a muestras de esputo, una a biopsia de ganglio linfático (la cual no presentó discordancia en los resultados entre metodologías) y una a biopsia de colon (en

la que no se realizó ningún tipo de aislamiento). Además, dos códigos presentaron resultados discrepantes en el ensayo Xpert; ante esta situación, se recuperó los aislados correspondientes y se realizó una nueva prueba mediante el ensayo Xpert MTB/RIF Ultra, lo cual confirmó que en ambos casos no se detectó resistencia a rifampicina.

IV. CONCLUSIONES

Detrás de un resultado de diagnóstico de resistencia a R existen diversas metodologías, tanto genotípicas como el caso del GeneXpert y fenotípicas como el BACTEC. Estas metodologías presentan discordancias en sus resultados debido a diferentes factores; siendo uno de ellos materia de nuestro estudio, que son aquellos resultados que emiten resistencia a R por un método genotípico y sensible por un método fenotípico; los estudios revisados previamente mencionan para estos casos dos tipos importantes de mutación. La que genera una resistencia de bajo nivel, es decir con un MIC bajo y las silenciosas, estos estudios también mencionan que la causa de mutaciones silenciosas son en menor proporción oscilando de 0.5 % a 1.3%; sin embargo, nuestro estudio muestra un 11.7% lo cual podría estar relacionado a que los estudios revisados utilizaron muestras de Asia, Europa y África, salvo uno que presento resultados de Haití (Centroamérica), es posible que en el Perú se encuentre un mayor porcentaje de mutaciones silenciosas siendo así un tema de mayor investigación.

Por otro lado, los estudios previamente revisados mencionan como causa principal a un MIC bajo, para lo cual se realizó concentraciones seriadas de R, observando que solo una muestra tiene las características de contener mutaciones que generan resistencia de bajo nivel (0.3 ug/ml) dado que existen mutaciones que generaran resistencias a 0.25 ug/ml pero aún no se cuenta con suficientes estudios para ser considerado como nuevo ECOFF. Nuestro estudio también muestra que otros seis aislados mostraron resistencia a una concentración de 0.1 ug/ml; cabe resaltar, que una resistencia a este nivel es común en cepas susceptibles y no son consideradas por falta de información (OMS 2021).

En consecuencia, nuestro estudio pone en evidencia de discrepancias entre resultados provenientes de metodologías fenotípicas y genotípicas que podrían estar

derivado de la no expresión proteica de un tipo de mutaciones que apesar de estar presentes en la RDRR no genera ningún cambio en la conformación de la subunidad beta (β) de la ARN polimerasa bacteriana. Un secuenciamiento del gen *rpoB* confirmaría la presencia de estas mutaciones.

Debido a la ausencia de datos en una de las categorías no fue posible calcular la correlación con índice Kappa de Cohen; en consecuencia, un valor de Kappa cero es un cálculo inadecuado y poco informativo. Se consideró el análisis de rendimiento de diagnóstico mediante un análisis bayesiano donde se pone en evidencia que la eficiencia del Xpert MTB/RIF ultra frente al BACTEC MGIT SIRE de 88.28% y una sensibilidad de 0% debido a la falta de resultados sensibles a R.

V. RECOMENDACIONES

Seguir generando conocimiento acerca de las diferentes mutaciones que circulan en los diferentes entornos de nuestro país, así como su mecanismo de acción de las mismas.

Es fundamental conocer la epidemiología de las diferentes cepas de micobacterias para prevenir algún diagnóstico erróneo debido a la diversidad de mutaciones que presenta estas bacterias.

Nuestro estudio muestra la posibilidad de que las mutaciones silenciosas estén implicadas en la discordancia de ciertos resultados, profundizar y confirmar la presencia y proporción de estas mutaciones es importante para el conocimiento clínico.

Generar una base de datos de las diferentes mutaciones silenciosas que circulan en nuestro país para evidenciar la importancia epidemiológica e impulsar mejoras en el diagnóstico de la tuberculosis.

VI. REFERENCIAS

- Alonso, M., Palacios, JJ., Herranz, M., Penedo, A., Menéndez, A., Bouza, E. y García de Viedma, D. (2011). Isolation of *Mycobacterium tuberculosis* Strains with a Silent Mutation in rpoB Leading to Potential Misassignment of Resistance Category. *Journal of Clinical Microbiology*, 149, 00659-11. <https://doi.org/10.1128/jcm>.
- Blakemore, R., Story, E., Helb, D., Kop, J., Banada, P., Owens, R., Chakravorty, S., Jones M. y Alland, D. (2010). Evaluation of the analytical performance of the xpert MTB/RIF assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(7), 2495–2501. <https://doi.org/10.1128/JCM.00128-10>.
- Boehme, CC., Nabeta, P., Hillemann, D., Nicol, MP., Shenai, S., Krapp, F., Allen, J., Tahirli, R., Blakemore, R., Rustomjee, R., Milovic, A., Jones, M., O'Brien, SM., Persing, DH., Ruesch-Gerdes, S., Gotuzzo, E., Rodrigues, C., Alland, D. y Perkins, MD. (2010). Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *The New England Journal of medicine*, 363(11), 1005-1015. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0907847>.
- Cepheid. (2016). *Manual del Operador del GeneXpert Dx System*. USA.
- Cepheid. (2015). *Xpert MTB/RIF Assay*. <https://www.cepheid.com/es/tests/Critical-Infectious-Diseases/Xpert-MTB-RIF>.
- Congreso de la República del Perú. (2014). Ley N° 30287 – Ley de Prevención y Control de la Tuberculosis en el Perú. *El Peruano*. <https://busquedas.elperuano.pe/dispositivo/NL/1176989-1>.

- Jones-Lopez, EC. y Ellner, JJ. (2011). Tuberculosis and Atypical Mycobacterial Infections. *Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens and Practice*, 228-247. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-3935-5.00035-5>
- Kim, H. y Ryoo, S. (2011). Exploitation of Culture Medium for *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Bacteriology and Virology*, 41(4), 237-244. <http://doi.org/10.4167/jbv.2011.41.4.237>.
- He, G., Zheng, Q., Wu, J., Wu, L., Geng, Z., Jiang, G., Huang, H., Jiang, X. y Yu, X. (2024). Discordant results between Xpert MTB/RIF assay and Bactec MGIT 960 culture system regarding the detection of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Wenzhou, China. *Microbiology Spectrum*, 4, 12(6), 0385923. doi: 10.1128/spectrum.03859-23.
- Global Laboratory Initiative. (2017). *GLI Model Diagnostic Algorithms*. <http://stoptb.org/wg/gli/gat.asp>.
- Global Laboratory Initiative. (2014). *Mycobacteriology Laboratory Manual*. http://stoptb.org/wg/gli/assets/documents/gli_mycobacteriology_lab_manual_web.pdf
- Lönnroth, K., Jaramillo, E., Williams, BG., Dye, C. y Raviglione, M. (2009). Drivers of tuberculosis epidemics: The role of risk factors and social determinants. *Social Science Medicine*, 68(12), 2240-2246. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2009.03.041>.
- MacLean, E., Kohli, M., Weber, SF., Suresh, A., Schumacher, SG., Denking, CM. y Pai, M. (2020). Advances in Molecular Diagnosis of Tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 22, 58(10), 01582-19. doi: 10.1128/JCM.01582-19.

- Ministerio de Salud, dirección general de epidemiología. (2016). *Análisis de la Situación Epidemiológica de la Tuberculosis en el Perú 2015*. <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/3446.pdf>.
- Ministerio de Salud. (2013). Resolución Ministerial N° 715-2013/MINSA – Norma Técnica de Salud para la Atención Integral de las Personas Afectadas por Tuberculosis. <https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/198713-715-2013-minsa>.
- Moure, R., Martín, R. y Alcaide, F. (2011). Silent mutation in *rpoB* detected from clinical samples with rifampin-susceptible *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(10), 3722. doi: 10.1128/JCM.05314-11.
- Ng, KCS., Van Deun, A., Meehan, CJ., Torrea, G., Driesen, M., Gabriëls, S., Rigouts, L., André, E. y de Jong, BC. (2018). Xpert Ultra Can Unambiguously Identify Specific Rifampin Resistance-Confering Mutations. *Journal of Clinical Microbiology*, 27, 56(9), 00686-18. doi: 10.1128/JCM.00686-18.
- Ocheretina, O., Escuyer, VE., Mabou, MM., Royal-Mardi, G., Collins, S., Vilbrun, SC., Pape, JW. y Fitzgerald, DW. (2014). Correlation between genotypic and phenotypic testing for resistance to rifampin in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates in Haiti: investigation of cases with discrepant susceptibility results. *PLoS One*, 5, 9(3), 90569. doi: 10.1371/journal.pone.0090569.
- Organización Mundial de la Salud. (2013). *Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de Tuberculosis*. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/92661>.
- Powers, M., Sanchez, TR., Welty, TK., Cole, SA., Oelsner, EC., Yeh, F., Turner, J., O'Leary, M., Brown, RH., O'Donnell, M., Lederer, D. y Navas-Acien, A. (2020).

Lung Function and Respiratory Symptoms after Tuberculosis in an American Indian Population. The Strong Heart Study. *Annals of the American Thoracic Society*, 17(1), 38-48. doi:10.1513/AnnalsATS.201904-281OC.

Rivera, O., Benites, S., Mendigure, J. y Bonilla, CA. (2019). Abandono del tratamiento en tuberculosis multirresistente: factores asociados en una región con alta carga de la enfermedad en Perú. *Revista Biomédica*, 39(2), 44-57. <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/4564>.

Rosenberg, J. y Rhatigan, J. (2011). Multidrug-Resistant Tuberculosis Treatment in Peru. Harvard Business Publishing. https://www.globalhealthdelivery.org/sites/projects.iq.harvard.edu/files/ghd/files/ghd-003_mdr-tb_treatment_in_peru_qlltkdt.pdf.

Tortoli, E., Cichero, P., Piersimoni, C., Simonetti, MT., Gesu, G. y Nista, D. (1999). Use of BACTEC MGIT 960 for recovery of mycobacteria from clinical specimens: multicenter study. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(11), 3578-82. doi: 10.1128/JCM.37.11.3578-3582.1999.

Van Deun, A., Aung, KJ., Bola, V., Lebeke, R., Hossain, MA., de Rijk, WB., Rigouts, L., Gumusboga, A., Torrea, G. y de Jong, BC. (2013). Rifampin drug resistance tests for tuberculosis: challenging the gold standard. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(8), 2633-40. doi: 10.1128/JCM.00553-13.

Vega, P., Sweetland, A., Acha, J., Castillo, H., Guerra, D., Smith Fawzi, MC. y Shin S. (2004). Psychiatric issues in the management of patients with multidrug-resistant tuberculosis. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 8(6), 749-759. PMID: 15182146.

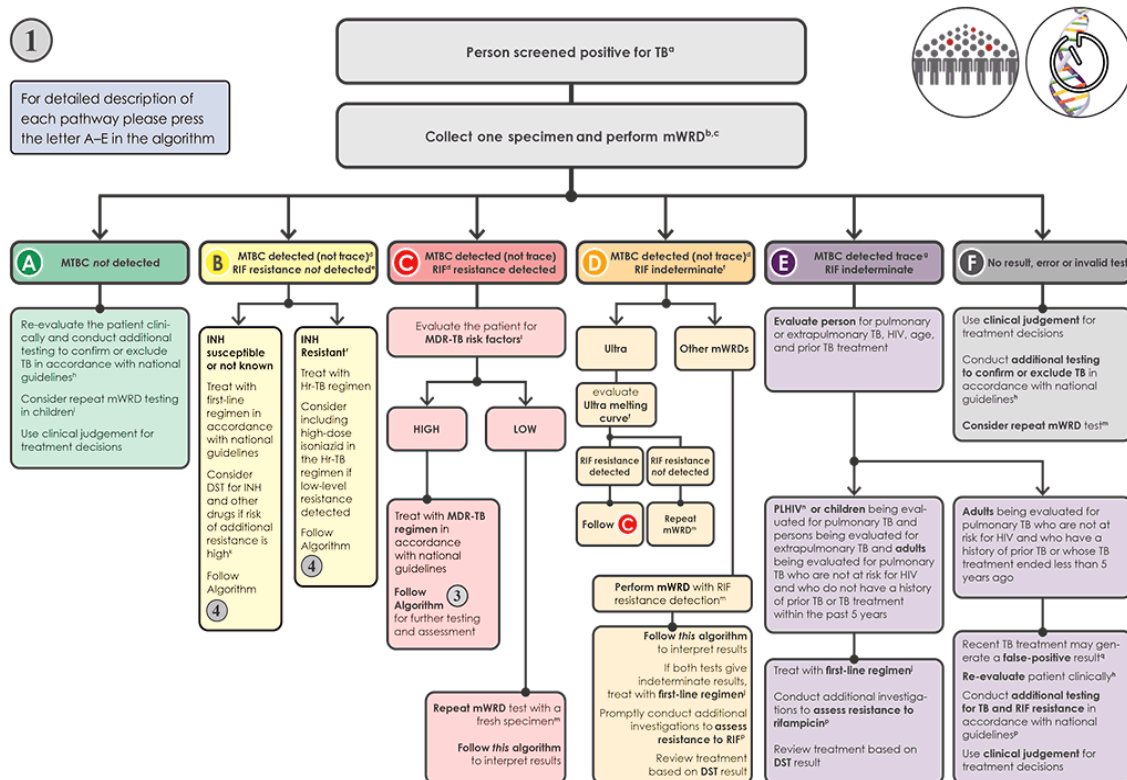
- Whyte, T., Hanahoe, B., Collins, T., Corbett-Feeney, G. y Cormican M. (2000). Evaluation of the BACTEC MGIT 960 and MB BAC/T systems for routine detection of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(8), 3131-2. doi: 10.1128/JCM.38.8.3131-3132.2000.
- Williamson, DA., Basu, I., Bower, J., Freeman, JT., Henderson, G. y Roberts, SA. (2012). An evaluation of the Xpert MTB/RIF assay and detection of false-positive rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 74(2), 207-209. doi: <https://10.1016/j.diagmicrobio.2012.06.013>.
- World health Organization. (2017). WHO Meeting Report of a Technical Expert Consultation: Non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HTM-TB-2017.04>.
- World health Organization. (2016). *Global Tuberculosis Report 2016*. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565394>.
- World health Organization. (2021). Technical Report on critical concentrations for drug susceptibility testing of isoniazid and the rifamycins (rifampicin, rifabutin and rifapentine). <https://www.who.int/publications/i/item/9789240017283>.
- World health Organization. (2024). *Global Tuberculosis Report 2024*. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240101531>.
- World health Organization. (2024). WHO consolidated guidelines on tuberculosis: module 3: diagnosis: rapid diagnostics for tuberculosis detection, 3rd ed. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240089488>.

Yu, HJ., Kim, TY., Kim, G., Shim, HJ., Kang, OK., Kim, S., Kim, CK., Jhun, BW., Lee, NY., Huh, HJ. y Lee, HJ. (2023). Performance Evaluation of the BACTEC MGIT 960 System for Rifampin Drug-Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis* Using the Current WHO Critical Concentration. *Journal of Clinical Microbiology*, 26, 61(1), 0108622. doi: 10.1128/jcm.01086-22.

VII. ANEXOS

Anexo A

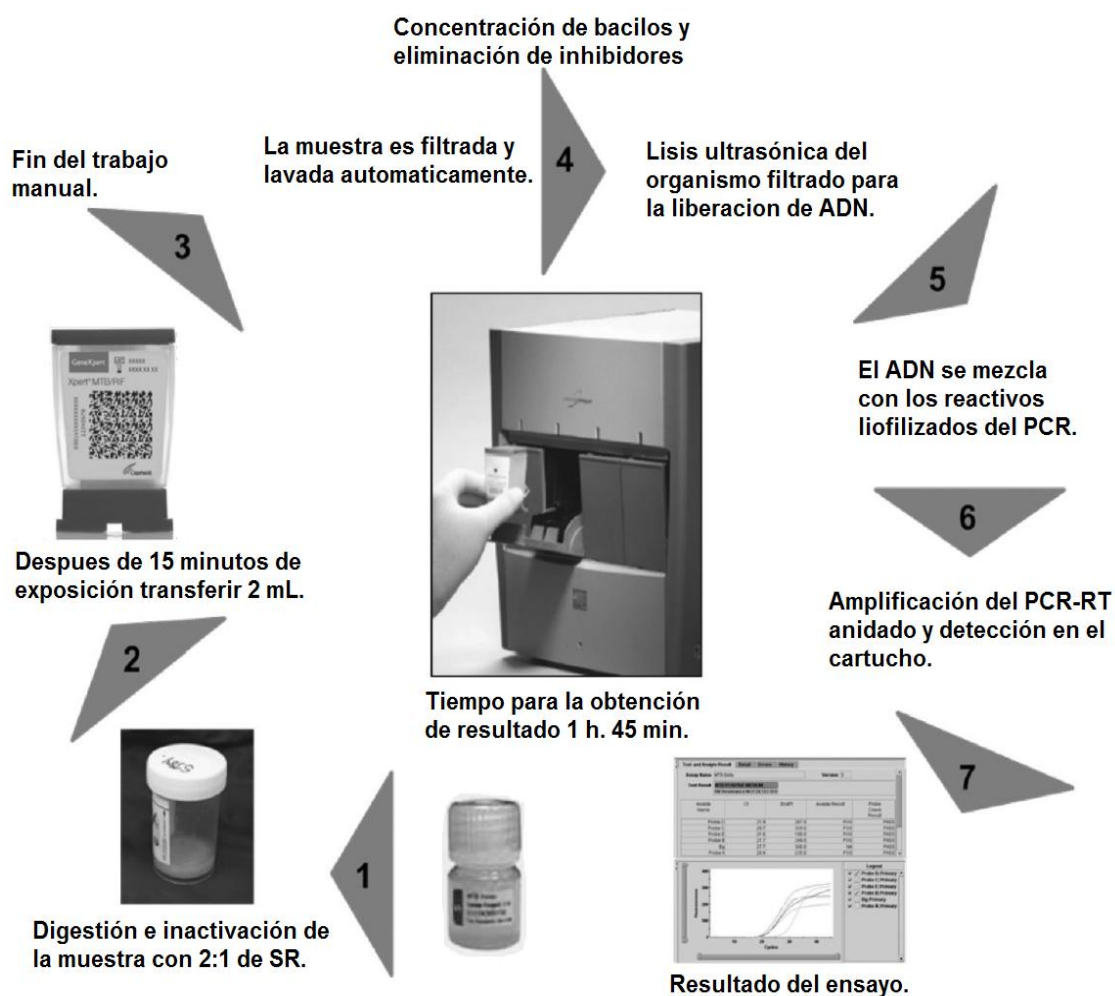
Algoritmo 1: Pruebas de diagnóstico rápido recomendadas por la OMS (mWRD) para TB.



Nota. Imagen de <https://tbksp.who.int/en/node/756>

Anexo B

Flujograma del proceso del ensayo Xpert MTB/RIF y Xpert MTB/RIF ultra



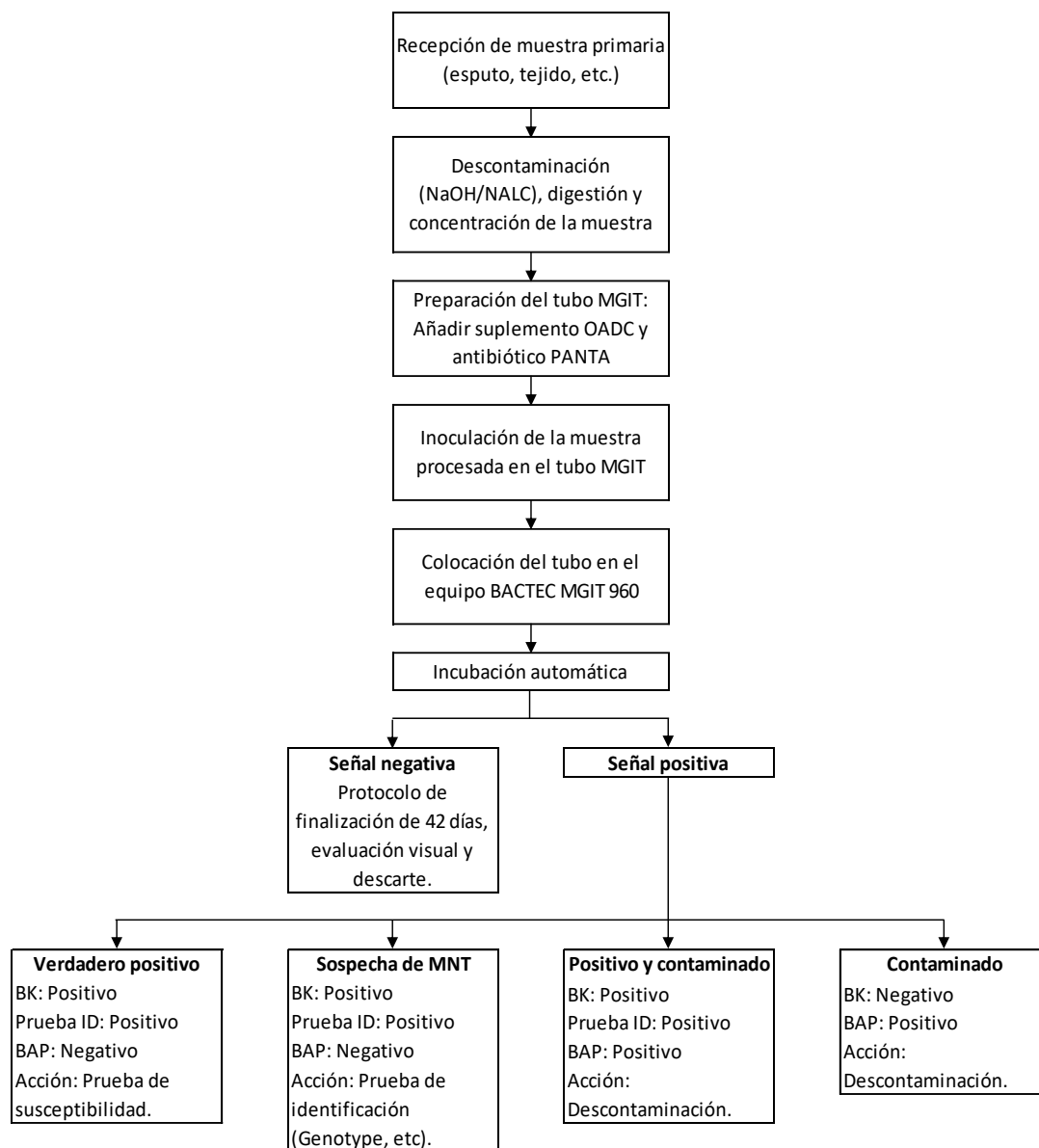
Nota. Traducido de “Xpert MTB/RIF Assay for the Diagnosis of Pulmonary and Extrapulmonary TB in Adults and Children”, WHO. 2013.

Nota. Fragmento RRDR del gen *rpoB* del CMT con la ubicación de las 4 sondas de detección del ensayo Xpert MTB/RIF ultra que cubren dicha secuencia. Imagen de Ng, KCS. y colaboradores. (2018). Xpert Ultra Can Unambiguously Identify Specific Rifampin Resistance-Conferring Mutations. J Clin Microbiol.

Anexo D

Flujograma del proceso del aislamiento de *M. tuberculosis* con el sistema BACTEC

MGIT

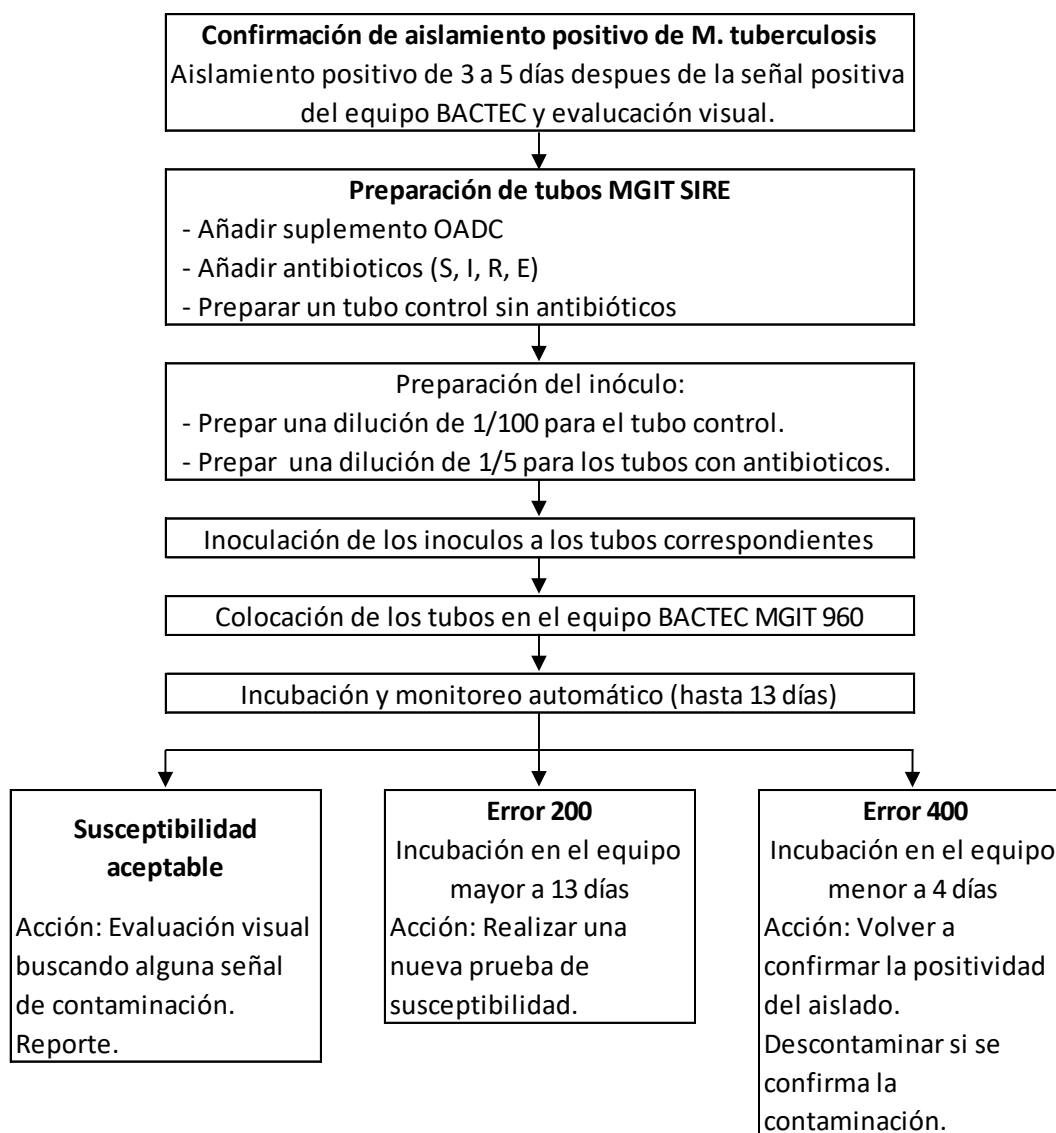


Nota: OADC: Albúmina bovina, dextrosa, catalasa, ácido oleico, estearato de polixietilenado; PANTA: Polimixina B, Anfotericina B, Ácido nalidíxico, trimetoprima y azlocilina; BK: Baciloscopia; Prueba ID: Prueba de identificación rápida; BAP: Cultivo agar sangre.

Anexo E

Flujograma del proceso de susceptibilidad a drogas para *M. tuberculosis* con el sistema

BACTEC MGIT SIRE



Nota: OADC: Albúmina bovina, dextrosa, catalasa, ácido oleico, estearato de polioxietilenado; S: Estreptomicina; I: Isoniacida; R: Rifampicina; E: Etambutol.

Anexo F

Equipo BD BACTEC MGIT 960



Nota: *Cortesía del laboratorio "Humberto Guerra Allison".*