



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
“Dr. Ismael Cosío Villegas”**

**PREVALENCIA DE GENES DE RESISTENCIA POR EL METODO DE
GENOTIPIFICACION (HAIN) A FARMACOS ANTITUBERCULOSIS DE
1ERA LINEA EN EL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES
RESPIRATORIAS EN EL PERIODO 2010-2014 Y SU ASOCIACION CON
LA SEVERIDAD EN LA PRESENTACION RADIOLOGICA**

**PROYECTO DE TESIS DE ESPECIALIDAD PARA OBTENER EL GRADO
DE
NEUMOLOGÍA**

**PRESENTA:
DRA. BLANCA ANGELICA NÚÑEZ LUNA**

**ASESOR DE TESIS:
MJS. Dr. JOSE ARTURO MARTÍNEZ OROZCO
Jefe de Servicio del Laboratorio de Microbiología Clínica**

COLABORADORES:
DR. Miguel Ángel Salazar Lezama. Jefe de servicio Pabellón 2 Tuberculosis INER.
Dr. Fortunato Juárez Hernández. Médico Adscrito al servicio de Imagenología INER.
Dr. Miguel Manuel Moreno Miceli. Médico Residente de Infectología Hospital la Raza
IMSS.
QFB Luis Armando Narvaez Díaz, Responsable del área de Micobacteriología del servicio
de Microbiología Clínica, INER.
QBP. Christian Daniel Mireles Dávalos. Adscrito al servicio de Microbiología Clínica,
INER.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

MEXICO, DISTRITO FEDERAL, NOVIEMBRE 2015

PREVALENCIA DE GENES DE RESISTENCIA POR EL METODO DE GENOTIPIFICACION (HAIN) A FARMACOS ANTITUBERCULOSIS DE 1ERA LINEA EN EL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS EN EL PERIODO 2010-2014 Y SU ASOCIACION CON LA SEVERIDAD EN LA PRESENTACION RADIOLOGICA

FIRMAS DE ACEPTACIÓN

Dr. Juan Carlos Vázquez García
Director de Enseñanza. Instituto Nacional
de Enfermedades Respiratorias “Ismael
Cosío Villegas”.

Dra. Margarita Fernández Vega
Subdirectora de Enseñanza. Instituto Nacional
de Enfermedades Respiratorias “Ismael
Cosío Villegas”

Dra. María del Carmen Cano Salas.
Jefa del Departamento de Formación de postgrado.
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío
Villegas”.

Dr. Jose Arturo Martínez Orozco
Jefe del Servicio de Microbiología clínica. Instituto Nacional de
Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser mi fuerza, y el camino, que sin el nada es posible.

Debo agradecer de manera especial y sincera al Dr. José Arturo Martínez Orozco por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección. Su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiarme ha sido un aporte invaluable en el desarrollo de esta tesis.

Mi más sincero agradecimiento al Dr. Fortunato Juárez por su importante aporte y participación activa en el desarrollo de esta tesis debo destacar, por encima de todo, su disponibilidad.

Y, por supuesto, el agradecimiento más profundo y sentido para mi familia. Sin su apoyo, colaboración e inspiración habría sido imposible llevar a cabo esta dura empresa. A mis padres, José Luis y Cande, por su ejemplo de lucha y honestidad; a mis hermanas Rosa y Paty que siempre han estado apoyándome y compartiendo a pesar de la distancia.

A Jorge Adrián que ha sido un gran apoyo en este proceso y brindarme siempre su comprensión y amor.

También agradezco Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias gracias por ser mi casa de estudio y todos los Médicos con lo que he tenido el placer de compartir mi formación como Neumóloga, que sin sus enseñanzas esto no habría sido posible.

Gracias a personal del Laboratorio de Microbiología Clínica del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, quienes me ayudaron de manera desinteresada en la realización de esta investigación.

ÍNDICE

1.0 ÍNDICE.....	3
2.0 ABREVIATURAS	4
3.0 ANTECEDENTES	5
4.0 JUSTIFICACIÓN	9
5.0 HIPOTESIS.....	11
6.0 OBJETIVOS	12
7.0 MATERIAL Y MÉTODOS	13
8.0 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	15
9.0 PROCEDIMIENTO.....	18
10.0 CONSIDERACIONES ÉTICAS	20
11.0 RESULTADOS.....	21
12.0 DISCUSIÓN	80
13.0 CONCLUSIÓN	83
23.0 BIBLIOGRAFÍA	87

2. ABREVIATURAS

ATS. Sociedad Americana de Tórax.

ERS. Sociedad Europea Respiratoria

OMS. Organización Mundial de la Salud.

TB. Tuberculosis

TB MDR. Tuberculosis Multidrogo resistente.

TB XDR. Tuberculosis extremadamente resistente

SRT. Estreptomicina

INH Isoniazida

RIF. Rifampicina

EMB. Etambutol

PCR. Reacción en cadena de la polimerasa

ARN. Acido ribonucleico

ADN. Acido dexosiribonucleico

SIRE. Estreptomicina, Isoniacida, Rifampicina, Etambutol

NAHD. Nicotinamida adenina dinucleotido deshidrogenasa

Mtb. Micobacterium tuberculosis.

TACAR. Tomografía Computarizada alta resolución

Rx. Radiografía

PaCO₂. Presion parcial de dióxido de carbono.

PO₂. Presión parcial de oxígeno.

SaO₂. Saturación arterial de oxígeno.

µg. Microgramos

3. ANTECEDENTES

La Tuberculosis (TB) continúa siendo el principal problema de salud pública a nivel global. En el 2012 se estimó que 8.6 millones de personas desarrollaron TB y 1.3 millones murieron por esta enfermedad (incluyendo 320 000 muertes en los pacientes con VIH) el número de muertes por Tb es inaceptable dado que la gran mayoría son evitables. El reciente panorama mundial de la tuberculosis continúa en progreso, pero no es lo suficientemente rápido. ¹

La Tuberculosis (TB) es una enfermedad infectocontagiosa causada por diversas especies del género *Mycobacterium*, todas ellas pertenecientes al Complejo *Mycobacterium tuberculosis*. La especie más importante y representativa es *Mycobacterium tuberculosis*. La TB es posiblemente la enfermedad infecciosa más prevalente en el mundo, afecta a un tercio de la población mundial, alrededor de 8 millones de personas se infectan anualmente y 1,8 millones fallecen. ¹

En México la TB continúa siendo endémica, tres mil personas mueren por esta enfermedad cada año. Desde finales del año de 1980 la tasa de incidencia de muertes por TB ha disminuido. Desde entonces la tasa de incidencia nacional ha permanecido estable con ligeras variaciones. La tasa de TB por cada 100,000 personas disminuyó de 16.5 casos en 1984 a 14.3 casos en 1990. De 1991 a 2002 la tasa incrementó de 14.4 a 15.1 casos. Finalmente en 2006 la tasa disminuyó a 12.8 casos. ²

En México se han reportado 15,932 nuevos casos de TB, la incidencia es de 13.7/100,000 habitantes. En el 2012 se reportó 4,627 casos de TB equivalente al 32% del número estimado de casos (SSM 2011).

La OMS definió el término para la clasificación de resistencia dependiendo de los resultados en el tratamiento. Entonces el término “resistencia en casos nuevos” se refiere a pacientes con TB pulmonar quienes nunca han recibido tratamiento anti Tuberculosis o han recibido menos de 1 mes de tratamiento. ¹

La propagación de multidrogo resistencia TB (TB MDR y la TB Resistencia extendida multidrogo (XDR TB) amenaza los esfuerzos mundiales para controlar la TB (WHO 2010). En México para el 2013 se registraron 21,381 registros de casos de TB en todas sus formas, 85.6% de los 23,000 casos nuevos estimados por la OMS para México. De estos: Casos nuevos 19,738 92.3%, Reingresos 499 2.3%, Recaída 1,026 4.8%, Fracaso 92 0.4%, Ignorado 26 0.1%. Número de

casos notificados con diagnóstico TB-DR del 2000 al 2013 en México fueron 835, de estos MDR 595, XDR 11, Polirresistente 125 y monorresistente 104.¹

Las limitaciones diagnósticas de la microscopia y la cantidad de tiempo requerido para la realización de los cultivos tradicionales ha impulsado el desarrollo de métodos de detección rápidos y sensibles en muestras clínicas. Las técnicas basadas en la amplificación de ácidos nucleicos se han convertido en una importante herramienta de diagnóstico, que tienen como principal ventaja proveer resultados mucho más rápidos, incluso en un día.³ La prueba GenoType® MTDRplus (Life Science Nehren, Alemania) ha sido recomendada por la OMS. Para la detección rápida de MTB y su resistencia a medicamentos. Esta prueba utiliza la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de una región del gen codificante de la subunidad 23 de ARN ribosomal para la detección del complejo M. tuberculosis, además de determinar la presencia de genes asociados a la resistencia a RIF e INH.⁴ Aunque el cultivo aún es considerado la prueba estándar de laboratorio para el diagnóstico de tuberculosis, las técnicas basadas en la amplificación de ácidos nucleicos se han convertido en una importante herramienta de diagnóstico, que tienen como principal ventaja proveer resultados incluso en un día.⁵ La prueba Genotype MTBDR plus está recomendada por la OMS. Como una herramienta diagnóstica rápida y sensible para detectar el complejo MTB y su resistencia a drogas antituberculosis de primera línea. Se han realizado varios estudios evaluando el rendimiento de esta prueba para la detección de resistencia a Rifampicina e Isoniacida en muestras con baciloscopia positiva. Sin embargo, de acuerdo a la literatura revisada, hasta el momento no se han realizado estudios evaluando la sensibilidad de la prueba en la detección de MTB.⁴

Actualmente los métodos con los que se cuentan para la detección de Mycobacterias multidrogo resistentes incluyen los métodos de fenotipificación con BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE Kit y los métodos de genotipificación mediante HAIN el cual consta de 2 Kits para la genotipificación de Mycobacterium: GenoType MTBDR plus y GenoType MT ddrS/R. El método BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE Kit es usado como un procedimiento cualitativo rápido como prueba de susceptibilidad de Mycobacterium tuberculosis, mediante el cultivo de la muestra con MT se prueban las concentraciones de fármacos de primera línea (Estreptomina (SRT) Isoniazida (INH) Rifampicina (RIF) y Etambutol (EMB) con altas concentraciones de los fármacos, la prueba se realiza de 4-13 días. La prueba se basa en el crecimiento de Mycobacterium tuberculosis en un tubo que contiene el fármaco comparado con un tubo libre de fármaco (control de crecimiento) el BACTEC MGIT 960 monitorea continuamente los tubos para valorar incremento de la Fluorescencia. El análisis de la Fluorescencia en el tubo

que contiene el fármaco es comparado con la Fluorescencia del crecimiento en el tubo control y es usado como un instrumento para determinar las concentraciones de los resultados de susceptibilidad.

Mientras que GenoType MTBDRplus es un método rápido y fiable de identificación de TB MDR con cepas del complejo *Mycobacterium tuberculosis* con Resistencia a Rifampicina y/o Isoniazida de muestras clínicas pulmonares o muestras de cultivos. La identificación de resistencia a Rifampicina realizado por la detección de mutaciones en el gen *rpoB* (codifica por la β -subunidad de la RNA polimerasa). Para probar la resistencia alta de Isoniazida es por medio del gen *KatG* (codifica para la catalasa de peroxidasa) y la resistencia baja a Isoniazida es mediante la región promotora del gen *inhA* (codifica para NADH enol ACP reductasa). Los beneficios obtenidos por este método que se realiza a partir de una muestra pulmonar o mediante un cultivo previo, los resultados se obtiene en 5 horas comparado con 1-2 meses con métodos convencionales lo que significa en una reducción de la trasmisión y diseminación de TB-MDR mediante un tratamiento oportuno y eficaz. El segundo kit es el GenoType MTBDRsl – para la detección de TB-XDR. Identifica *M.tuberculosis* resistente a fluoroquinolonas, aminoglicosidos y etambutol. La identificación de resistencia a fluoroquinolonas es posible por medio de la detección de mutaciones en el gen *gyrA* (codifica a la DNA girasa). Para la detección de resistencia a aminoglicosidos se examina el gen: 16S rRNA (*rrs*) y para la detección de resistencia a Etambutol es examinado el gen *embB* (el cual junto con los genes *embA* y *embC* codifican para la arabinosyl transferasa).⁴

La imagen radiológica que con más frecuencia se observa en la tuberculosis pulmonar del adulto es la que presenta imágenes bilaterales en las regiones apicales, y se debe a lesiones de tipo fibronodular y cavitadas. Hay muy poca información acerca de las diferencias radiológicas que podrían existir en los diferentes tipos de fármaco-resistencia.⁶ En un estudio realizado en el INER en el 2001 se evaluaron las imágenes radiológicas de pacientes con fármaco-resistencia para determinar si existe diferencia desde el punto de vista radiológico de acuerdo a los patrones de resistencia. En relación a las imágenes radiológicas, observaron que el tipo de lesión más frecuente en los pacientes con MDR fue la múltilobar, hecho que estaba presente en 20 de estos pacientes (58.8%). En los pacientes del grupo sin fármaco-resistencia el sitio afectado con mayor frecuencia se localizó en la región apical, alcanzando un 56.3%, las lesiones cavitadas se observaron con una frecuencia similar en ambos grupos.⁷

El fracaso para el pronto reconocimiento y tratamiento de la tuberculosis afecta a los pacientes incrementando la mortalidad, la resistencia secundaria (incluyendo

la tuberculosis multidrogo resistente extendida), y provocando su transmisión. La complejidad del cultivo de la micobacteria y actualmente las tecnologías de amplificación de ADN para la detección de tuberculosis y tuberculosis multidrogoresistente y la necesidad de infraestructuras que restrinjan el uso de estas pruebas a laboratorios de referencia.³

Mundialmente la inefectiva detección de tuberculosis y el incremento de la multidrogo resistencia y la XDR ha llamado a una expansión dramática de cultivos y pruebas de susceptibilidad a fármacos en países en los cuales la enfermedad es endémica. Desafortunadamente la infraestructura y el personal capacitado que se requiere para realizar las pruebas no están disponibles exceptuando un número limitado de centros de referencia, y los resultados no están disponibles hasta al menos 4 meses, lo cual reduce dramáticamente la utilidad clínica.⁸

4. JUSTIFICACIÓN

Con la nueva era en biología molecular para el diagnóstico exacto y en poco tiempo de genes involucrados en diversos mecanismos de resistencia a fármacos antituberculosos se ha podido ayudar a pacientes para iniciar terapias más dirigidas en vez de empíricas en la prescripción de fármacos antituberculosos de primera línea. Así mismo esto ha ayudado a identificar en un corto tiempo a pacientes (nuevo a tratamiento antituberculoso o en fases iniciales de tratamiento) que son potenciales de transmitir micobacterias multidrogo resistentes.⁹

El método usado para la identificación de resistencias en estos pacientes se llama SIRE el cual es un kit de análisis (BD MGIT™ AST SIRE) que se utiliza para determinar la susceptibilidad de *M. tuberculosis* en cultivos líquidos para estreptomina, Isoniazida, Rifampicina y Etambutol (SIRE) en un análisis cualitativo de 4 a 13 días. El kit contiene 2 viales de cada antimicrobiano liofilizado (S, I, R y E) que debe reconstituirse con 4 mL de agua estéril/desionizada. Sin embargo este es un estudio de fenotipo el cual no nos puede marcar los genes involucrados en la resistencia a fármacos de primera línea por parte del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y su gran desventaja es el tiempo que requiere para identificar la resistencia en diversos grupos de pacientes.⁵

Sin embargo hoy en día las técnicas novedosas de biología molecular pueden identificar estos genes directo de una muestra de esputo del paciente como lo es el sistema Xpert TB/RIF capaz de diagnosticar en 1.45hr al complejo *Mycobacterium tuberculosis* y si este presenta resistencia a Rifampicina según los genes más frecuentemente involucrados en dicho escenario, con una alta sensibilidad y especificidad que asemejan al estándar de oro. Así mismo existen métodos los cuales a partir de cultivos sólidos (LJ 30-60 días) o líquidos (MGIT 10-20 días) pueden identificarse un número mayor y más preciso de los genes involucrados en resistencias a fármacos antituberculosos de primera línea.⁸

El Genotype MTBDRplus®/ MTBDRsl (Hain Lifescience, GmbH, Germany), es uno de estos novedosos kits, que se usa en cepas aisladas de medios sólidos o líquidos (método indirecto), como también de muestras de esputo con frotis positivo (método directo).⁴ Esta es una prueba de PCR que detecta *M. tuberculosis* y mutaciones específicas del gen *rpoB*, gen *katG*, gen *inhA* y gen *emb* con el cual se valorara la resistencia genotípica a Isoniazida, Rifampicina y Etambutol. En comparación con el cultivo y prueba de susceptibilidad en MGIT-960 o método de proporciones en medio sólido (agar Middlebrook 7H11),¹⁰ esta prueba ha demostrado una sensibilidad y especificidad de 98,4% y 99,1% para detectar resistencia a Rifampicina; y en el caso de resistencia a Isoniazida, 91,4%

y 99,7% de sensibilidad y especificidad respectivamente. Con ello podemos asegurar que la identificación de resistencia genotípica es prometedora para diagnósticos mas tempranos a diferencia del estudio fenotípico que puede llevar hasta 3 veces más tiempo para la obtención de resultados.¹¹

Con este estudio se pretende evaluar que genes en la población mexicana son los que le confieren resistencia a *Mycobacterium tuberculosis* y si estos se comparan con lo hasta ahora publicado en otras partes del mundo.

Hasta ahora no se ha realizado en México ningún estudio en el que se demuestre cuales genes de resistencia identificados por genotipificación son los más frecuentes en la población conocida con resistencia a fármacos según fenotipificación, ya que solo se realizaron estudios de fenotipificación de forma rutinaria a nivel nacional por diferentes métodos, de los cuales hoy en día el más usado es el SIRE para conocer resistencia de las cepas de MT aisladas con fármaco resistencia. Así mismo es importante conocer cuál es el gen que con mayor frecuencia se asocia a resistencia a fármacos en población mexicana.

Ya que el INER es un centro de referencia a nivel nacional de enfermedades respiratorias y es un importante centro de control y tratamiento en los pacientes con TB MDR y XDR el conocimiento de los genes implicados así como una respuesta rápida a la susceptibilidad de los fármacos es importante en estos pacientes; tanto para el tratamiento de la enfermedad así como la prevención de diseminación de cepas con fármaco resistencia, por ello llevar a la práctica este estudio pone al Instituto como un pionero a Nivel Nacional del conocimiento de los genes implicados en la fármaco resistencia.

Así mismo no hay hasta el momento un estudio en el que se valore la asociación entre la presentación clínico y radiológica con la resistencia genotípica de la cepas de MTb multifarmaco resistente por lo que en este estudio se valorara también si existe asociación con las manifestaciones radiográficas y mutaciones en los genes implicados en la resistencia farmacológica, ya que hasta el momento se desconoce esta asociación y si es que entre más genes están implicados en la resistencia modifica la severidad del patrón radiográfico o un gen por si solo tiene la capacidad de dar cuadros muy severos clínico-radiológicos.

5. HIPÓTESIS

Los genes encontrados en resistencia a fármacos de primera línea como son inhA/Kat G, rpoB y emb B, continúan siendo los más frecuentemente involucrados en la resistencia documentada por fenotipificación en el método SIRE.

A mayor número de genes involucrados en resistencia a fármacos de primera línea aumenta la severidad en la presentación radiológica.

6. OBJETIVOS

6.1. PRIMARIO

Conocer la prevalencia de genes para resistencia a Isoniacida, Rifampicina y Etambutol por el método de genotipificación HAIN de las muestras obtenidas en el laboratorio de Microbiología Clínica del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias en el periodo comprendido entre 2010 y 2014.

6.2 SECUNDARIO.

Determinar si existe relación entre los genes que confieren resistencia a fármacos antituberculosos de primera línea con los diferentes patrones de imagen, así como con la severidad de la presentación radiológica.

7. MÉTODOS

7.1 Lugar del estudio.

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

7.2 Descripción de la población de estudio

Pacientes que se encuentren en la base de datos del Servicio de Microbiología Clínica en el periodo comprendido de Noviembre 2010 a Noviembre 2014 con diagnóstico confirmado de Tuberculosis Pulmonar con resistencia a más de 1 fármaco antituberculoso de 1 línea

7.3 Criterios de inclusión:

Pacientes con diagnóstico de TB con resistencia a fármacos de primera línea que se les haya realizado a su cultivo prueba de genotipificación por el método HAIN
Se incluirán al protocolo pacientes con cultivos positivos para MTB con resistencia a fármacos de primera línea identificados por método de SIRE cuyos aislamientos se encuentren disponibles en el laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias y que no han sido sometidos a genotipificación.
Que se cuenten expediente clínico y radiológico completo

7.4 Criterios de exclusión:

Muestras de pacientes que no presenten resistencia a los fármacos de primera línea por SIRE o aquellos que no se encuentren registrados en el laboratorio de Microbiología.

Pacientes a los cuales se les haya hecho el diagnóstico de TB MDR en otro lugar que no sea el laboratorio de microbiología clínica del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias y no contemos o se haya contado con la forma de hacer genotipificación

Pacientes en los cuales no se encuentre el expediente clínico Y/O radiológico completo.

Pacientes que no tengan aun genotipificación y que cuenten con cultivo positivo almacenado en el laboratorio de microbiología clínica el cual no sea suficiente para el proceso de genotipificación.

7.8 Criterios de eliminación:

Pacientes que presenten cultivos negativos para *Mycobacterium tuberculosis* o no presentan resistencia a fármacos de primera línea.

Las muestra que se encuentren registradas en la base de datos con resistencia a fármacos de primera línea pero no haya colonia disponible para estudios de genotipificación

7.9 Tamaño de la muestra.

Cohorte retrospectiva del periodo Noviembre 2010 a Noviembre 2014 en la cual se tomaran todos los pacientes y sus muestras ultracongeladas o resultados ya procesados de un periodo definido, por la naturaleza del estudio no es necesario un cálculo de tamaño de muestra.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calculara la prevalencia a los diferentes genes de resistencia a fármacos antituberculosos de primera línea.

Por ser un estudio de un periodo definido se analizara la prevalencia de la infección por Micobacteria tuberculosis por cada gen de resistencia encontrado a fármacos de primera línea de acuerdo a la siguiente formula

Número de casos existentes en un momento dado (con genes identificados)
----- x 100

Total de la población existente en ese momento dado (total de cultivos positivos realizados en el periodo)

Se analizara la asociación de los y el número de genes encontrados con la severidad en la presentación radiológica.

Se analizara cada gen encontrado con diversas presentaciones radiológicas

Para valorar causalidad es decir si 2 o más genes de resistencia se asocian aun peor desenlace radiológico se determinaran OR por tratarse de un estudio retrospectivo.

Se analizara el impacto de más de 2 genes en la severidad del cuadro

Expuestos: Presencia de genes de resistencia a fármacos de primera línea

No expuestos: sin presencia de resistencia a fármacos de primera línea

Para la comparación de variables categóricas se usaran chi cuadrada o prueba exacta de Fisher según sea el caso:

Para el análisis entre variables cuantitativas se realizara prueba de U de Mann Whitney o T de student según sea el caso:

d) variables**1.- Variables independientes**

NOMBRE DE LA VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERATIVA	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR
Edad	Tiempo transcurrido en años a partir de la fecha de nacimiento.	NA	Cuantitativa Discreta	1-99
Sexo	Fenotipo del humano con sus características físicas, biológicas y sociales que establecen diferencias entre el hombre y la mujer	NA	Cualitativa nominal Dicotómica	1: mujer 2: hombre
Resistencia a fármacos antituberculosos de primera línea	Concepto microbiológico en el cual un microorganismo del complejo Mycobacterium tuberculosis, aislado en un enfermo, no es susceptible a la acción de uno o varios fármacos antituberculosos	Mutaciones producidas por Mtb la cual la hace resistente a fármacos de primera línea antituberculosis diagnosticado ya sea por SIRE y/o HAIN.	Cualitativa nominal	Dicotomica 1: Si 2 No
Monoresistencia	Al tipo de fármacorresistencia en la cual un microorganismo del complejo Mycobacterium tuberculosis no es susceptible a la acción de isoniacida o rifampicina,	Es aquella que se aprecia a un solo fármaco ya sea Isonizada o Rifampicina por el método SIRE o de proporciones	Cualitativa nominal	1: Resistencia a Rifampicina 2: Resistencia a isonizada
MDR	al tipo de fármacorresistencia en la cual un microorganismo del complejo Mycobacterium tuberculosis no es susceptible a la acción de isoniacida ni de rifampicina, administradas simultáneamente	Es aquella que se expresa como resistencia a un fármaco de primera línea ya sea Rifampicina Isoniacida, Etambutol o Pirazinamida	Cualitativa nominal	1: Rifampicina 2: Isoniacida 3: Etambutol 4: Pirazinamida
XDR	Multidrogo resistencia extendida el bacilo tuberculosis es resistente a Isoniacida o Rifampicina mas cualquier quinolona y al menos uno de los tres fármacos Intravenosos de segunda línea (amikacina, kanamicina, or capreomicina)	Resistencia a fármacos de primera y segunda línea que incluya un fármaco intravenoso.	Cualitativa nominal	1: Rifampicina 2: Isoniacida 3: Levofloxacina 4: Amikacina 5: Capreomicina 6: Kanamicina.

d) variables**1.- Variables dependientes**

NOMBRE DE LA VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERATIVA	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR
Atelectasia	Es la reducción de todo o una parte del pulmón. Uno de los mecanismos más comunes es por reabsorción del aire distal a la obstrucción de vía aérea.	Reducción del volumen, acompañado por incremento radiopacidad o atenuación en una parte del pulmón afectado.	Cualitativa	1. Presente 2. Ausente
Cavidad única	A cavidad es usualmente producida por la expulsión o drenaje de una parte necrótica de la lesión vía árbol bronquial. Algunas veces contiene un nivel líquido. La cavidad no es sinónimo de absceso.	Espacio de gas observado como una radiolucidez o un área de disminución de la atenuación dentro de una consolidación pulmonar o masa o nódulo. Que se encuentra presente como lesión única.	Cualitativa	1. Presente 2. Ausente
Consolidación con broncograma	Es debida a la permeabilidad de la vía aérea y la evacuación del	Es un patrón lleno de aire (haia atenuación) en un	Cualitativa	1. Presente 2. Ausente

Enfisema centrilobulillar	Es caracterizado por la destrucción centrilobular de las paredes alveolares y engrosamiento de los bronquiolos respiratorios y alveolos asociados. Este es la forma menos común de presentación del enfisema en fumadores.	Hallazgos tomográficos de áreas de disminución de la atenuación usualmente sin paredes visibles de distribución no uniforme y localizadas predominantemente en regiones superiores.	Cualitativa	1. Presente 2. Ausente
Casquete pleural	El casquete pleural es una lesión en el ápice pulmonar, usualmente causado por fibrosis intrapulmonar y pleural que tracciona la grasa extrapleural o posiblemente por isquemia crónica resultado de formación de placas hialinas de la pleura visceral.	Engrosamiento de la pleura parietal y visceral de predominio en los ápices pulmonares	Cualitativa	1. Presente 2. Ausente
Lesión nodular única	Lesión usualmente sólida o parcialmente sólida	Radiografía y TAC opacidad redondeada, bien o pobremente definida que mide hasta 3 cm de diámetro.	Cualitativa	1. Presente 2. Ausente
Múltiples cavidades	A cavidad es usualmente producida por la expulsión o drenaje de una parte necrótica de la lesión vía árbol bronquial. Algunas veces contiene un nivel líquido. La cavidad no es sinónimo de absceso.	Espacio de gas observado como una radiolucidez o un área de disminución de la atenuación dentro de una consolidación pulmonar o masa o nódulo. Que se encuentra presente en 2 o más lesiones.	Cualitativa	1. Presente 2. Ausente
Múltiples lesiones nodulares	Lesiones usualmente sólidas o parcialmente sólidas que se encuentran en forma múltiple.	Radiografía y TAC: Un patrón nodular es caracterizado por la presencia de innumerables opacidades redondeadas que son discretas en un rango de diámetro de 2 a 10 mm de diámetro.	Cualitativa	1. Presente 2. Ausente
Panal de abeja	Representa la destrucción y fibrosis del tejido pulmonar conteniendo numerosos espacios aéreos quísticos con engrosamiento fibroso de las paredes. Representando etapas tardías de varias enfermedades pulmonares con pérdida completa de la arquitectura acinar.	En radiografía aparece como anillos cerrados de aproximadamente 3-10 mm de diámetro con engrosamiento que semeja un panal de abeja. En TAC la apariencia de quistes de espacio aéreo agrupados, típicamente de diámetro de 3-10 mm pero ocasionalmente mayores de 2.5 cm.	Cualitativa	1. Presente 2. Ausente
Patrón micronodular "miliar"	Este patrón es una manifestación de diseminación hematogena de la tuberculosis o enfermedad metastásica.	En radiografía y TAC: consiste en diminutas profusas discretas y redondeadas opacidades pulmonares. (< 3mm de diámetro) que generalmente tiene una talla uniforme con distribución difusa en los pulmonares.	Cualitativa	1. Presente 2. Ausente
Vidrio deslustrado	Esto es causado por llenado de los espacios aéreos o engrosamiento del intersticio. Colapso parcial de los alveolos que incrementan el volumen sanguíneo en los capilares o combinación de estos.	Opacidades que aparecen en una área de incremento de la opacidad pulmonar, generalmente extensa en donde los márgenes de los vasos pulmonares puede ser indistinguibles. En TAC la apariencia brumosa de incremento de opacidad	Cualitativa	1. Presente 2. Ausente

9. PROCEDIMIENTO

ETAPA 1

- Se obtendrá una lista del servicio de microbiología clínica de los cultivos positivos a M. tuberculosis que cuenten con prueba de susceptibilidad farmacológica por el método SIRE.

ETAPA 2:

- Se obtendrá una segunda lista de los pacientes con datos de resistencia a 1 o mas fármacos antituberculosos de primera línea por el método SIRE

ETAPA 3:

- Se obtendrá una tercera lista de los pacientes con datos de resistencia a 1 o mas fármacos antituberculosos de primera línea por el método SIRE a los cuales ya se les ha realizado la prueba de genotipificación por HAIN

ETAPA 4:

- Se obtendrá una cuarta lista de los pacientes con datos de resistencia a 1 o mas fármacos antituberculosos de primera línea por el método SIRE y que no se les realizo genotipificación y que se cuenta con los cultivos solidos o liquidos para realizar dicho proceso.

ETAPA 5:

- Se obtendrán de las listas antes mencionadas los expedientes clínicos, imagenológicos y de laboratorio de los pacientes con datos de resistencia a fármacos por el método SIRE y se recabaran los datos demográficos, clínicos, laboratoriales, de estancia hospitalaria, uso previo de antituberculosos así como casos de fracaso o recaída.

ETAPA 6:

- De los pacientes sin prueba de genotipificación pero que se cuenta con los expedientes completos y cepa de MTB en cultivo de medio solido o liquido dentro del cepario de microbiología clínica, se realizara el procedimiento de genotipificación: De las cepas positivas a farmacoresistencia por SIRE se les realizara pruebas genotípicas mediante los kits MTBDRplus®/ MTBDRsl HAIN como a continuación se describe:
 - a) Para la extracción de DNA, se tomarán 1000 µL de la cepa obtenida del pase original, y se transferirán a un tubo estéril de 1.7mL. Se centrifugarán los tubos a 13000 g durante 15 minutos. Se descartará el sobrenadante y se agregará un

volumen de 100 µL de agua estéril grado biología molecular, resuspendiendo el pellet bacteriano agitando con vortex. Se calentarán los tubos a 95°C en un termoblock durante 20 minutos para inactivar la cepa bacteriana y se transferirán los tubos a un baño ultrasónico durante 15 minutos. Finalmente se centrifugarán los tubos a 10000g durante 5 minutos. Se transferirán los sobrenadantes que contienen el DNA a tubos estériles de 1.7mL.

- b) **Amplificación:** Se hará una mezcla maestra de PNM plus y sl (35 µL), Buffer 10X con MgCl₂ 18mM (5 µL), MgCl₂ (3µL), agua grado biología molecular (2 µL), Taq Polimerasa (0.2 µL) considerando el número total de muestras a amplificar. Utilizando tubos de 0.6 µL Se transferirán 45 µL de la mezcla añadiendo 5 µL del DNA extraído a cada tubo. Se introducirán los tubos al termociclador HAIN LifeSciences® utilizando el programa HOT30.
- c) **Hibridación:** Se realizará la hibridación de las muestras en el equipo TwinCubator® HAIN, por medio de tiras de nitroceluosa proporcionadas en los kits *plus* y *sl*, siguiendo el procedimiento incluido en los kits. Terminando la hibridación se obtendrán patrones en bandas que corresponderán a tipos silvestres y mutaciones en los genes de resistencia para isoniazida *inhA*, *katG*, rifampicina *rpoB* para el kit *plus*, y etambutol en el gen *embB* para el kit *sl*.

Etapa 7 :

- Se vaciará la información recolectada en el programa SPSS22 para el inicio de análisis de datos. Duración de la etapa Noviembre 2014 - Abril 2015.

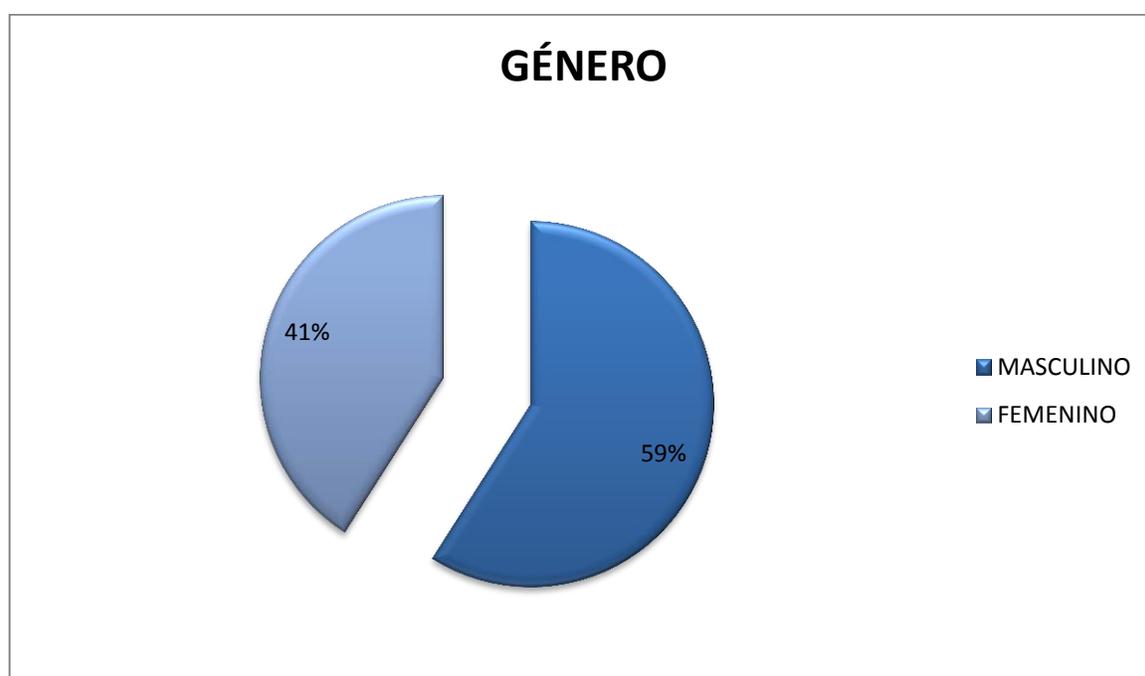
10. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Al tratarse de un estudio retrospectivo y que no realiza ninguna intervención no se requiere carta de consentimiento informado. Además de acuerdo con la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos en materia de Investigación para la Salud, y su reglamento (artículo 17), se considera una investigación sin riesgo.

La propuesta y la ejecución del presente estudio, no viola la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos en materia de Investigación para la Salud.

11. RESULTADOS

Se analizaron 332 cepas previamente identificadas como *M. tuberculosis* con resistencia a algún tipo de fármaco de primera línea, en la cuales se evaluó la presencia de mutaciones asociadas con algún tipo de resistencia a fármacos antituberculosos de primera línea. La genotipificación se realizó utilizando el kit Genotype MTBDRplus (Hain LifeScience). Los datos obtenidos fueron almacenados y analizados en una base de datos en SPSS, con un análisis de proporciones al 95% de confianza. De las muestras analizadas de cultivos de tuberculosis la distribución por genero fue la siguiente 196 pacientes (59%) del género masculino 136 (41%) fueron del género femenino.



GRAFICA 1: DISTRIBUCION POR GÉNERO DEL TOTAL DE LAS MUESTRAS.

De los diagnósticos clínicos de envió el más prevalente fue tuberculosis pulmonar que se encontró en 232 (69.9%) pacientes, Neumonía 9 (2.7%) VIH en 26 (8.1%) pacientes hemoptisis 2 (0.6%) Tumor pulmonar 9 (2.7%) derrame pleural 8 (2.4%) otras enfermedades infecciosas pulmonares 1 (0.3%) empiema 5 (1.5%) otras 6 (1.8%) Neumopatía intersticial 2 (0.6%) EPOC 3 (0.9%) Sin diagnostico 27 (8.1%) Absceso 1 (0.3%). Se reportaron confección con VIH en 38 pacientes (11.4%).

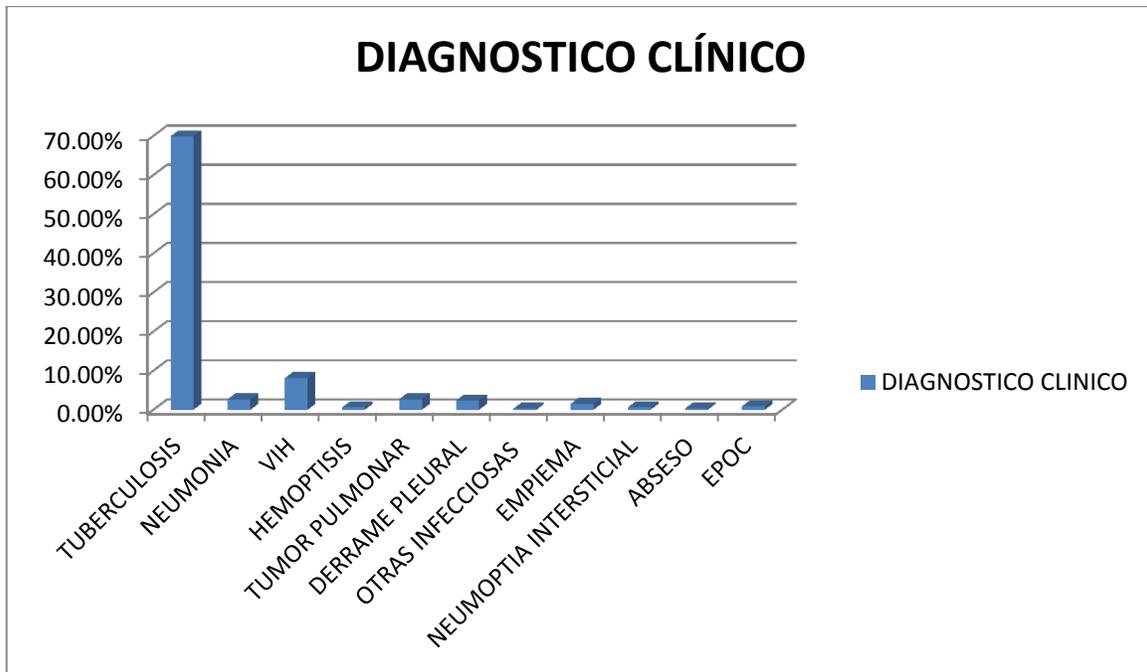


GRAFICO 2: DIAGNOSTICOS CLINICOS DE ENVIO DE MUESTRAS.

El tipo de muestra obtenida principalmente fue de expectoración siendo 215 (64.8%) aspirado traqueal 7 (2.1%) BAL 46 (13.9%) una muestra de ganglio linfático (0.3%) liquido pleural 20 (6%), tejido pleural 2(0.6%) Biopsia pulmonar 10 (3%), Hemocultivo 9 (2.7%), Cultivo de medula ósea 2(0.6%) Líquido cefalorraquídeo 7 (2.1%) Jugo gástrico 1 (0.3%) Biopsia de otro tejido 7(2.1%) orina 1 (0.3%) otros líquidos corporales.

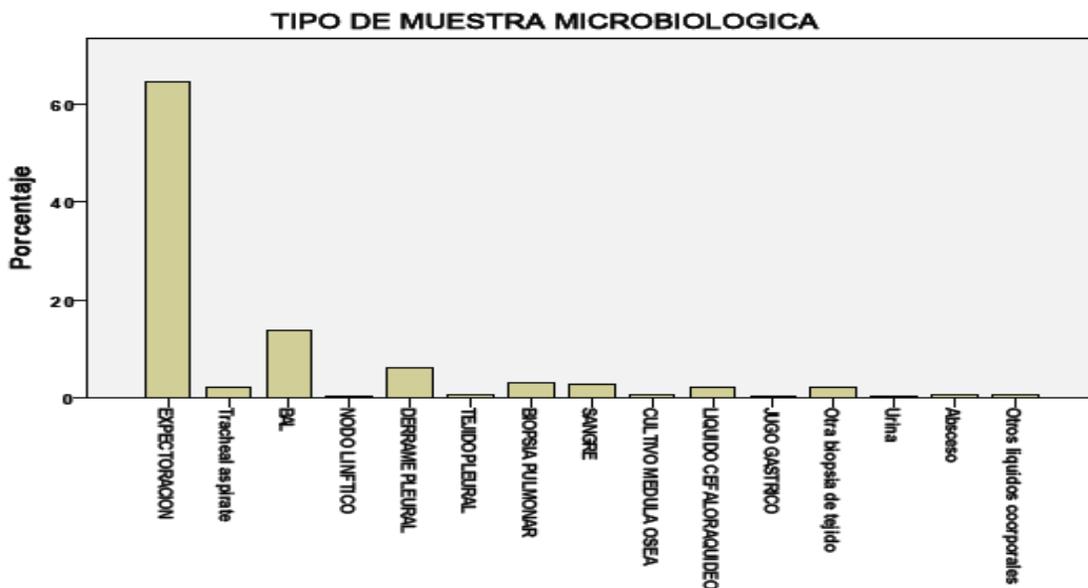


GRAFICO 3: TIPO DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS OBTENIDAS PARA EL ANALISIS.

En el análisis se realizaron de acuerdo a la resistencia que se presentaron: recordando que se define como:

TB monorresistente: La monoresistencia a H y a S son las más frecuentes.

TB multirresistente (TBMDR): es la enfermedad provocada por M. tuberculosis resistente como mínimo a H y R.

TB extensamente resistente (TBXDR): se refiere a resistencia a fármacos de primera línea (H+R como mínimo) más algún inyectable de los siguientes: Ka, Am o Cap y una fluoroquinolona como mínimo.¹²

Por lo tanto tenemos

Monoresistencia documentadas encontramos a Rifampicina resistencia baja concentración del fármaco de 1 µg en 197 muestras (59.3%) Isoniacida baja con concentraciones del fármaco de 1 µg en 256 muestras (77.1%) la resistencia alta a Isoniacida con concentraciones del fármaco de 4 µg 198 (59.6%) Etambutol baja concentración del fármaco de 4 µg 53 (16%) alta a Etambutol con concentración del fármaco a 8 µg 18 (5.4%), Pirazinamida 74 (22.3%) estreptomicina baja concentración del fármaco de 1 µg 137 (41.3) alta concentración del fármaco de 4 µg 59 (17.8%).

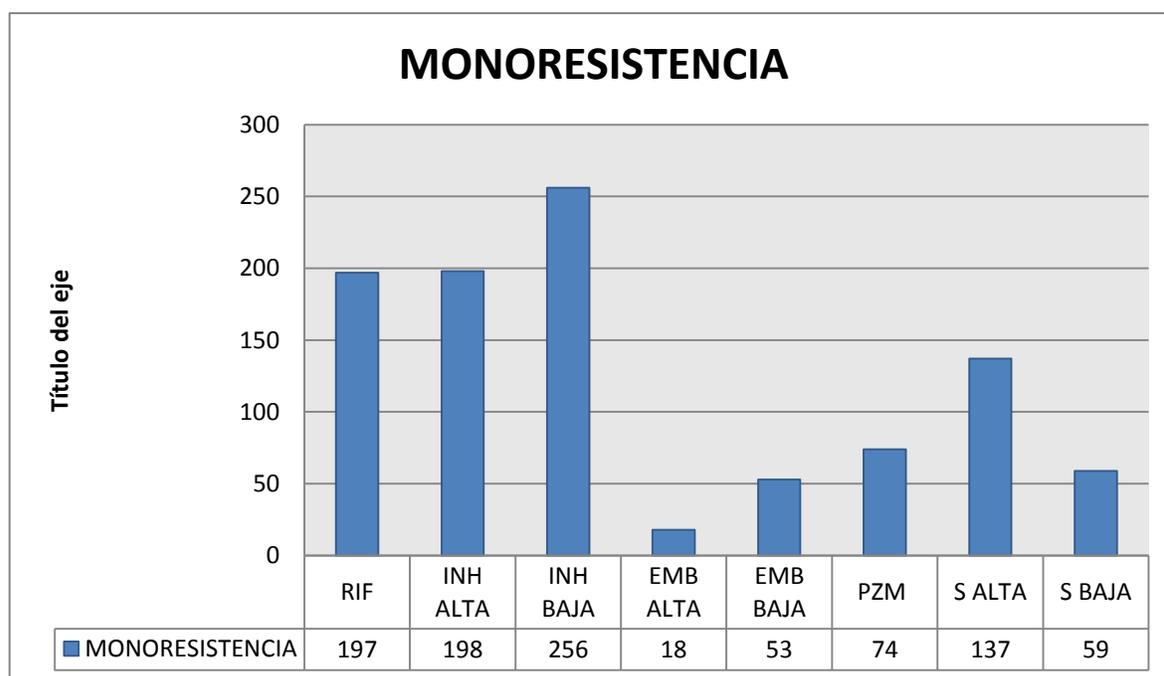


GRAFICO 4: MONORESISTENCIAS. ENCONTRADAS A LOS FARMACOS DE PRIMERA LINEA.

ANALISIS DE TB RESISTENTES A RIFAMPICINA O ACOMPAÑADOS DE OTRA RESISTENCIA A FARMACO DE 1ERA LINEA.

En el caso de los paciente que presentaron tanto resistencia a Rifampicina como a Isoniazida se consideran como TB MDR encontramos una asociación en resistencia a Isoniazida en 167 muestras (50.3%). Mientras que Rifampicina con resistencia alta a Isoniazida se presentó en 144 muestras (43.4%).

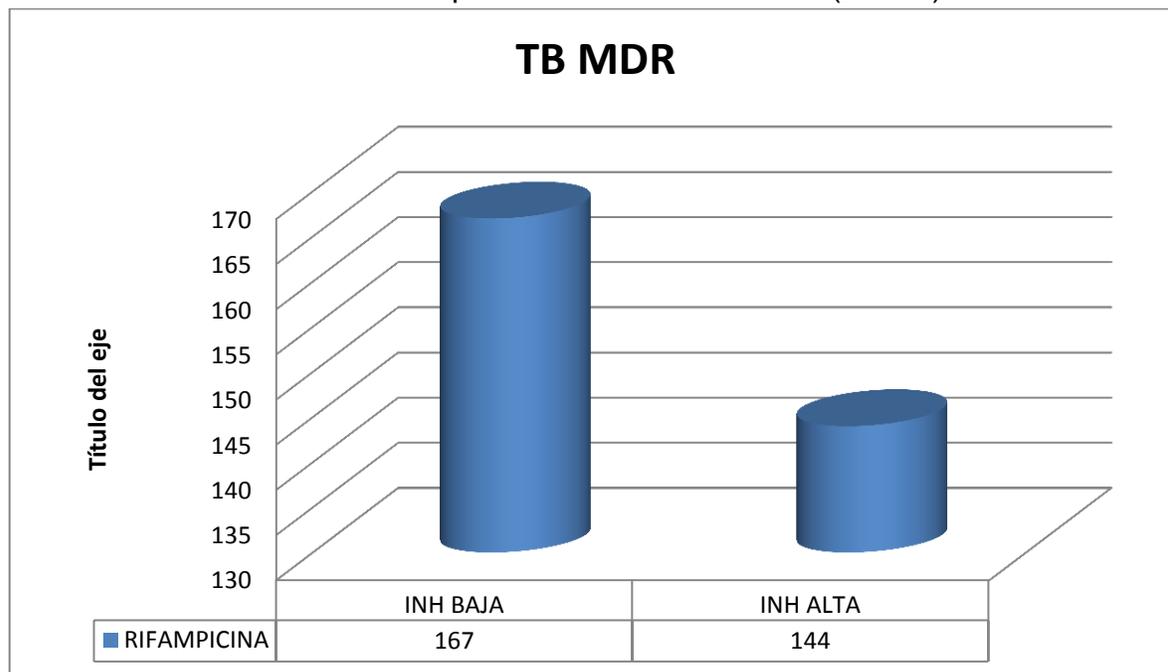


GRAFICO 5: ANALISIS DE MUESTRAS POSITIVAS PARA RESISTENCIA A RIFAMPICINA E ISONIAZIDA (MDR).

Las poliresistencia, definida por aquellas cepas de *M. tuberculosis* resistente a un mínimo de dos fármacos, pero sin comprender simultáneamente H y R.

Se evaluaron tanto con la resistencia a Rifampicina o a Isoniazida con los diversos fármacos de primera línea, resistencia a Rifampicina y Etambutol se presentó en 42 de las muestras (12.7%), Rifampicina con resistencia alta a Etambutol en 16 (4.8%), resistencia a Rifampicina mas resistencia a Pirazinamida en 58 (17.4%).), resistencia a Rifampicina mas Estreptomycin en 66 pacientes (19.9%), Rifampicina más resistencia alta a Estreptomycin 163 (49.1%) Resistencia baja a Isoniazida mas resistencia baja a Etambutol 48 (14.5%) Resistencia baja a Isoniazida mas resistencia a Pirazinamida 126 (38%). Resistencia de Isoniazida más resistencia a Estreptomycin 92 (27.7%)

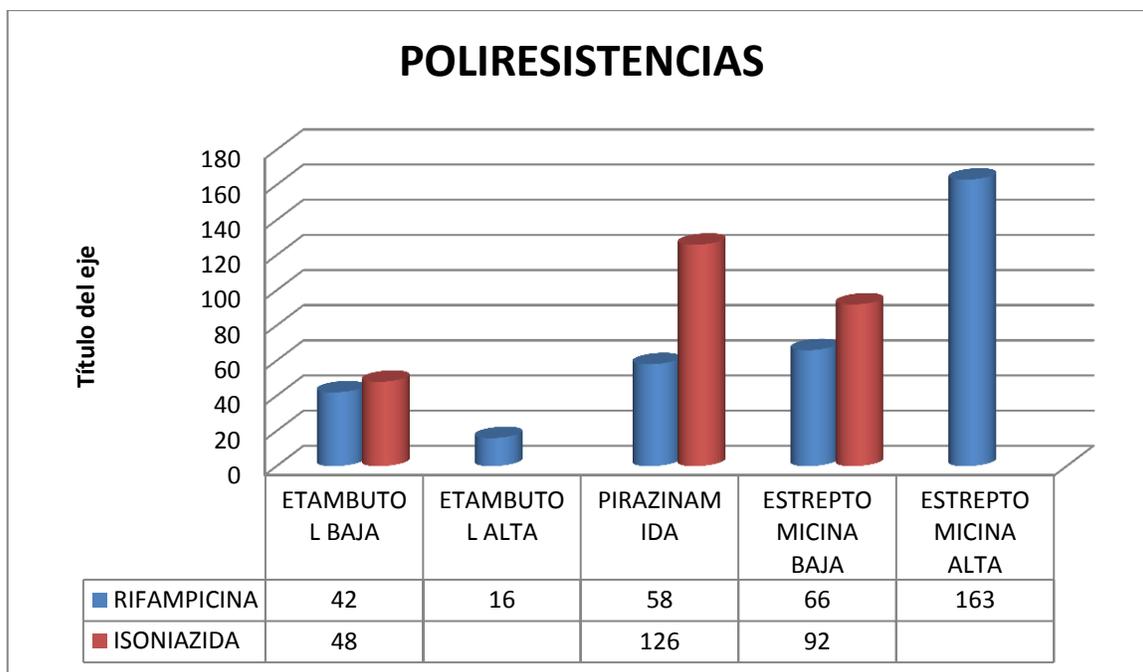


GRAFICO 6: POLIRESISTENCIAS TANTO A RIFAMPICINA O ISONIAZIDA CON LOS FARMACOS DE PRIMERA LINEA.

De las cepas MDR se encontraron 167 muestras en total de las cuales: Se asociaron a otras resistencias: MDR de aquellas que presentaron resistencia a Etambutol se documentaron en 40 muestras (24%), MDR mas resistencia a Pirazinamida en 53 (31.7%) MDR con resistencia a Estreptomicina en 63 muestras 37.7% MDR con resistencia alta a Isoniazida en 143 muestras el 85.6% MDR con resistencia alta a Etambutol en 15 (9%). MDR con resistencia alta a Estreptomicina 31 (18.6%).

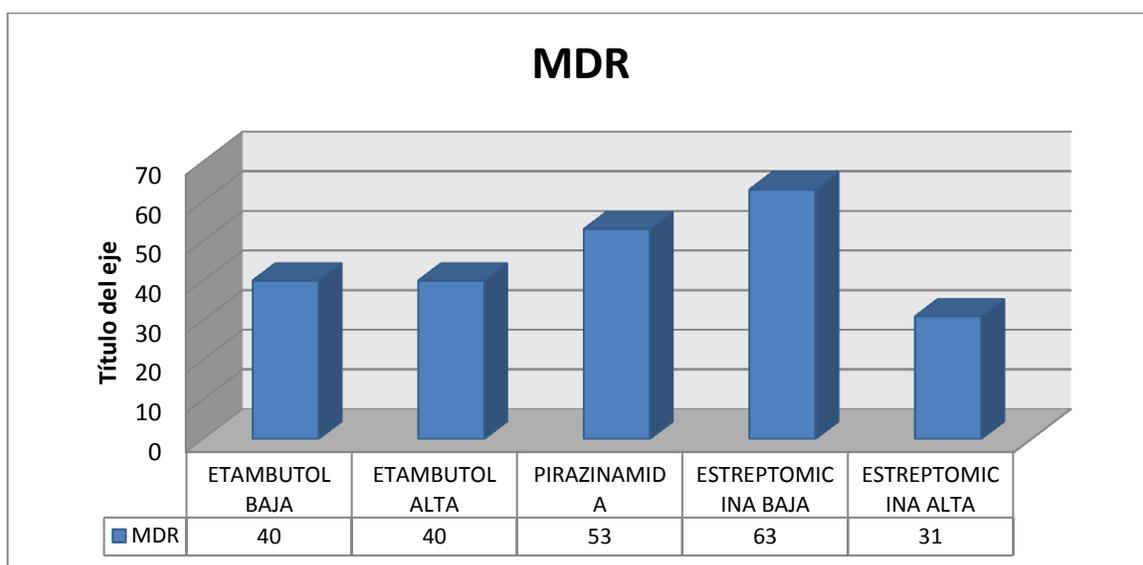


GRAFICO 7: RESISTENCIAS MDR MÁS OTRO FARMACO DE PRIMER LINEA.

Del total de las muestras que presentaron Múltidrogos resistencia (167) se realizó un sub análisis siendo la distribución por género de la siguiente manera: Hombres 96 (57.5%) y mujeres 71 (42.5%).

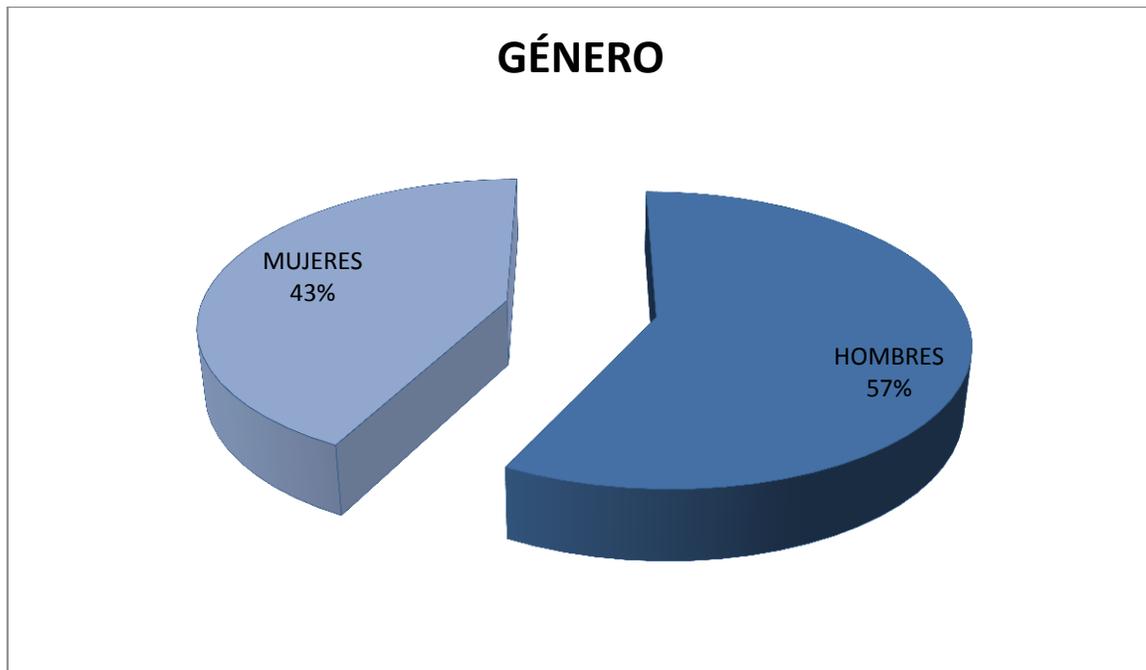


GRAFICO 8: DISTRIBUCION DE MUESTRAS MDR POR GÉNERO.

De estos pacientes los diagnósticos clínicos con los que se ingresó la muestra al laboratorio de Microbiología clínica fueron los siguientes Tuberculosis en 137 (82%) Neumonía 3 (1.8%) VIH 9 (5.4%) Hemoptisis 1 (0.6%) Tumoraación pulmonar 2 (1.2%) derrame pleural 1 (0.6%) Empiema 1 (0.6%) y otras 2 (1.2%) Neumonía Intersticial 2 (1.2%) sin diagnostico 8 (4.8%).

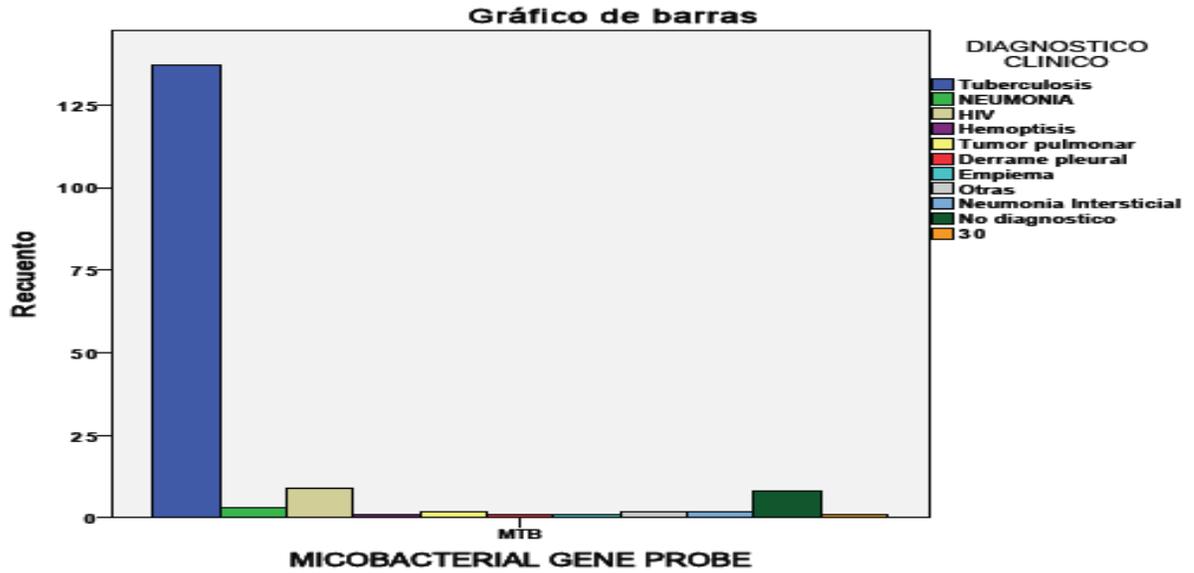
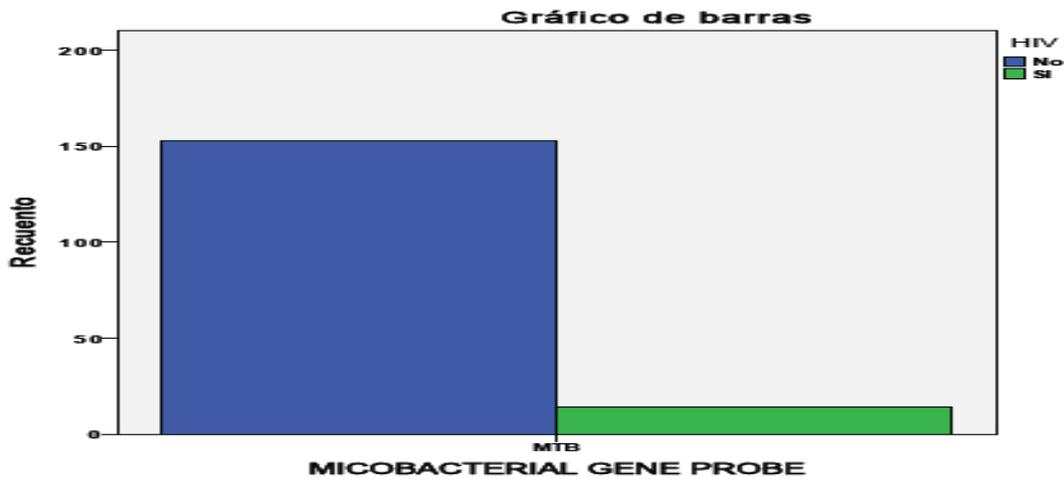
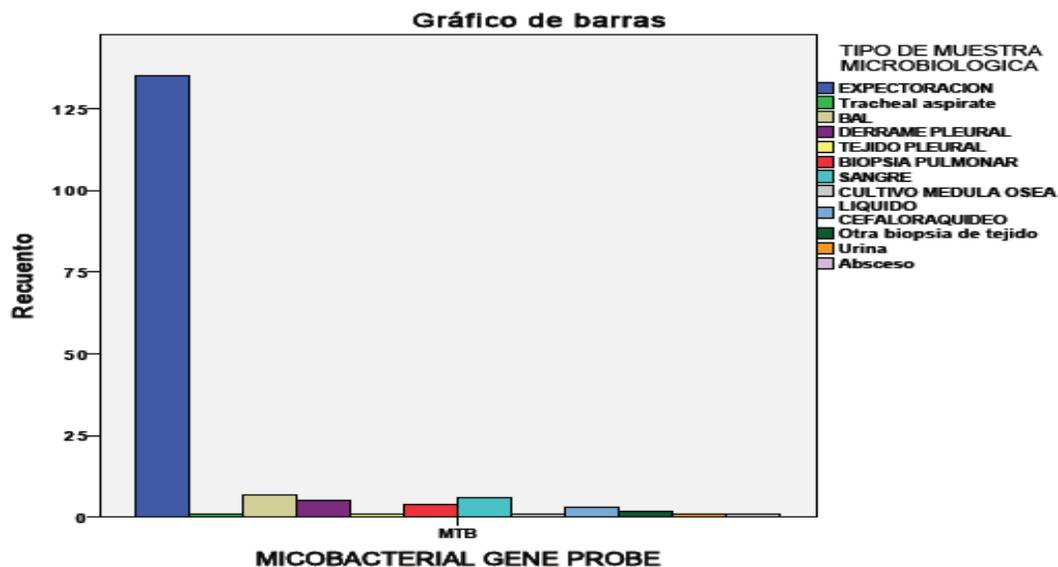


GRAFICO 9: DIAGNOSTICOS CLÍNICOS DE ENVIO DE LAS MUESTRAS.



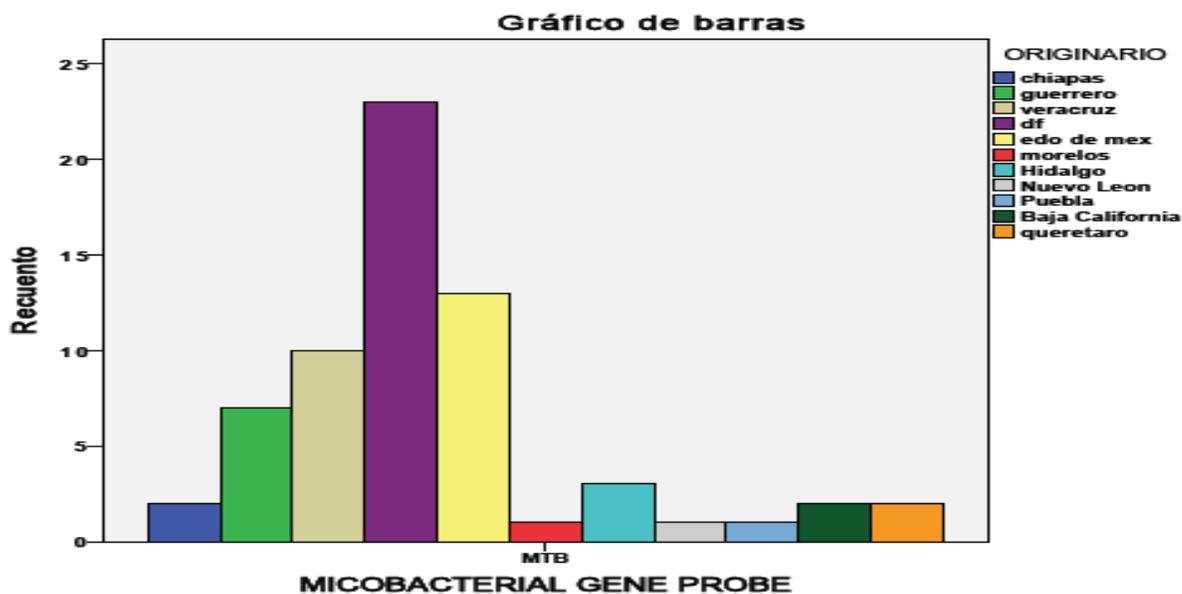
GRAFICA 10: NUMERO DE MUESTRAS MDR CON DIAGNOSTICO DE ENVIO DE VIH

El tipo de muestra obtenida en su mayoría fue de cultivo de expectoración 135 (80.8%) aspirado traqueal 1(0.6%) BAL 7 (4.2%) Líquido pleural 5 (3.0%) tejido pleural 1 (0.6%) Biopsia pulmonar 4 (2.4%) hemocultivo 6 (3.6%) cultivo de medula ósea 1 (0.6%) líquido cefalorraquídeo 1.8 otra biopsia de tejido 2 (1.2%) orina 1 (0.6%) otros líquidos 1 (0.6%).



GRAFICA 11: TIPO DE MUESTRA OBTENIDA PARA EL ANALISIS.

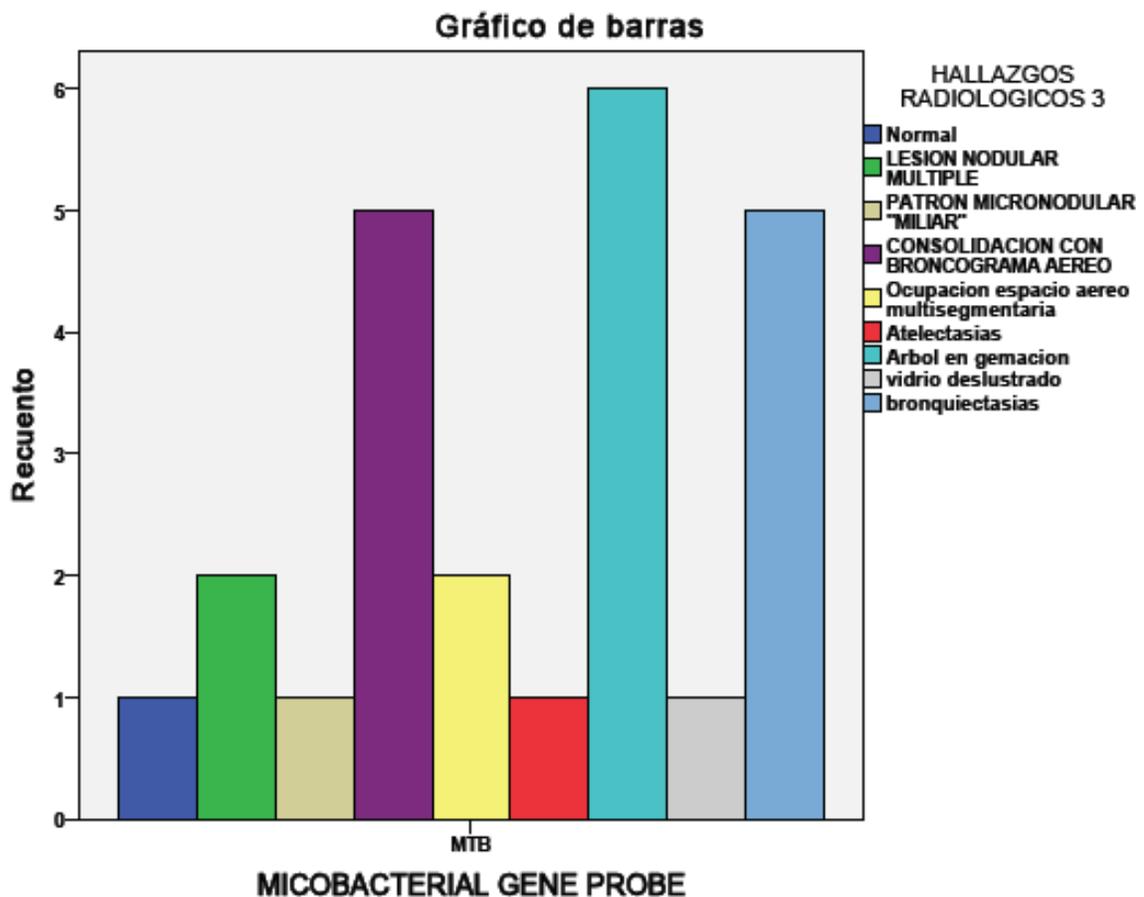
La procedencia de los pacientes de los que se obtuvo el expediente en su mayoría eran del DF 23 (35.4%), seguido por Estado de México 13 (20%) Veracruz 10 (15.4%) Guerrero 7 (10.8%) Hidalgo 3 (4.6%) los estados con 2 pacientes (3.1%) fueron Chiapas, baja california y Querétaro, con un paciente (1.5%) están los estados de Morelos, Nuevo León y Puebla.



GRAFICA 12: DISTRIBUCION POR ESTADO DEL LUGAR DE PROCEDENCIA DE LOS PACIENTES.

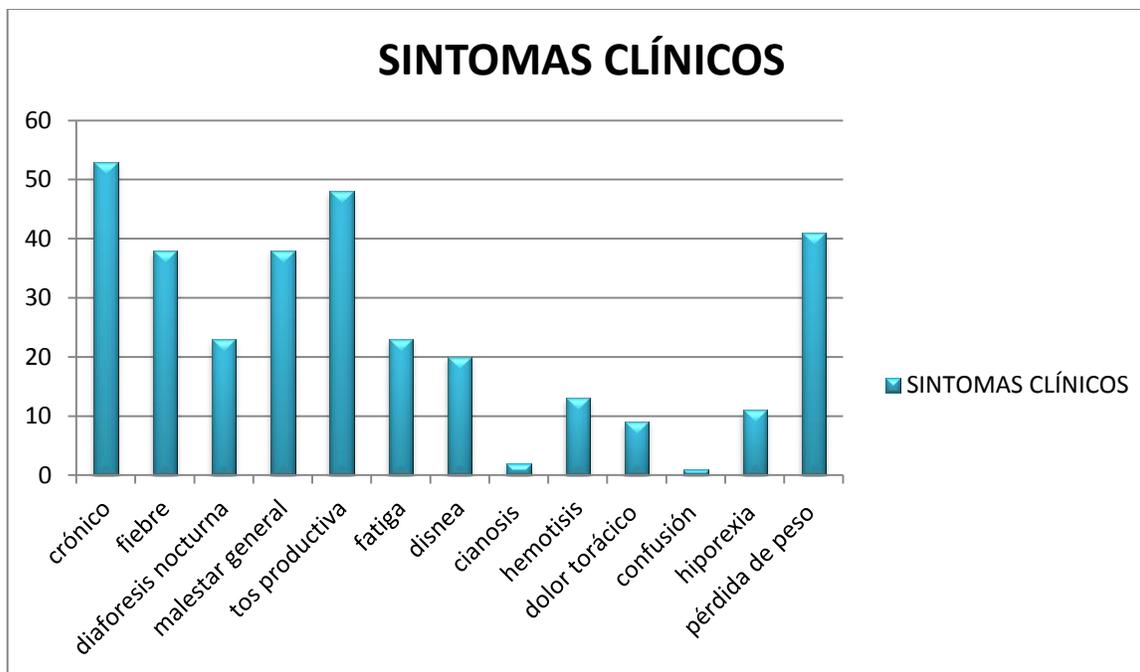
En cuanto al expediente radiológico se encontraron 40 estudios de radiografía y de estos solo 25 pacientes (64.1%) contaron con imágenes tomografías. Los estudios de Rx fueron revisados de acuerdo al estudio de Baes y cols en donde se divide el torax en 4 cuadrantes y se asigna un numero de 0 a 5 por cuadrantes para dar un total de hasta 25 puntos.

En imágenes tomográficas la que predominaron fueron cavidades múltiples 17 (68%) lesión nodular múltiple 15 (62.5%) y árbol en gemación 6 (25%) los pacientes presentaron más de una lesión tomográfica parenquimatosa y solo 1 paciente (4.2%) presento una tomografía normal.



GRAFICA 13: PRINCIPALES HALLAZGOS TOMOGRAFICOS

Se recabo expediente clínico completo en 65 de las muestras de los pacientes. El análisis clínico de los pacientes reveló que la mayoría 53 (81.5%) presentaron un inicio crónico el cual fue definido por un tiempo mayor a 3 semanas de la presentación de los síntomas, los síntomas predominantes fueron: tos productiva 48 (73.8%), pérdida de peso en 41 (63.1%), fiebre 38 (58.5%) y malestar general 38 (58.5%), aunque también se presentaron; diaforesis nocturna 23 (35.4%), fatiga 23 (35.4%), disnea 20 (30.8%), Hemoptisis 13 (20%), hiporexia 11 (16.9%), dolor torácico 9 (13.8%), Cianosis 2 (3.1%) confusión 1 (1.5%).



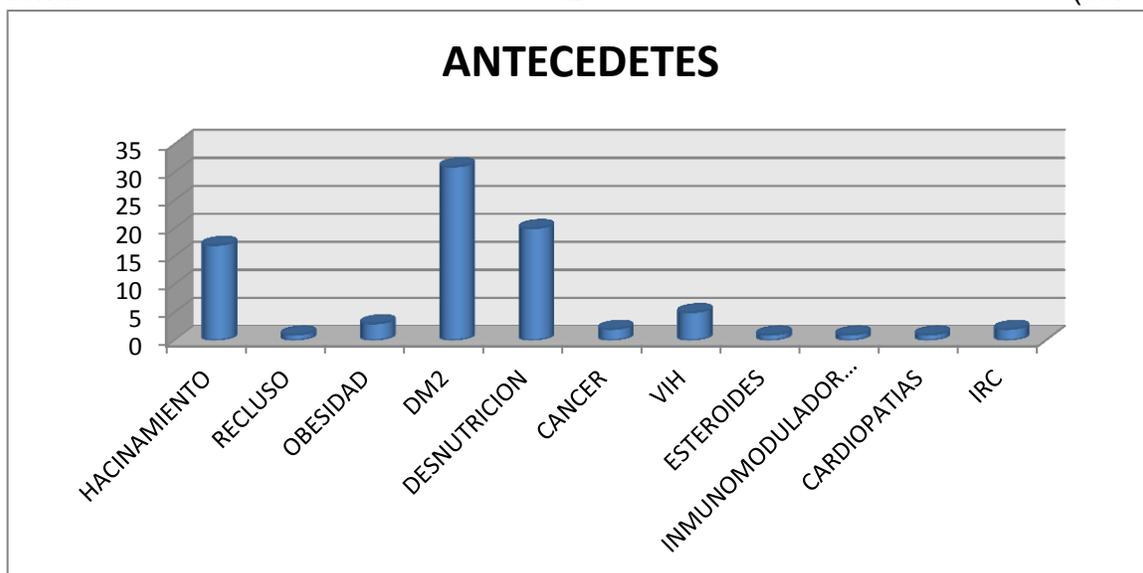
GRAFICA 14: CUADRO CLINICO DE LOS PACIENTES CON MULTIDROGO RESISTENCIA.

Hallazgos en la exploración física se encontró prevalentemente las manifestaciones pulmonares con presencia de estertores en 50 paciente (80%), sibilancias 1 (1.5%) soplo tubarico 1(1.5%), además de linfadenopatias 8 (12.3%), Caquexia 17 (26.2%).



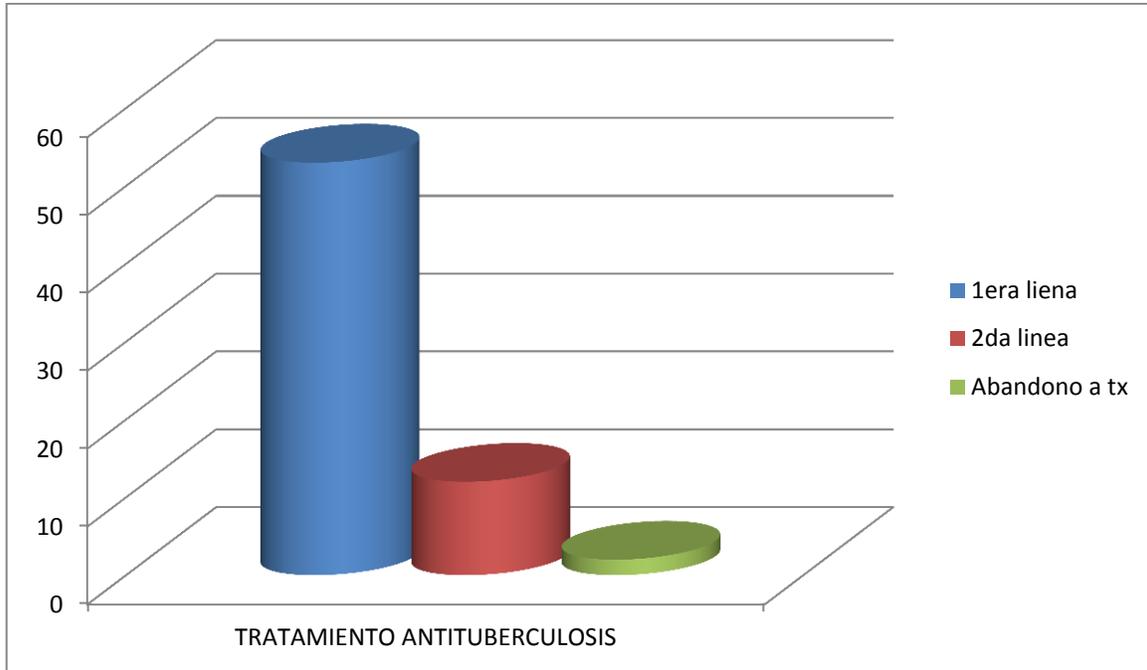
GRAFICA 15: HALLAZGOS EN EXPLORAFIÓN FÍSCA DE LOS PACIENTES MDR.

De los antecedentes de importancia recabados en el expediente clínico se encontró: 5 pacientes (7.7) eran fumadores activos, 20 (30.8) antecedente de tabaquismo, 11 (16.9%) con antecedente de alcoholismo, hacinamiento 17 (26.2%), estancia en prisión 1 (1.5%), obesidad 3 (4.6%), de las condiciones que comprometen el sistema inmune la más prevalente fue DM2 con 31 pacientes (47.7%), desnutrición 20 (30.8%), Cáncer 2 (3.1%), VIH 5 (7.7%), uso crónico de esteroides 1(1.5%), y uso de inmunomoduladores 1 (1.5%), pacientes que contaron con otras comorbilidades fueron; cardiopatías 1 (1.5%) y enfermedad renal 2 (3.1%).



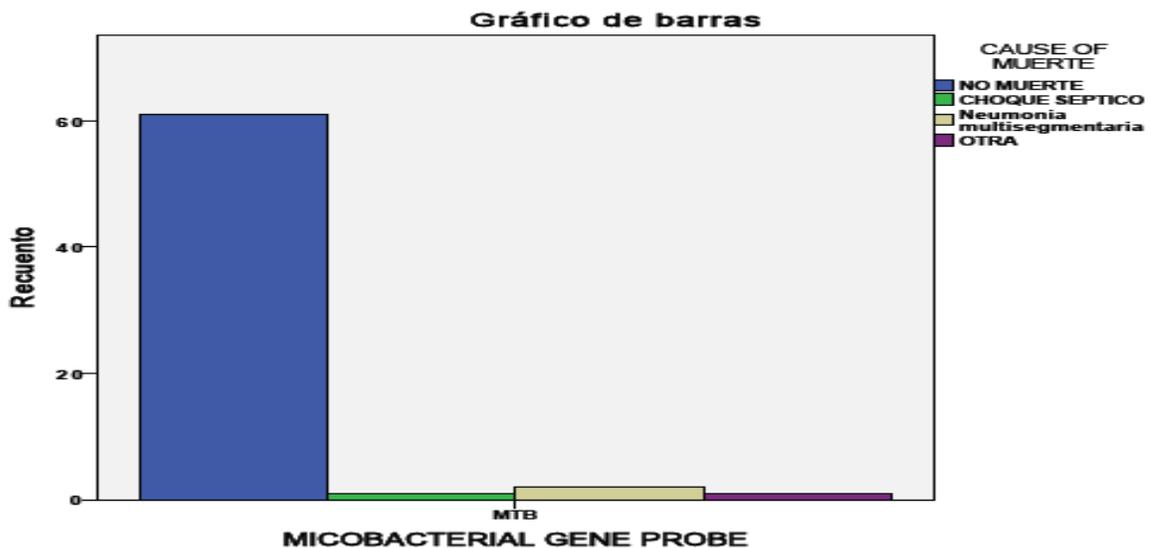
GRAFICA 16: ANALISIS DE ANTECEDENTES CLINICOS, EPIDEMIOLOGIOS Y COMORBILIDADES.

Pacientes que recibieron manejo antituberculosis de primera línea antes de su ingreso al INER fueron 53 el 81.3%, y 12 (18.5%) pacientes recibieron además esquema de segunda línea, de estos se reportaron 8 interrupciones en el tratamiento.



GRAFICA 17: ANTECEDENTES DE TRATAMIENTO ANTITUBERCULOSIS.

Se reportó muerte en 4 paciente (6.2%), la causa de la muerte fue Neumonía multisegmentaria en 2 pacientes choque séptico en 1 paciente, y hemoptisis masiva en otro paciente.



GRAFICA 18: CAUSAS DE MUERTE

De las cepas que se documentó la presencia de resistencia MDR se sometieron a análisis de genotipificación mediante el kit GenoType MTBDRplus el cual está basado en la tecnología DNA-STRIP y permite la identificación mediante genética molecular del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y su resistencia a Rifampicina y/o Isoniazida, desde cultivo o muestras clínicas pulmonares o baciloscopias positivas. La identificación de la resistencia a Rifampicina es posible gracias a la detección de las mutaciones más significativas del gen *rpoB*, para probar la resistencia de Isoniazida de alto nivel es examinado el gen *katG*, y para probar la resistencia a Isoniazida de bajo nivel mediante el gen *inhA*. Para interpretar los resultados cada sonda cuenta con 27 reactivos de los cuales se comprenden las sondas Wild Type y las mutaciones. Las sondas Wild Type comprenden las áreas de resistencia más importantes de los genes respectivos, cuando todas las sondas Wild Type de un gen son positivas no se detectan mutaciones en las regiones examinadas de la cepa probado es decir es sensible para el respectivo antibiótico.⁴

En caso de una mutación, el respectivo amplicón no puede unirse a la correspondiente sonda Wild Type. La ausencia de señal en al menos una de las sondas Wild Type indicada por tanto, resistencia de la cepa probada al respectivo antibiótico.⁴

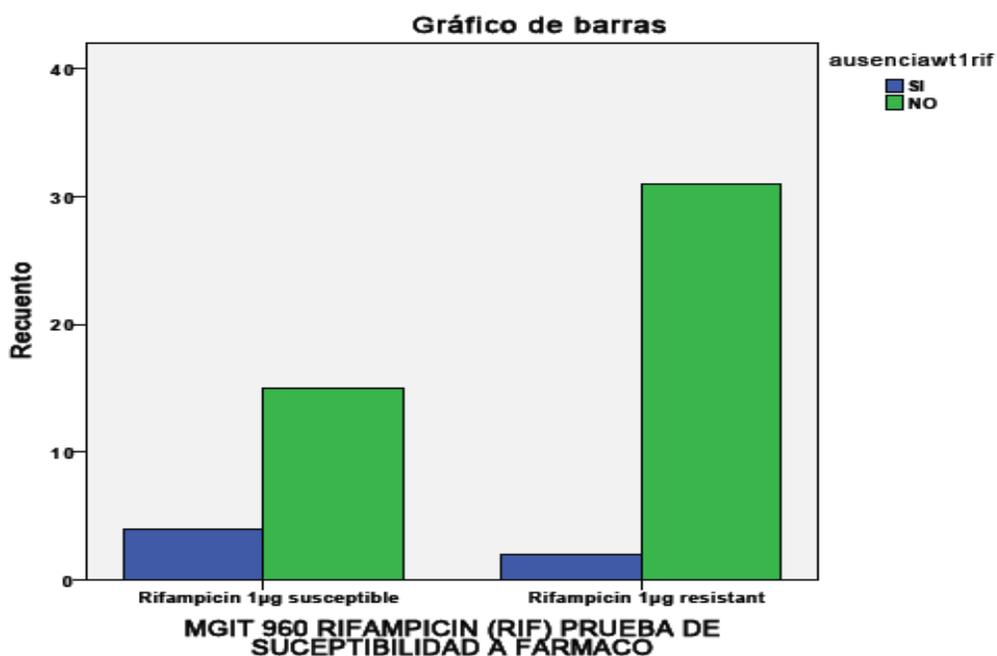
Solamente serán consideradas como positivas aquellas bandas cuya intensidad sea igual o mayor que la banda de control de Amplificación. De acuerdo a las especificaciones del fabricante.⁴

Sondas de mutación detectan algunas de las resistencias más comunes mediadas por mutaciones. Comparadas con otras muestras las señales positivas de las sondas de mutación *rpoB* MUT2A y MUT2B pueden mostrar una señal más débil.⁴

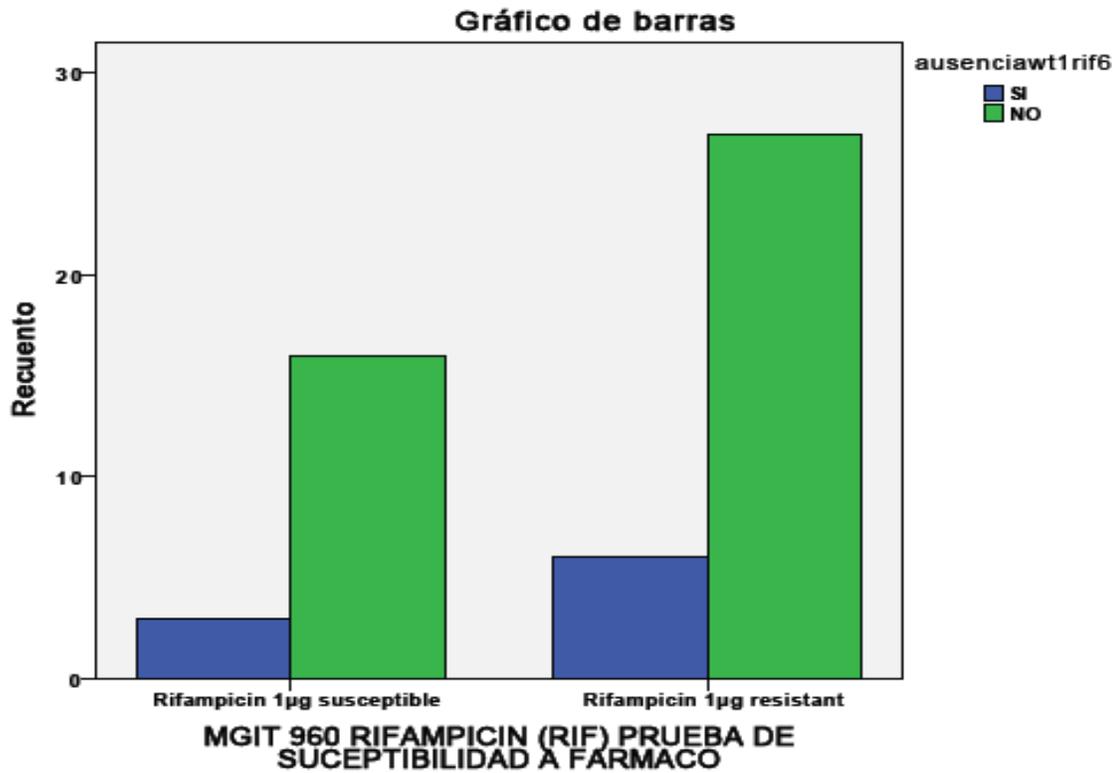
Para probar genes de Etambutol y Estreptomina se realiza mediante el kit MTBDR SL el cual está basado en la tecnología DNA-STRIP y permite la identificación mediante genética molecular del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y su resistencia a Etambutol es posible gracias a la detección de las mutaciones del gen *emb*, para probar la resistencia de Estreptomina mediante el gen *rrs*. Con el mismo principio para la interpretación de resultados que el kit MTBDRplus.

Los análisis no detectan genes de resistencia a Pirazinamida por lo que este fármaco no se incluye en los análisis con Genotipificación. Así mismo hay muchas *Micobacterium bovis* que son intrínsecamente resistentes a Pirazinamida.

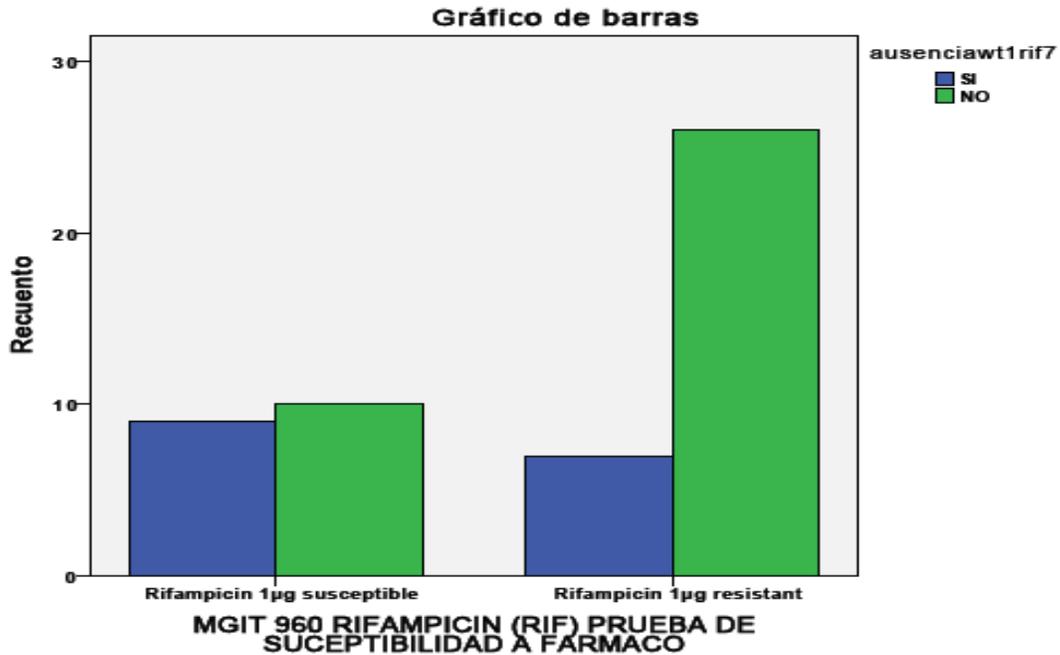
Resistencia Rifampicina mediante el gen *ropB* que se genotipifico en 52 de las muestras de las cuales se presentaron ausencia de WT1 rif en 6 muestras (1.8%), ausencia WT2 rif en 1 0.3%, Ausencia WT 3 rif 2 muestras (0.6%), WT4 rif 2 (0.6%), WT 5 rif 2 muestras (0.6%), ausencia de WT 7 rif presento una frecuencia de 16 (4.8%), ausencia de WT 8 30 muestras (9%) estuvieron presente las siguientes mutaciones MUT *rpoB1* ningun caso, MUT *rpo B2a* en 1 muestras, MUT *rpo B2b* en ninguna muestra, MUT *rpo B3* en 10 muestras el (3%). Encontrando resistencia mediante SIRE con MUT *rpoB1* en ninguna muestra, MUT *rpoB2a* en 1 muestra (1.9%), MUT *rpoB 2b* en ninguna muestra, MUT *rpoB3* en 8 pacientes (15.4%), asi como la ausencia de WT comparada con la resistencia a Rifampicina por SIRE de las cuales se observo: ausencia de WT1 rif en 2 muestras (3.8%), Ausencia de WT2 rif en 1 pacientes (1.9%), Ausencia WT 3rif en 1 muestra (1.9%), Ausencia WT4 rif 1 (1.9%), ausencia WT 5 rif en ninguna muestra, ausencia de WT6 rif en 6 (11.5%) muestras, WT7 rif en 7 (13.5%) muestras, ausencia WT8 rif en 21 (40.4%).



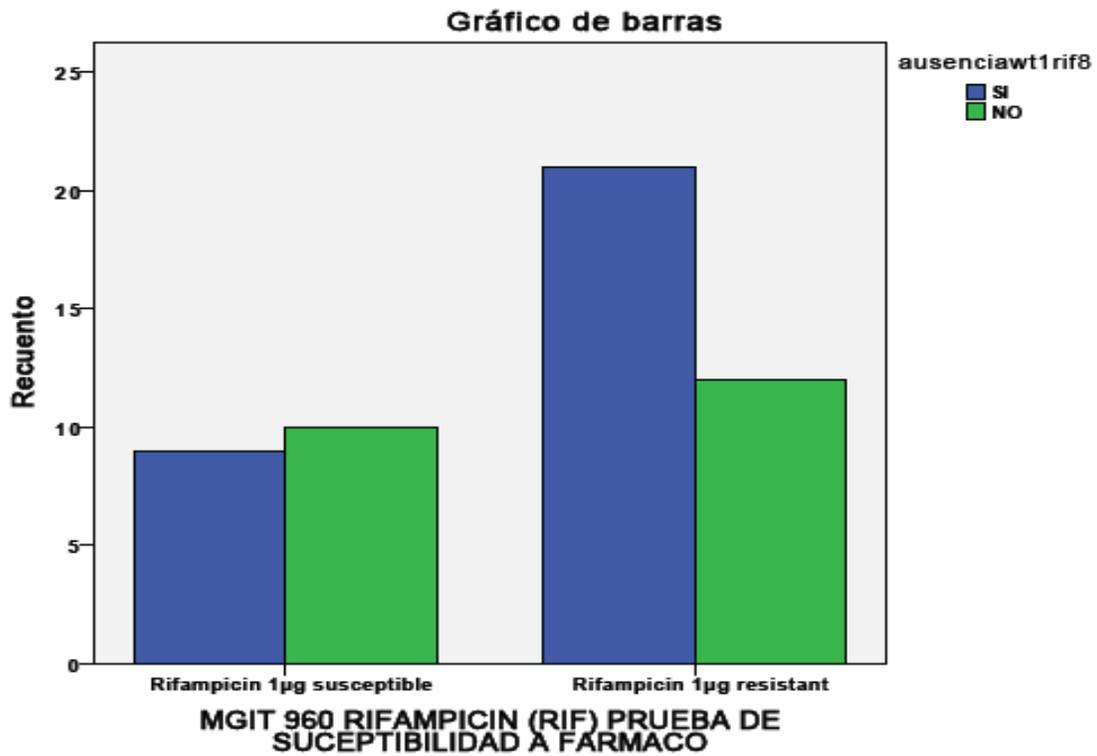
GRAFICA 19: AUSENCIA DE WT1 RIF CON RESISTENCIA A RIFAMPICINA POR SIRE



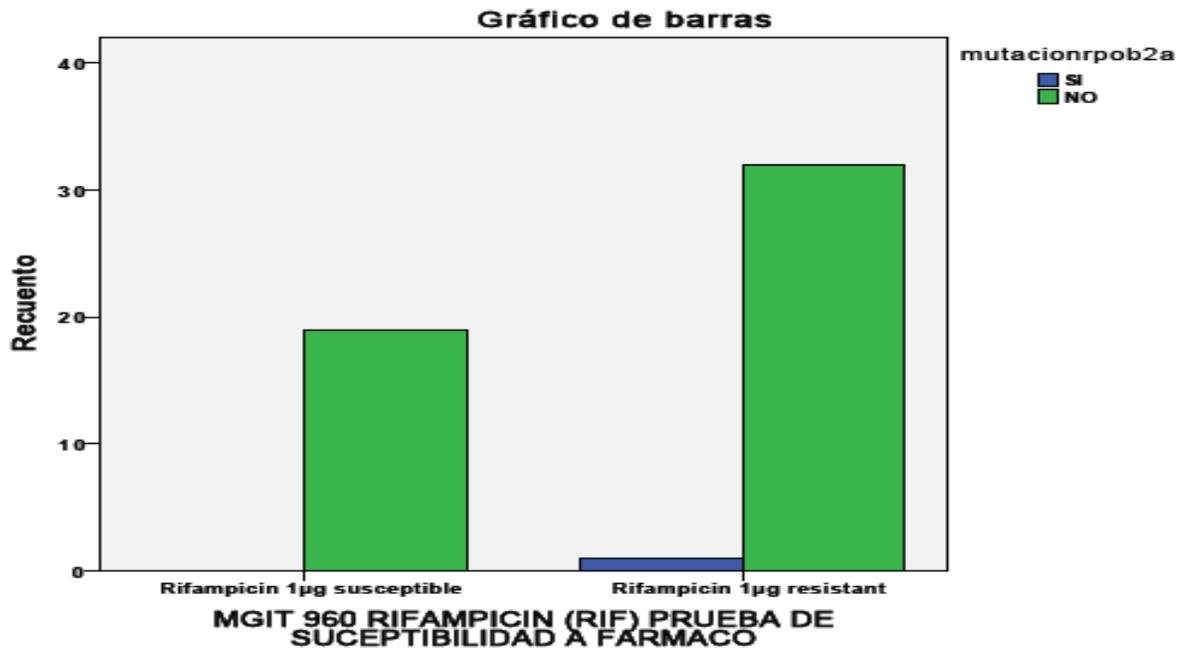
GRAFICA 20: AUSENCIA DE WT 6 RIF ASOCIADA CON RESISTENCIA A RIFAMPICINA POR SIRE.



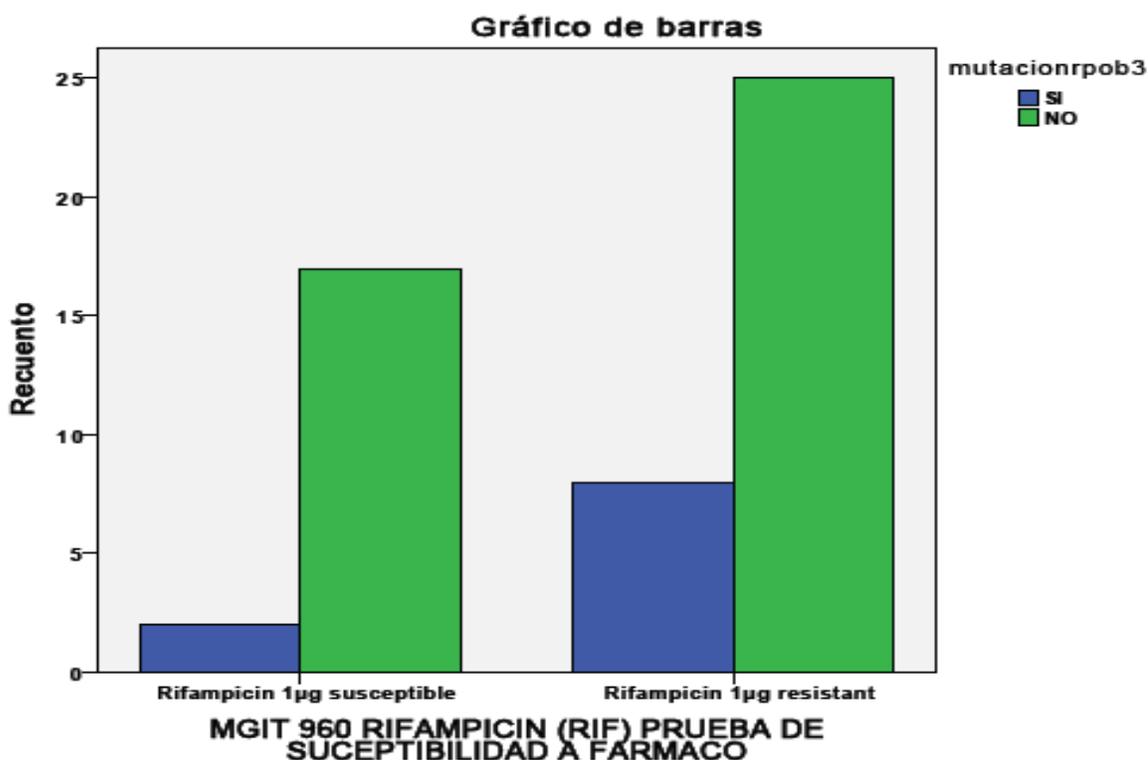
GRAFICA 21: AUSENCIA DE WT 7 RIF ASOCIADA CON RESISTENCIA A RIFAMPICINA POR SIRE.



GRAFICA 22: AUSENCIA DE WT 8 RIF ASOCIADA CON RESISTENCIA A RIFAMPICINA POR SIRE.

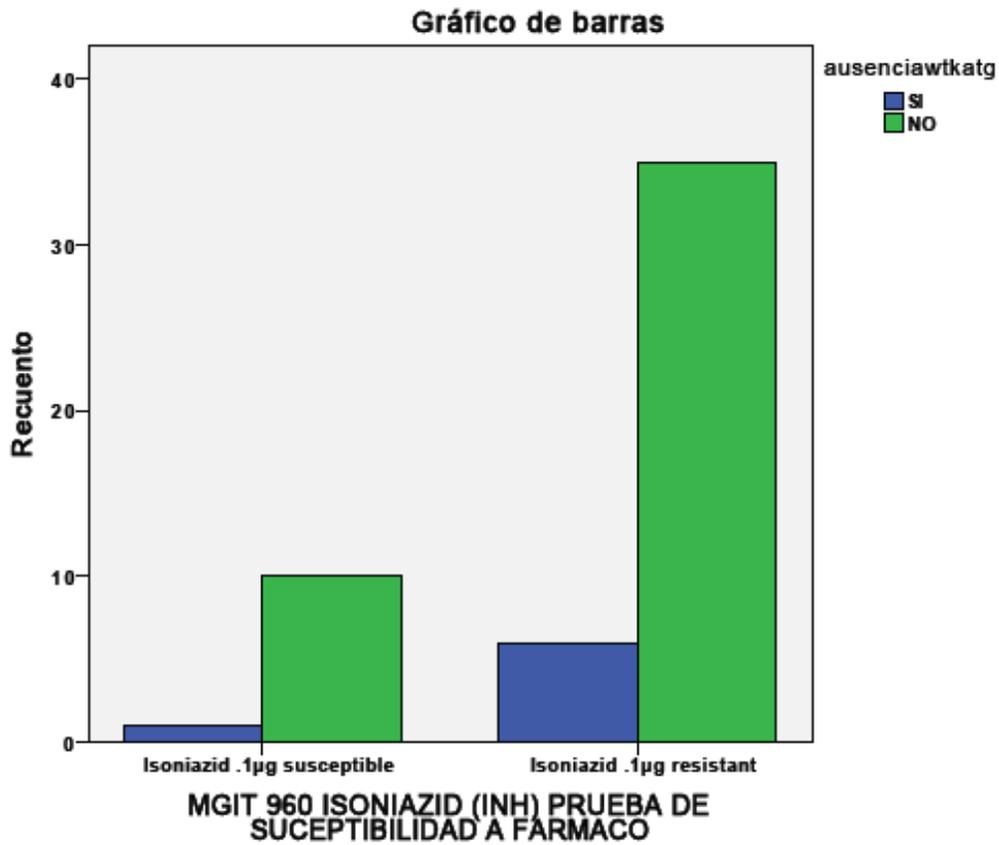


GRAFICA 23: PRESENCIA MUTACION rpoB2A CON RESISTENCIA A RIFAMPICINA MEDIANTE SIRE.

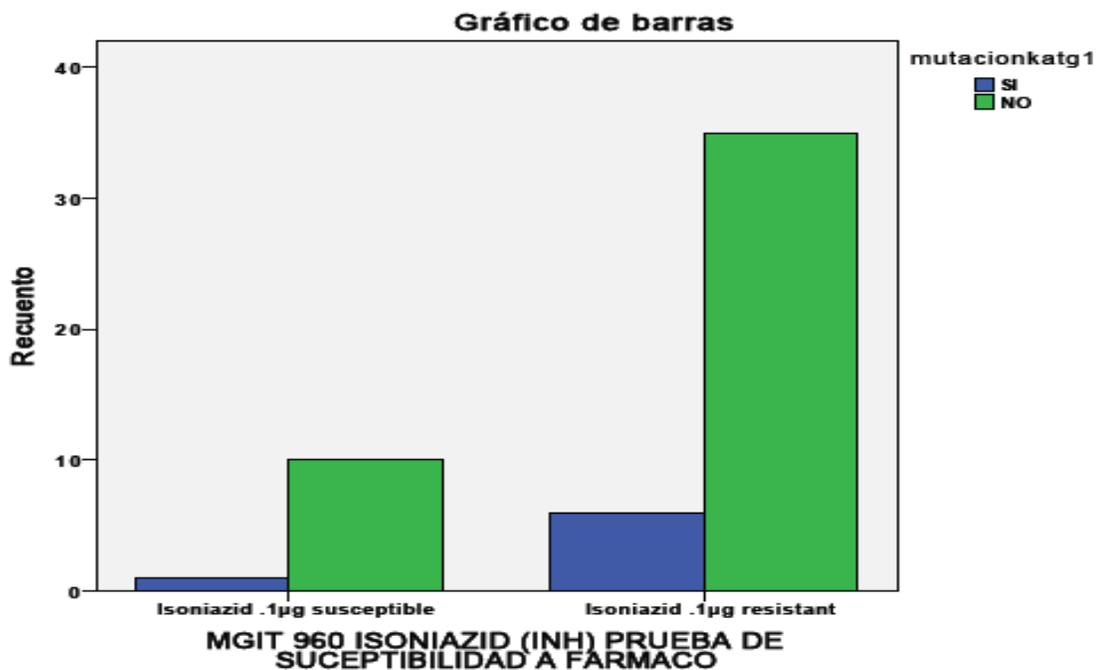


GRAFICA 24: PRESENCIA DE RESISTENCIA MUTACION rpoB3 CON RESISTENCIA A RIFAMPICINA POR SIRE

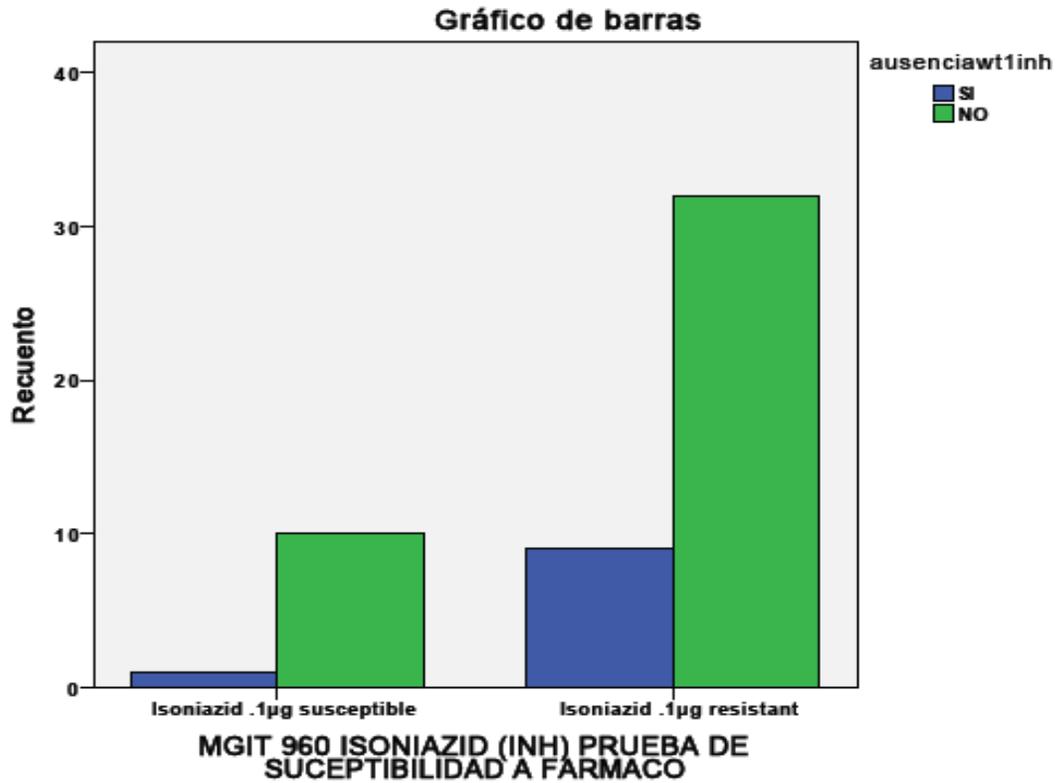
La resistencia a Isoniazida mediante genotipificación se realiza mediante los genes katG e inhA. Se realizó genotipificación para estos genes en 52 de las muestras, encontrando: Ausencia de WT katG en 7 muestras (2.1%) MUT katG1 en 7 muestras (2.1%) MUT katG2 en 2 muestras (0.6%). Ausencia de WT 1inhA en 10 muestras (3%), ausencia de WT2 inhA en 24 muestras (7.2%) presencia de MUT inhA1 8 (2.4%), MUT inhA2 en 2 (0.6%) MUT inhA3 1 una muestra (0.3%), MUT inhA3b en ninguna muestra, las mutaciones en katG e inhA en 5 muestras (1.5%). Al comparar los resultados de la genotipificación con los de método de SIRE encontramos que la resistencia baja a Isoniazida 6 muestras (11.5%) presentaban ausencia de katG, con mutacion en katG1 6 muestras (11.5%), mutacion a katG2 en 2 muestras (3.8%) con resistecia baja, Ausencia de de WT1 inh 9 pacientes (17.3%), Ausencia de WT2 inhA en 20 muestras (38.5%) MUT inhA1 en 7 (13.5%) muestras con resistencia baja a Isoniazida, MUT inhA2 presente en 2 (3.8%), MUT inhA3a 1 (1.9%), y no se encontraron Mutaciones en inhA3b.



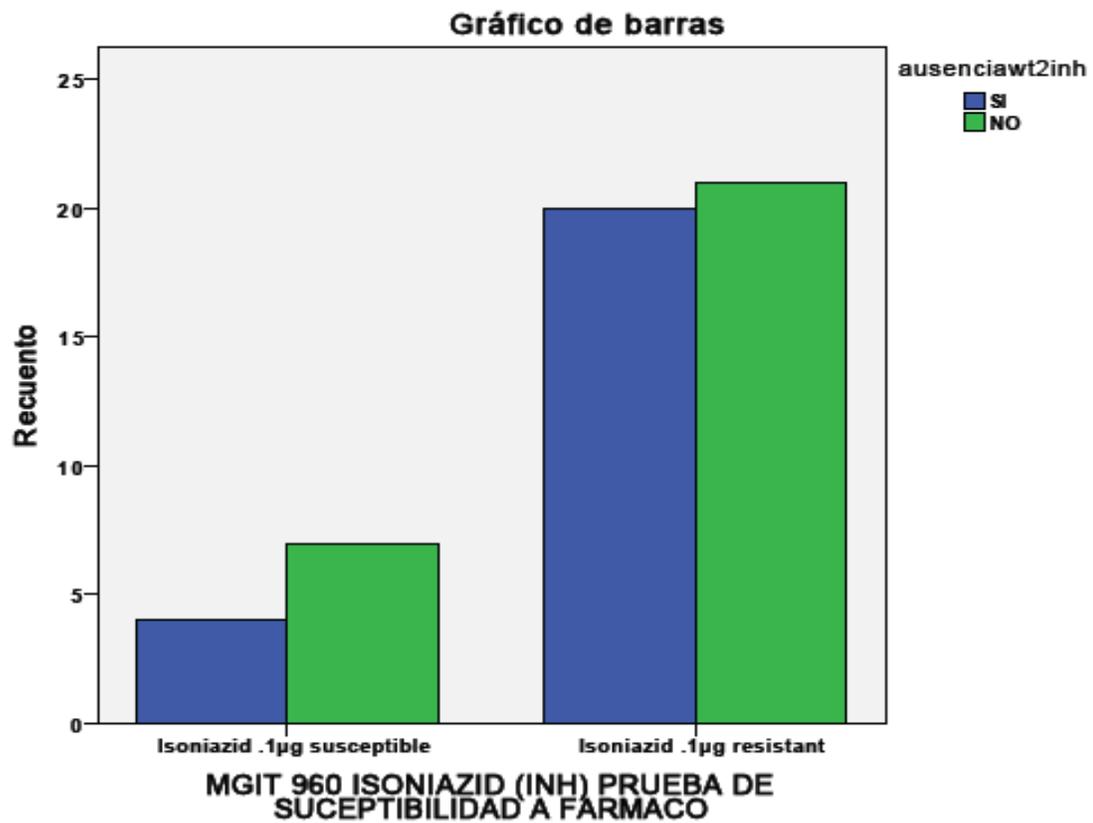
GRAFICA 25: AUSENCIA DE WT katG ASOCIADA CON RESISTENCIA A ISONIAZIDA POR SIRE.



GRAFICA 26: MUTACIÓN katG1 ASOCIADA CON RESISTENCIA A ISONIAZIDA POR SIRE.

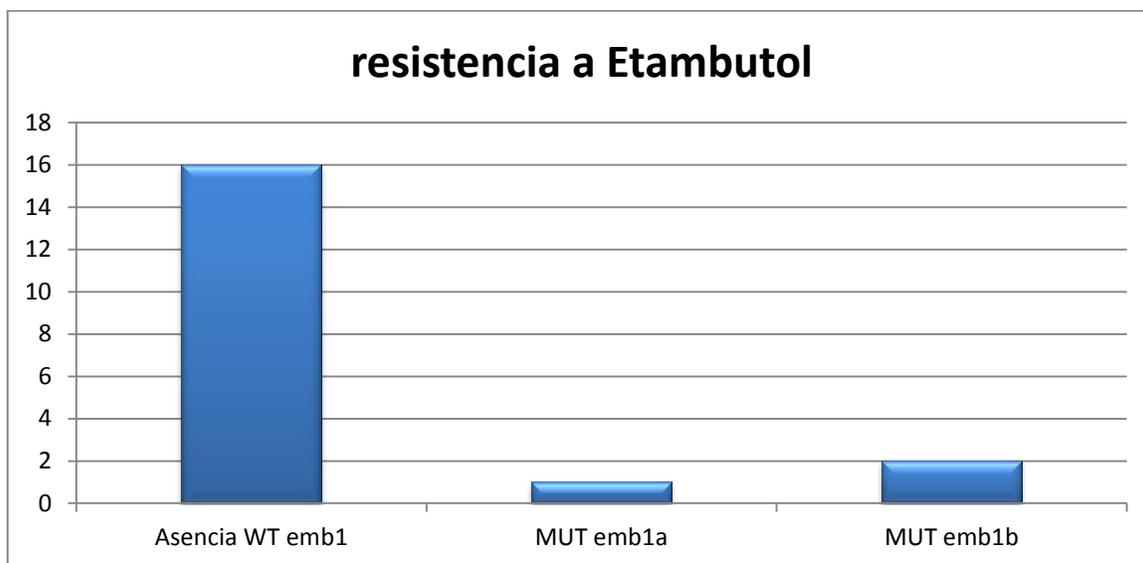


GRAFICA 27: AUSENCIA DE WT1 inhA ASOCIADA CON RESISTENCIA A ISONIAZIDA POR SIRE.



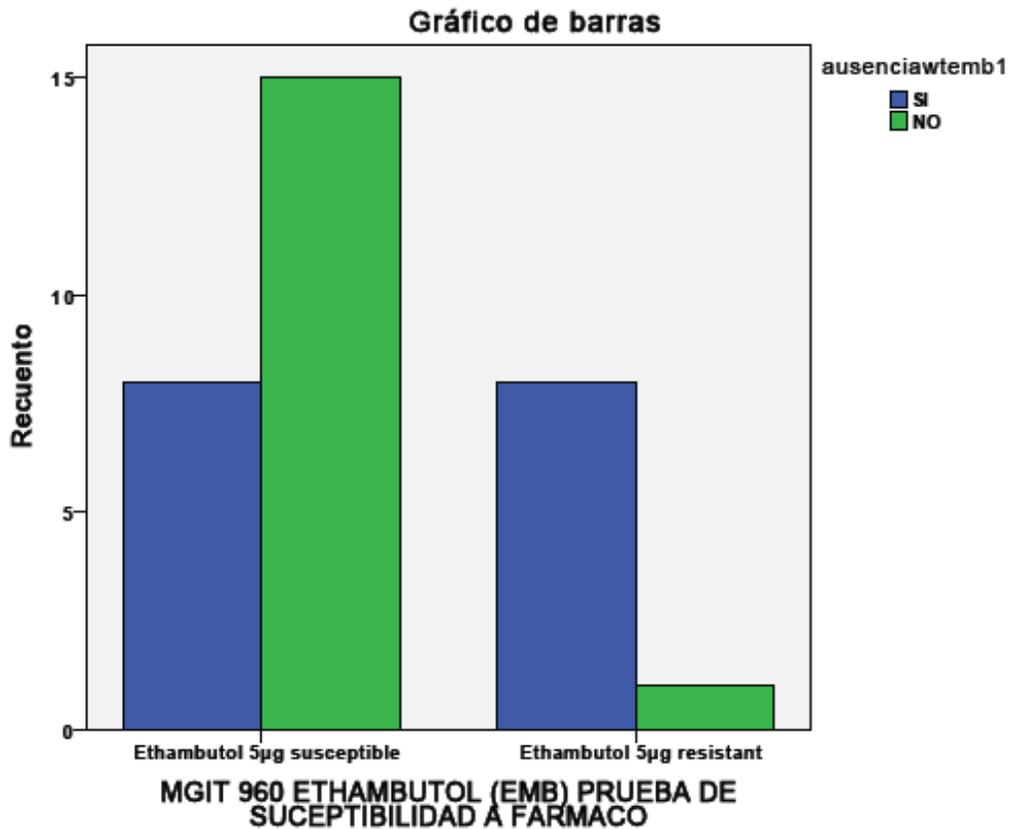
GRAFICA 28: AUSENCIA DE WT2 inhA ASOCIADA CON RESISTENCIA A ISONIAZIDA POR SIRE.

La presencia de resistencia a Etambutol por Genotipificación se presenta cuando existe ausencia de WT emb o bien cuando presenta mutaciones en el gen emb1a o emb1b. Las resistencias para Etambutol por genotipificación se realizaron en 32 muestras que representa el 9.6% del total de las muestras obtenidas (332), de las cuales; se encontró ausencia de WT emb1 en 16 muestras (4.1%), mutación en el gen emb1a en 1 muestras (0.3%) mutaciones en emb1b 2 muestras (0.6%).

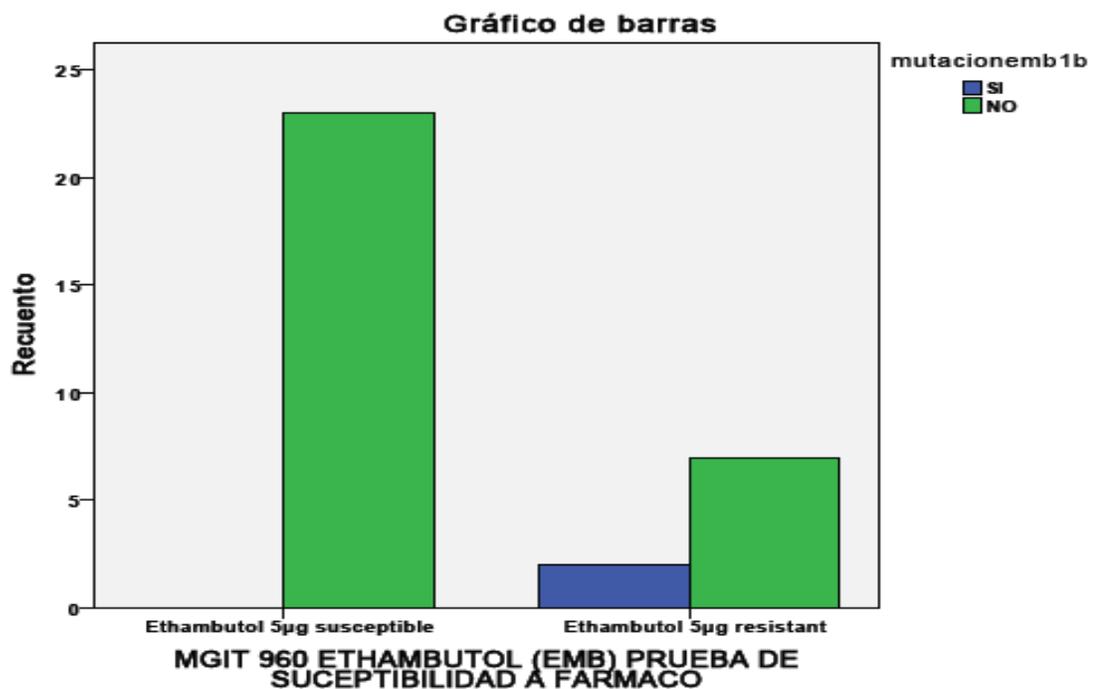


GRAFICA 29: PRESENCIA DE RESISTENCIA A ETAMBUTOL POR GENOTIPIFICACION DEL TOTAL DE LAS MUESTRAS.

De estas muestras se compararon con los resultados mediante SIRE para comparar las resistencias por fenotipificación: Se observó que solo 8 (25%) de las muestras con ausencia de WT emb1 tenían resistencia mediante SIRE a Etambutol, y de las mutaciones emb1a solo 1 (3.1%) presentaba la mutación y de los sensibles sin mutación se encontraron 23 (71.9%) y sin resistencia al fármaco, las mutaciones en emb1b que son resistentes por fenotipificación solo 2 (6.3%) presenta la mutación.

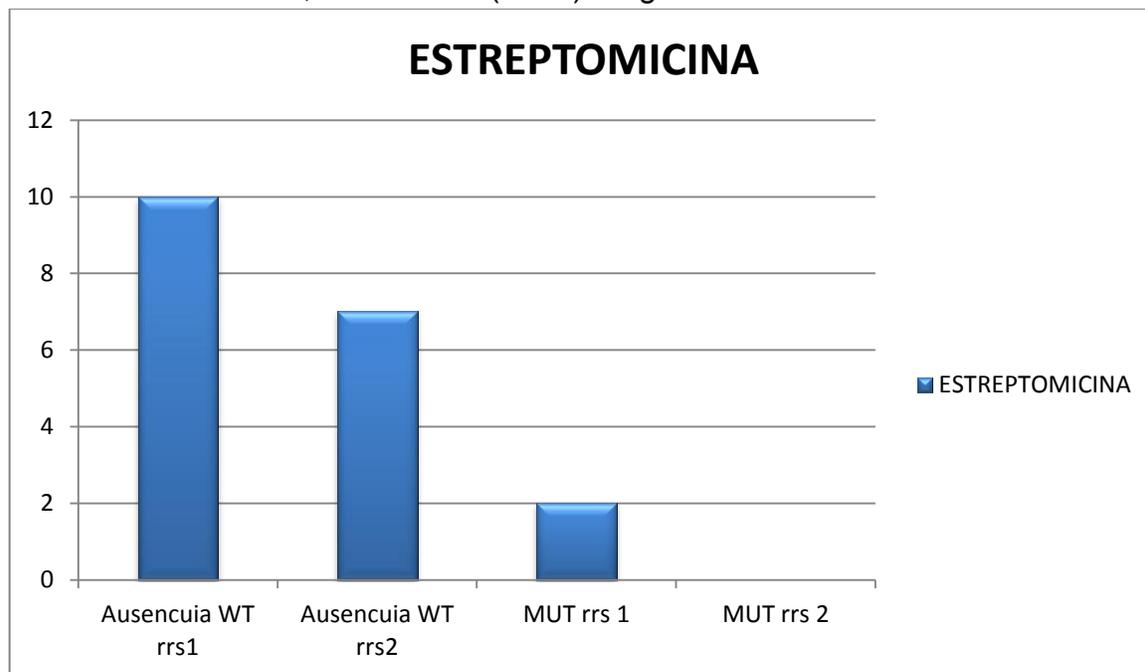


GRAFICA 30: AUSENCIA DE WT emb1 ASOCIADA CON RESISTENCIA A ESTAMBUTOL POR SIRE.



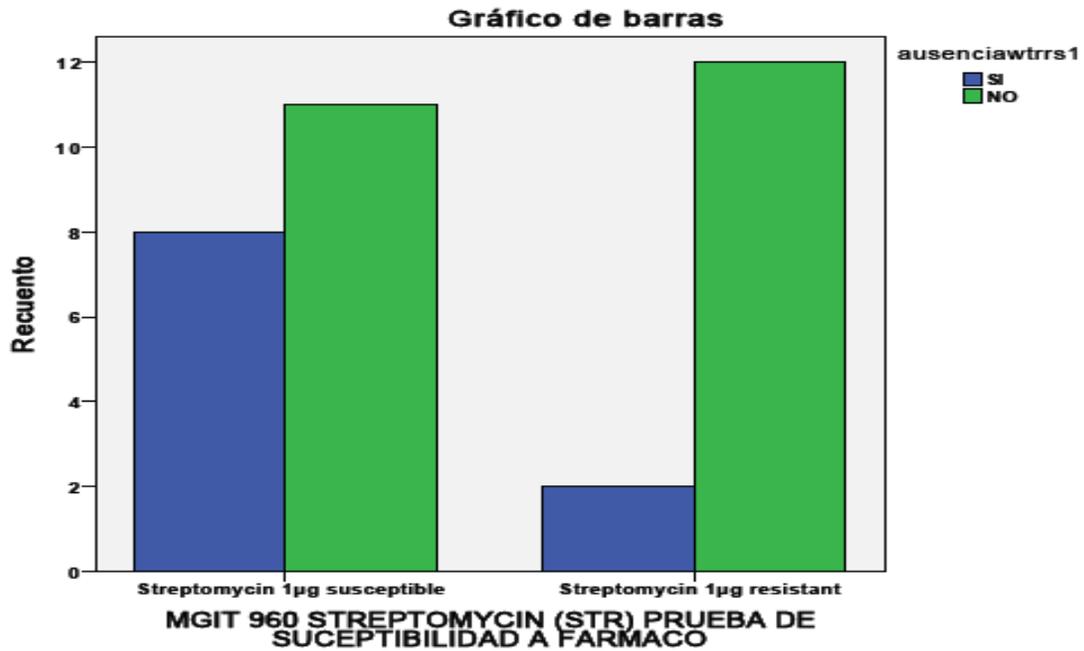
GRAFICA 31: MUTACIÓN emb1 ASOCIADA CON RESISTENCIA A ESTAMBUTOL POR SIRE.

En cuanto a resistencia de Estreptomina se realizaron 33 pruebas para genotipificación de las cuales 10 (3%) presentaron ausencia de WT rrs1, 7 (2.1%) ausencia de WT rrs2, MUT rrs1 2 (0.6%) Ninguna mutación en rrs2.

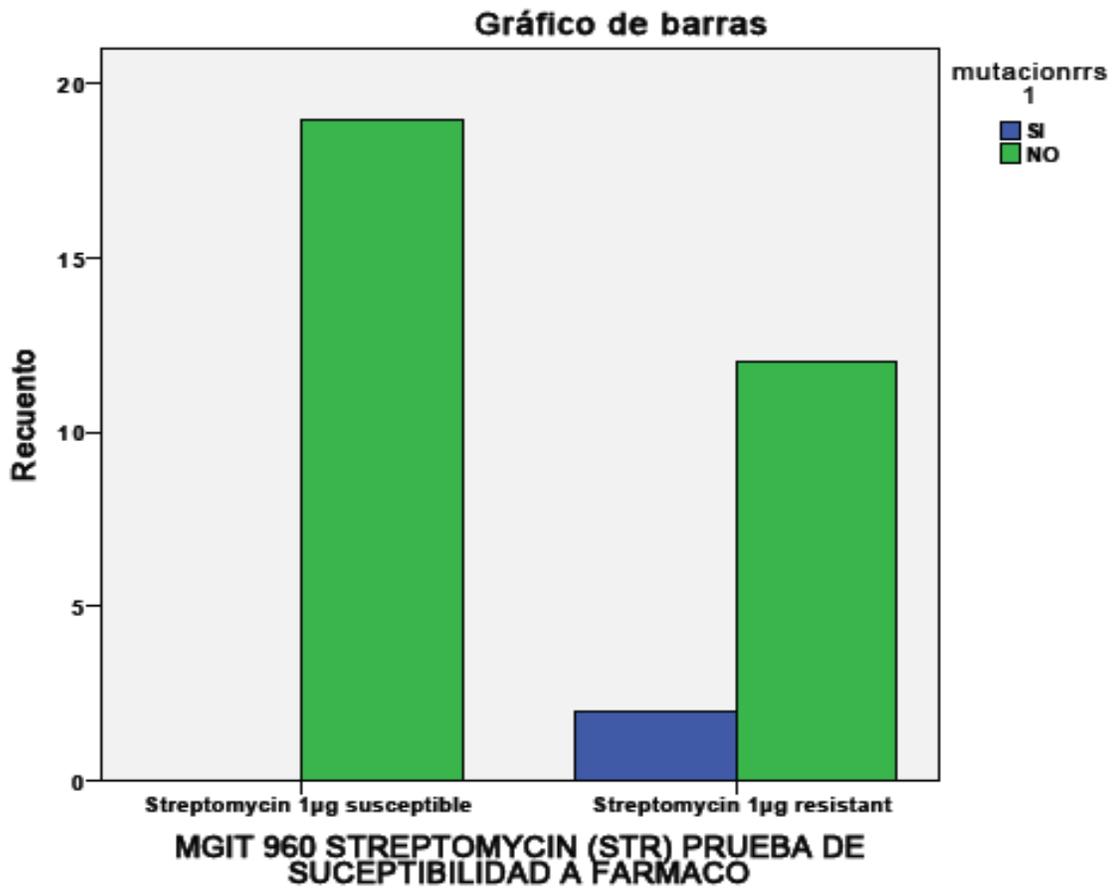


GRAFICA 32: PRESENCIA DE RESISTENCIA A ESTREPTOMICINA POR GENOTIPIFICACION DEL TOTAL DE LAS MUESTRAS.

Quando se compara con los metodos de fenotipicacion de SIRE encontramos que aquellos resistentes a Estrptomicina presentaron 2 (6.1%) de ausencia de WT rrs1, De los resistencia a Estreptomina con ausencia de WTrrs2 en ningun paciente, resistencia a Estreptomina con MUT rrs1 en 2 pacientes (6.1%), Resistentes a Estreptomina con MUT rrs2 en ninguna muestra.



GRAFICA 33: AUSENCIA DE WT rrs1 ASOCIADA CON RESISTENCIA A ESTREPTOMICINA POR SIRE.



GRAFICA 34: MUTACIÓN rrs1 ASOCIADA CON RESISTENCIA A ESTREPTOMICINA POR SIRE

GENES DE RESISTENCIA Y SU ASOCIACION A RESISTENCIA POR SIRE

Se hizo una comparación con la presencia de Ausencia o mutación que le confiere resistencia al fármaco y los resultados de susceptibilidad obtenidos por SIRE, mediante Chi- cuadrada o Prueba exacta de Fisher de acuerdo a la distribución encontrando valores estadísticamente significativos en ausencia de WT emb1 con un valor de p de 0.021 (OR 0.435 IC 0.229 – 0.824).

TABLA 1: DE PRESENCIA DE GENES DE RESISTENCIA Y SU ASOCIACION SON SIRE

VARIABLE	N o		P	Odds ratio	Intervalo de confianza	
	SUCEP TIBLE	RESIST ENTE			Inferior	Superior
RESISTENCIA RIFAMPICINA n=52						
AUSENCIA WT RIF 7	9 17.3%	7 13.5%	0.049	2.233	0.993	5.023
AUSENCIA WT RIF8	9 17.3%	21 40.4%	0.253			
MUT rpoB3	2 3.8%	8 15.4%	0.202			
RESISTENCIA ISONIAZIDA n=52						
AUSENCIA WTinhA1	1 1.9%	9 17.3%	0.314			
AUSENCIA WT inhA2	4 7.7%	21 40.4%	0.297			
MUT katG1	1 1.9%	6 11.5%	0.538			
MUT inhA1	1 1.9%	7 13.5%	0.456			
RESISTENCIA ETAMBUTOL n=33						
AUSENCIA WT EMB1	8 24.2%	8 24.2%	0.021	0.435	0.229	0.824
RESISTENCIA A ESTREPTOMICINA n=33						
AUSENCIA WT rrs1	8 24.2%	2 6.1%	0.089			
MUTACION rrs1						

TABLA 1 PRESENCIA DE RESISTENCIA POR GENOTIPO Y ASOCIACION CON SIRE

RIFAMPICINA

Se analizo la resistencia a cada famarco de primera linea ya sea por ausencia de Wild Type o por encontrar alguna mutacion en los genes, las mas prevalentes se realizo prueba Chi cuadrada o prueba exacta de fisher de las variables cualitativas asociadas a la resistencia de las variables epidemiológicas, clinicas, los antecedentes, o bien en caso de variables cuantitativas se analizaron mediante Sperman o U de Mann Whtiney para valorar las asociacion a la resistencia.

Entonces en el caso de AUSENCIA WT7, se demostro peso bajo fue asociado a la ausencia de WT7 con una p estadisticamente significativa 0.015 (IC -19.194- -2.1185), asi como talla baja con un valor de p de 0.001 (IC: -15.19- -4.224)

TABLA 2: AUSENCIA DE WT 7 N = 34 MUESTRAS

VARIABLE	N o		P	Odds ratio	Intervalo de confianza	
	Media/frecuencia				Inferior	Superior
	Si 14	No 20				
VARIABLES EPIDEMIOLOGICAS						
TABAQUISMO ACTUAL	2 5.9%	2 5.9%	0.551			
TABAQUISMO PASADO	4 11.8%	7 20.6%	0.495			
ALCOHOLISMO	3 8.8%	3 5.9%	0.328			
HACINAMIENTO	2 5.9%	5 14.7%	0.378			
RECLUSORIO	0 0%	1 2.9%	0.588			
COMORBILIDADES						
OBESIDAD	1 2.9%	1 2.9%	0.661			
DIABETES MELLITUS	5 14.7%	9 26.5%	0.427			
CANCER	0 0%	1 2.9%	0.588			
DESNUTRICION	3 8.8%	5 14.7%	0.572	0.857	0.244	3.015
INMUNODEFICIENCIA	2 5.9%	1 2.9%	0.365			
VIH	4	2	0.173			

	11.8%	5.9%			
INMUNOMODULADORE	1	0	0.412		
	2.9%	0%			
CUADRO CLÍNICO					
INICIO CRÓNICO	12	18	0.551		
	35.3%	52.9%			
FIEBRE	8	12	0.868	0.952	0.534
	23.5%	35.3%			1.697
DIAFORESIS NOCTURNA	4	6	0.618		
	11.8%	17.6%			
MALESTAR GENERAL	6	12	0.324		
	17.6%	35.3%			
TOS	7	14	0.238		
	20.6%	41.2%			
FATIGA	4	7	0.495		
	11.8%	20.6%			
DISNEA	8	6	0.113		
	23.5%	17.6%			
CIANOSIS	2	0	0.162		
	5.9%	0%			
HEMOPTISIS	2	7	0.171		
	5.9%	20.6%			
DOLOR TORACICO	2	4	0.518		
	5.9%	11.8%			
CONFUSION	1	1	0.661		
	2.9%	2.9%			
HIPOREXIA	2	7	0.171		
	5.9%	20.6%			
PERDIDA DE PESO	8	11	0.901		
	23.5%	32.4%			
EXPLORACION FÍSICA					
EDAD	48.06	46.06	0.699		
PESO	54.19	64.88	0.015	-19.194	-2.185
TALLA	158.64	168.35	0.001	-15.19	-4.224
IMC	1.93	2.15	0.446		
FRECUENCIA CARDIACA	86.8	91.65	0.427		
FRECUENCIA RESPIRATORIA	21.71	24.80	0.068	-6.42	0.248

PAS	100.57	109.75	0.228			
PAD	62.14	64.7	0.559			
SATURACION O2	89.21	94.35	0.204			
ESTERTORES	9 26.5%	18 52.9%	0.083	0.714	0.471	1.084
LINFADENOPATIA	4 11.8%	2 5.9%	0.173			
ALTERACIONES SNC	1 2.9%	1 2.9%	0.412			
CAQUEXIA	3 8.8%	6 17.6%	0.440			
EVOLUCION						
DÍAS CULTIVO + MGIT						
DÍAS CULTIVO + LJ						
LABORATORIO						
HEMOGLOBINA	12.3	11.69	0.487			
HEMATOCRITO	36.82%	35.46	0.618			
PLAQUETAS	323.29	346.63	0.568			
LEUCOCITOS	9.15	9.18	0.984			
NEUTROFILOS	69.84	74.91	0.420			
LINFOCITOS	25.75	14.19	0.350			
CREATININA	0.79	0.28	0.764			
DHL	183.79	204.53	0.646			
TRATAMIENTO PREVIO						
PRIMERA LINEA	7 20.6%	15 44.1	0.133			
DURACION TRATAMIENTO	2.83	4.45	0.193			
SEDUNDA LINEA	0 0%	3 8.8%	0.191			
DURACION TRATAMIENTO	0	1.8	0.083	-3.857	0.257	
INTERRUPCION DE TRATAMIENTO	1 2.9%	1 2.9%	0.640			
DESENLACE						
MUERTE	0 0%	2 5.9%	0.339			

TABLA 2: AUSENCIA DE WT7 rpoB CON ASOCIACION A VARIABLES CLINICAS.

AUSENCIA WT8 se observo tendencia a presentar datos de respuesta inflamatoria sistematica cuando existe la ausencia de WT8 sin embargo solo se encontro relevancia estadistica en frecuencia cardiaca elevada con un valor de p de 0.007 (IC 4.439 – 25.151)

TABLA 3: AUSENCIA DE WT 8 N = 34 MUESTRAS

VARIABLE	N o		P	Odds ratio	Intervalo de confianza	
	Media/frecuencia				Inferior	Superior
	Si 21	No 13				
VARIABLES EPIDEMIOLOGICAS						
TABAQUISMO ACTUAL	3 8.8%	1 2.9%	0.502			
TABAQUISMO PASADO	9 26.5%	2 5.9%	0.097	2.786	0.710	10.932
ALCOHOLISMO	3 8.8%	2 5.9%	0.647			
HACINAMIENTO	4 11.8%	3 8.8%	0.552			
RECLUSORIO	0 0%	1 2.9%	0.382			
COMORBILIDADES						
OBESIDAD	1 2.9%	1 2.9%	0.626			
DIABETES MELLITUS	8 23.5%	6 17.6%	0.643			
CANCER	1 2.9%	0 0%	0.618			
DESNUTRICION	5 14.7%	3 8.8%	0.648			
INMUNODEFICIENCIA	3 8.8%	0 0%	0.222			
VIH	3 8.8%	3 8.8%	0.416			
INMUNOMODULADORE	1 2.9%	1 2.9%	0.618			
CUADRO CLÍNICO						
INICIO CRÓNICO	18 52.9%	12 35.3%	0.502			

FIEBRE	15 44.1%	5 14.7%	0.058	1.857	0.887	3.888
DIAFORESIS NOCTURNA	8 23.5%	2 5.9%	0.153			
MALESTAR GENERAL	11 32.4%	7 20.6%	0.934			
TOS	13 38.2%	8 23.5%	0.631			
FATIGA	5 14.7%	6 17.6%	0.176			
DISNEA	9 26.5%	5 14.7%	0.800			
CIANOSIS	1 2.9%	1 2.9%	0.626			
HEMOPTISIS	5 14.7%	4 11.8%	0.475			
DOLOR TORACICO	4 11.8%	2 5.9%	0.584			
CONFUSION	1 2.9%	1 2.9%	0.626			
HIPOREXIA	6 17.6%	3 8.8%	0.525			
PERDIDA DE PESO	11 32.4%	8 23.5%	0.435			
EXPLORACION FÍSICA						
EDAD	48.37	44.36	0.381			
PESO	60.06	61.15	0.828			
TALLA	164.23	164.23	0.952			
IMC	2.05	2.08	0.922			
FRECUENCIA CARDIACA	95.33	80.54	0.007		4.439	25.151
FRECUENCIA RESPIRATORIA	24.33	22.23	0.291			
PAS	104.9	107.69	0.709			
PAD	64.43	62.38	0.597			
SATURACION O2	92.76	91.38	0.719			
ESTERTORES	17 50%	10 29.4%	0.552			
LINFADENOPATIA	4	2	0.584			

	11.8%	5.9%	
ALTERACIONES SNC	1 2.9%	1 2.9%	0.618
CAQUEXIA	5 14.7%	4 11.8%	0.475
EVOLUCION			
DÍAS CULTIVO + MGIT	13.81	14.47	0.807
DÍAS CULTIVO + LJ	34.65	31.27	0.434
LABORATORIO			
HEMOGLOBINA	11.77	12.26	0.551
HEMATOCRITO	35.05	37.77	0.293
PLAQUETAS	341.00	329.25	0.795
LEUCOCITOS	9.66	8.30	0.304
NEUTROFILOS	75.52	67.93	0.286
LINFOCITOS	14.04	27.95	0.336
CREATININA	0.80	0.84	0.795
DHL	203.24	182.58	0.676
TRATAMIENTO PREVIO			
PRIMERA LINEA	15 44.1%	7 20.6%	0.297
DURACION TRATAMIENTO	4.40	2.92	0.198
SEDUNDA LINEA	2 5.9%	1 2.9%	0.678
DURACION TRATAMIENTO	1.14	1.00	0.912
INTERRUPCION DE TRATAMIENTO	2 5.9%	0 0%	0.398
DESENLACE			
MUERTE	1 2.9%	1 2.9%	0.626

TABLA 3: AUSENCIA DE WT8 rpoB CON ASOCIACION A VARIABLES CLINICAS.

MUTACIÓN rpoB 3: Los pacientes que presentaron la mutación presentaron menor tendencia a presentar Hiporexia como parado con aquellos que no tenían la mutación con una p estadísticamente significativa de 0.031 (IC 1.408 – 9.901).

TABLA 4: MUTACION rpoB3 N = 34 MUESTRAS

VARIABLE	N o		P	Odds ratio	Intervalo de confianza	
	Media/frecuencia				Inferior	Superior
	Si 6	No 28				
VARIABLES EPIDEMIOLOGICAS						
TABAQUISMO ACTUAL	0 0%	4 11.8%	0.441			
TABAQUISMO PASADO	4 11.8%	7 20.6%	0.070	2.667	1.134	6.273
ALCOHOLISMO	0 0%	5 14.7%	0.353			
HACINAMIENTO	1 2.9%	6 17.6%	0.640			
RECLUSORIO	0 0%	1 2.9%	0.824			
COMORBILIDADES						
OBESIDAD	1 2.9%	1 2.9%	0.326			
DIABETES MELLITUS	4 11.8%	10 29.4%	0.173			
CANCER	1 2.9%	0 0%	0.176			
DESNUTRICION	2 5.9%	6 17.6%	0.438			
INMUNODEFICIE NCIA	1 2.9%	2 5.9%	0.453			
VIH	0 0%	6 17.6%	0.280			
INMUNOMODULADORE	0 0%	1 2.9%	0.824			
CUADRO CLÍNICO						
INICIO CRÓNICO	6 17.6%	24 70.6%	0.441			

FIEBRE	4 11.8%	16 47.1%	0.518			
DIAFORESIS NOCTURNA	2 5.9%	8 23.5%	0.584			
MALESTAR GENERAL	4 11.8%	14 41.2%	0.389			
TOS	4 11.8%	17 50%	0.584			
FATIGA	2 5.9%	9 26.5%	0.650			
DISNEA	3 8.8%	11 32.4%	0.482			
CIANOSIS	0 0%	2 5.9%	0.674			
HEMOPTISIS	2 5.9%	7 20.6%	0.513			
DOLOR TORACICO	1 2.9%	5 14.7%	0.719			
CONFUSION	0 0%	2 5.9%	0.674			
HIPOREXIA	4 11.8%	5 14.7%	0.031	3.733	1.408	9.901
PERDIDA DE PESO	3 8.8%	16 47.1%	0.548			
EXPLORACION FÍSICA						
EDAD	51.60	45.5	0.370			
PESO	66.67	59.15	0.339			
TALLA	170.83	162.96	0.012		2.047	13.691
IMC	2.17	2.04	0.801			
FRECUENCIA CARDIACA	94.17	88.71	0.525			
FRECUENCIA RESPIRATORIA	25.50	23.11	0.378			
PAS	103.00	106.61	0.777			
PAD	62.00	64.00	0.819			
SATURACION O2	95.83	91.46				
ESTERTORES	6 17.6%	21 61.8%	0.220			
LINFADENOPATIA	0	6	0.280			

	0%	17.6%	
ALTERACIONES SNC	0	1	0.824
	0%	2.9%	
CAQUEXIA	2	7	0.513
	5.9%	20.6%	
EVOLUCION			
DÍAS CULTIVO + MGIT	17.14	13.42	0.385
DÍAS CULTIVO + LJ	37.33	32.34	0.459
LABORATORIO			
HEMOGLOBINA	12.73	11.77	0.502
HEMATOCRITO	38.9	35.40	0.407
PLAQUETAS	346.17	334.63	0.880
LEUCOCITOS	8.65	9.28	0.694
NEUTROFILOS	75.5	72.15	0.558
LINFOCITOS	16.50	19.67	0.659
CREATININA	0.77	0.83	0.598
DHL	170.33	201.37	0.386
TRATAMIENTO PREVIO			
PRIMERA LINEA	5	17	0.290
	14.7%	50%	
DURACION TRATAMIENTO	5.50	3.46	0.172
SEDUNDA LINEA	1	2	0.453
	2.9%	5.9%	
DURACION TRATAMIENTO	2	0.89	0.615
INTERRUPCION DE TRATAMIENTO	0	2	0.665
	0%	5.9%	
DESENLACE			
MUERTE	1	1	0.326
	2.9%	2.9%	

TABLA 4: MUTACION rpoB3 CON ASOCIACION A VARIABLES CLINICAS.

ISONIAZIDA

AUSENCIA WT1 inhA: Se encontró que la ausencia de WT1 inhA tuvo menor asociación con DM2 que aquellos que presentaban el gen nativo WT inhA con una p de 0.032 (OR 2.593 IC 1.358 – 4.948). Aquellas muestras que presentaron ausencia de WT1 inhA presentaron un crecimiento más lento en medios de cultivo Lowenstein Jansen que aquellos que presentaron el nativo WT1. Así como se encontró que los que tuvieron ausencia de WT tenían antecedente de haber recibido tratamiento antituberculosis de primera línea siendo significativo el tiempo de duración del tratamiento con una media 7.22 meses con un valor de p de 0.002 (IC 1.881 – 6.075)

TABLA 5: AUSENCIA DE WT 1 inhA N = 34 MUESTRAS

VARIABLE	N o		P	Odds ratio	Intervalo de confianza	
	Media/frecuencia				Inferior	Superior
	Si	No				
	6	28				
VARIABLES EPIDEMIOLOGICAS						
TABAQUISMO ACTUAL	1 2.9%	3 8.8%	0.559			
TABAQUISMO PASADO	2 5.9%	9 26.5%	0.650			
ALCOHOLISMO	1 2.9%	4 11.8%	0.647			
HACINAMIENTO	0 0%	7 20.6%	0.220			
RECLUSORIO	0 0%	1 2.9%	0.824			
COMORBILIDADES						
OBESIDAD	2 5.9%	0 0%	0.027			
DIABETES MELLITUS	5 14.7	9 26.5%	0.032	2.593	1.358	4.948
CANCER	0 0%	1 2.9%	0.824			
DESNUTRICION	1 2.9%	7 20.6%	0.562			
INMUNODEFICIE NCIA	0 0%	3 8.8%	0.547			
VIH	1 2.9%	5 14.7%	0.719			

INMUNOMODULADORE	0 0%	1 2.9%	0.824
CUADRO CLÍNICO			
INICIO CRÓNICO	6 17.6%	24 70.6%	0.441
FIEBRE	4 11.8%	16 47.1	0.518
DIAFORESIS NOCTURNA	2 5.9%	8 23.5%	0.584
MALESTAR GENERAL	4 11.8%	14 41.2%	0.389
TOS	4 11.8%	17 50.0%	0.584
FATIGA	3 8.8%	8 23.5%	0.288
DISNEA	2 5.9%	12 35.5%	0.518
CIANOSIS	0 0%	2 5.9%	0.674
HEMOPTISIS	1 2.9%	8 23.5%	0.487
DOLOR TORACICO	0 0%	6 17.6%	0.280
CONFUSION	0 0%	2 5.9%	0.674
HIPOREXIA	3 8.8%	6 17.6%	0.174
PERDIDA DE PESO	4 11.8%	15 44.1%	0.452
EXPLORACION FÍSICA			
EDAD	47.10	46.57	0.916
PESO	66.25	59.24	0.318
TALLA	162.83	164.48	0.724
IMC	2.67	1.93	0.247
FRECUENCIA CARDIACA	95.50	88.43	0.586
FRECUENCIA RESPIRATORIA	25.17	23.18	0.515
PAS	95.83	108.14	0.239

PAD	61.00	64.21	0.711		
SATURACION O2	88.17	93.11	0.442		
ESTERTORES	4 11.8%	23 67.6%	0.360		
LINFADENOPATI A	0 0%	6 17.6%	0.280		
ALTERACIONES SNC	0 0%	1 2.9%	0.824		
CAQUEXIA	1 2.9%	8 23.5%	0.487		
EVOLUCION					
DÍAS CULTIVO + MGIT	11.91	14.60	0.298		
DÍAS CULTIVO + LJ	43.00	30.75	0.009	3.625	20.875
LABORATORIO					
HEMOGLOBINA	12.08	11.92	0.908		
HEMATOCRITO	36.76	35.88	0.838		
PLAQUETAS	353.00	333.11	0.777		
LEUCOCITOS	10.72	8.82	0.411		
NEUTROFILOS	69.23	73.54	0.755		
LINFOCITOS	9.57	21.21	0.80		
CREATININA	0.79	0.82	0.835		
DHL	168.83	201.70	0.380		
TRATAMIENTO PREVIO					
PRIMERA LINEA	5 14.7%	17 50%	0.290		
DURACION TRATAMIENTO	7.20	3.22	0.002	1.881	6.075
SEGUNDA LINEA	1 2.9%	2 5.9%	0.453		
DURACION TRATAMIENTO	2.40	0.86	0.563		
INTERRUPCION DE TRATAMIENTO	0 0%	2 6.1%	0.716		
DESENLACE					
MUERTE	1 2.9%	1 2.9%	0.326		

TABLA 5: AUSENCIA DE WT1 inhA CON ASOCIACION A VARIABLES CLINICAS.

AUSENCIA WT2 inhA: Los pacientes que presentaron la Ausencia de WT2 inhA presentaron cifras de frecuencia respiratoria más baja en comparación con aquellos que si presentaron el gen nativo WT2 con un valor de p de 0.023 (IC - 7.517 -0.621)

TABLA 6: AUSENCIA DE WT2 inhA N = 34 MUESTRAS

VARIABLE	N o		P	Odds ratio	Intervalo de confianza	
	Si 16	No 18			Inferior	Superior
VARIABLES EPIDEMIOLOGICAS						
TABAQUISMO ACTUAL	3 8.8%	1 2.9%	0.257			
TABAQUISMO PASADO	5 14.7%	6 17.6%	0.594			
ALCOHOLISMO	3 8.8%	2 5.9%	0.441			
HACINAMIENTO	3 8.8%	4 11.8%	0.571			
RECLUSORIO	1 2.9%	1 2.9%	0.471			
COMORBILIDADES						
OBESIDAD	0 0%	2 5.9%	0.273			
DIABETES MELLITUS	7 20.6%	7 20.6%	0.774			
DESNUTRICION	5 14.7%	3 8.8%	0.276			
INMUNODEFICIE NCIA	2 5.9%	1 2.9%	0.455			
VIH	4 11.8%	2 5.9%	0.271			
INMUNOMODULADORE	1 2.9%	0 0%	0.471			
CUADRO CLÍNICO						
INICIO CRÓNICO	14 41.2%	16 47.1%	0.652			
FIEBRE	12 35.3%	8 23.5%	0.072	1.688	0.936	3.041

DIÁFORESIS NOCTURNA	7 20.6%	3 8.8%	0.088	2.625	0.812	8.483
MALESTAR GENERAL	8 23.5%	10 29.4%	0.508			
TOS	10 29.4%	11 32.4%	0.934			
FATIGA	5 14.7%	6 17.6%	0.594			
DISNEA	8 23.5%	6 17.6%	0.324			
CIANOSIS	1 2.9%	1 2.9%	0.727			
HEMOPTISIS	4 11.8%	5 14.7%	0.855			
DOLOR TORÁCICO	3 8.8%	3 8.8%	0.611			
CONFUSIÓN	1 2.9%	1 2.9%	0.727			
HIPOREXIA	4 11.8%	5 14.7%	0.583			
PERDIDA DE PESO	9 26.5%	10 29.4%	0.968			
EXPLORACION FÍSICA						
EDAD	47.96	45.48	0.594			
PESO	57.41	63.20	0.211			
TALLA	163.5	165.11	0.598			
IMC	1.88	2.22	0.210			
FRECUENCIA CARDIACA	89.38	89.94	0.926			
FRECUENCIA RESPIRATORIA	21.38	25.44	0.023		-7.517	-0.621
PAS	103.19	108.44	0.501			
PAD	64.44	62.94	0.733			
SATURACION O2	89.44	94.72	0.139			
ESTERTORES	13 38.2%	14 41.2%	0.571			
LINFADENOPATIA	5 14.7%	1 2.9%	0.064			
ALTERACIONES	1	0	0.471			

SNC	2.9%	0%	
CAQUEXIA	4 11.8%	5 14.7%	0.583
EVOLUCION			
DÍAS CULTIVO + MGIT	12.49	15.53	0.245
DÍAS CULTIVO + LJ	34.59	31.89	0.545
LABORATORIO			
HEMOGLOBINA	11.58	12.30	0.400
HEMATOCRITO	34.71	37.29	0.326
PLAQUETAS	338.81	334.76	0.923
LEUCOCITOS	9.98	8.40	0.249
NEUTROFILOS	75.86	69.85	0.268
LINFOCITOS	13.54	24.32	0.292
CREATININA	0.74	0.89	0.282
DHL	182.88	207.82	0.575
TRATAMIENTO PREVIO			
PRIMERA LINEA	10 29.4%	12 35.3%	0.800
DURACION TRATAMIENTO	3.47	4.18	0.545
SEGUNDA LINEA	0 0%	3 8.8%	0.136
DURACION TRATAMIENTO	0	2.12	0.083
INTERRUPCION DE TRATAMIENTO	1 2.9%	1 2.9%	0.742
DESENLACE			
MUERTE	1 2.9%	1 2.9%	0.727

TABLA 6: AUSENCIA DE WT2 inhA CON ASOCIACION A VARIABLES CLINICAS.

MUTACION inhA1: Los pacientes que presentan la mutación inhA1 tiene antecedente de presentar tratamiento previo con fármacos antituberculosis de primera línea con un valor de p de 0.095 (OR 1.706 IC 1.256 – 2.316) así como una mayor duración del tratamiento p 0.002 (IC 1.881 – 6.075)

TABLA 7: MUTACION inhA1 N = 34 MUESTRAS

VARIABLE	N o		P	Odds ratio	Intervalo de confianza	
	Si	No			Inferior	Superior
VARIABLES EPIDEMIOLOGICAS						
TABAQUISMO ACTUAL	1 2.9%	3 8.8%	0.488			
TABAQUISMO PASADO	3. 8.8%	8 23.5%	0.179			
ALCOHOLISMO	1 2.9%	4 11.8%	0.573			
HACINAMIENTO	1 2.9%	6 17.6%	0.732			
RECLUSORIO	0 0%	1 2.9%	0.853			
COMORBILIDADES						
OBESIDAD	1 2.9%	1. 2.9%	0.276			
DIABETES MELLITUS	3 8.8%	11 32.4%	0.328			
CANCER	0 0%	1 2.9%	0.853			
DESNUTRICION	1 2.9%	7 20.6%	0.66			
VIH	0 0%	6 7.6%	0.353			
INMUNOMODULADORE	0 0%	1 2.9%	0.853			
CUADRO CLÍNICO						
INICIO CRÓNICO	5 14.7%	25 73.5%	0.512			
FIEBRE	3 8.8%	17 50%	0.672			

DIAFORESIS NOCTURNA	2 5.9%	8 23.5%	0.465
MALESTAR GENERAL	4 11.8%	14 41.2%	0.207
TOS	3 8.8%	18 52.9%	0.647
FATIGA	2 5.9%	9 26.5%	0.529
DISNEA	1 2.9%	13 38.2%	0.299
CIANOSIS	0 0%	2 5.9%	0.724
HEMOPTISIS	1 2.9%	8 23.5%	0.600
DOLOR TORACICO	0 0%	6 17.6%	0.353
HIPOREXIA	2 5.9%	7 20.6%	0.400
PERDIDA DE PESO	2 5.9%	17 50%	0.384
EXPLORACION FÍSICA			
EDAD	44.38	47.09	0.632
PESO	66.90	58.89	0.227
TALLA	169.40	163.48	0.132
IMC	2.20	2.03	0.795
FRECUENCIA CARDIACA	103.20	87.40	0.303
FRECUENCIA RESPIRATORIA	26.80	22.97	0.280
PAS	101.60	106.72	0.739
PAD	58.40	64.55	0.533
SATURACION O2	94.20	91.90	0.355
ESTERTORES	5 14.7%	22 64.7%	0.290
LINFADENOPATIA	0. 0%	6 17.6%	0.353
CAQUEXIA	1 2.9%	8 23.5%	0.600
EVOLUCION			

DÍAS CULTIVO + MGIT	13.91	14.14	0.938			
DÍAS CULTIVO + LJ	44.80	31.27	0.004		5.502	21.565
LABORATORIO						
HEMOGLOBINA	12.3	11.88	0.820			
HEMATOCRITO	37.34%	35.81%	0.782			
PLAQUETAS	342.00	35.81	0.933			
LEUCOCITOS	9.40	9.13	0.887			
NEUTROFILOS	78.20	71.79	0.229			
LINFOCITOS	14.4	19.94	0.74			
CREATININA	0.70	0.84	0.309			
DHL	169.90	200.39	0.463			
TRATAMIENTO PREVIO						
PRIMERA LINEA	5 14.7%	17 50%	0.095	1.706	1.256	2.316
DURACION TRATAMIENTO	7.20	3.22	0.002		1.881	6.075
SEDUNDA LINEA	1 2.9%	2 5.9%	0.389			
DURACION TRATAMIENTO	2.40	0.86	0.563			
INTERRUPCION DE TRATAMIENTO	0 0%	2 5.9%	0.716			
DESENLACE						
MUERTE	1 2.9%	1 2.9%	0.276			

TABLA 7: MUTACIÓN inhA1 CON ASOCIACION A VARIABLES CLINICAS.

ASOCIACIÓN MUT katG e inhA: principalmente se observó resultados significativo para variables clínicas como: en disnea aquellos pacientes que presentaron mutaciones tanto en katG como inhA presentaron menor disnea que aquellos que no tenían la doble mutación con un valor de p de 0.079 (OR 2.320 IC 1.192 – 4.516), dolor torácico con una p de 0.029 (OR 5.800 IC 1.599 – 21.038), la saturación fue más elevada en paciente con esta mutación con un valor de p de 0.009 (IC 1.518 – 9.655).

TABLA 8: ASOCIACION MUTACION katG/inhA N = 34 MUESTRAS

VARIABLE	N o		P	Odds ratio	Intervalo de confianza	
	Si	No			Inferior	Superior
VARIABLES EPIDEMIOLOGICAS						
TABAQUISMO ACTUAL	0 0%	4 11.8%	0.512			
TABAQUISMO PASADO	2 5.9%	9 26.5%	0.529			
ALCOHOLISMO	0 0%	5 14.5%	0.427			
HACINAMIENTO	1 2.9%	6 17.6%	0.732			
RECLUSORIO	0 0%	1 2.9%	0.853			
COMORBILIDADES						
OBESIDAD	0 0%	2 5.9%	0.724			
DIABETES MELLITUS	1 2.9%	13 38.2%	0.299			
CANCER	1 2.9%	0 0%	0.147			
DESNUTRICION	1 2.9%	7 20.6%	0.66			
VIH	0 0.0%	6 17.6%	0.353			
INMUNOMODULADORE	0 0.0%	1 2.9%	0.853			
CUADRO CLÍNICO						
INICIO CRÓNICO	5 14.7%	25 73.5%	0.512			

FIEBRE	4 11.8%	16 47.1%	0.299			
DIAFORESIS NOCTURNA	2 5.9%	8 23.5%	0.465			
MALESTAR GENERAL	1 2.9%	17 50%	0.133			
TOS	2 5.9%	19 55.9%	0.274			
FATIGA	1 2.9%	1 2.9%	0.471			
DISNEA	4 11.8%	10 29.4%	0.079	2.320	1.192	4.516
HEMOPTISIS	1 2.9%	8 23.5%	0.600			
DOLOR TORACICO	3 8.8%	3 8.8%	0.029	5.800	1.599	21.038
CONFUSION	0 0.0%	2 5.9%	0.724			
HIPOREXIA	1 2.9%	8 23.5%	0.600			
PERDIDA DE PESO	3 8.8%	16 47.1	0.616			
EXPLORACION FÍSICA						
EDAD	49.00	46.31	0.704			
PESO	56.10	61.23	0.361			
TALLA	162.00	164.76	0.495			
IMC	1.80	2.10	0.263			
FRECUENCIA CARDIACA	83.60	90.72	0.135			
FRECUENCIA RESPIRATORIA	24.00	23.45	0.872			
PAS	101.20	106.79	0.369			
PAD	62.60	63.83	0.844			
SATURACION O2	97.00	91.41	0.009		1.518	9.655
ESTERTORES	5 14.7%	22 64.7%	0.290			
LINFADENOPATI A	1 2.9%	5 17.6%	0.647			
CAQUEXIA	2	7	0.400			

	5.9%	20.5%			
EVOLUCION					
DÍAS CULTIVO + MGIT	14.31	14.07	0.957		
DÍAS CULTIVO + LJ	32.67	33.31	0.872		
LABORATORIO					
HEMOGLOBINA	12.70	11.81	0.181		
HEMATOCRITO	38.92	35.52	0.076	-3.846	7.1675
PLAQUETAS	332.20	337.54	0.893		
LEUCOCITOS	7.60	9.45	0.107		
NEUTROFILOS	67.06	73.78	0.088	-14.519	1.082
LINFOCITOS	17.80	19.33	0.842		
CREATININA	0.66	0.84	0.045		
DHL	159.80	202.14	0.297		
TRATAMIENTO PREVIO					
PRIMERA LINEA	2 5.9%	20 58.8%	0.225		
DURACION TRATAMIENTO	3.20	3.96	0.737		
SEDUNDA LINEA	0 0%	3 8.8%	0.611		
DURACION TRATAMIENTO	0 0%	1.29	0.083		
INTERRUPCION DE TRATAMIENTO	0 0%	2 5.9%	0.724		
DESENLACE					
MUERTE	0 0.0%	2 5.9%	0.724		

TABLA 8: PRESENCIA DE MUTACIÓN katG/inhA1 CON ASOCIACION A VARIABLES CLINICAS.

ETAMBUTOL

AUSENCIA WT emb1: Se observó la variable frecuencia cardiaca más elevada en aquellos que tuvieron ausencia de WT emb1 con una p de 0.056 (IC: -0.384 28.901)

TABLA 9: AUSENCIA DE WT emb1 N = 24 MUESTRAS

VARIABLE	N o		P	Odds ratio	Intervalo de confianza	
	Media/frecuencia				Inferior	Superior
	Si	No				
	11	13				
VARIABLES EPIDEMIOLOGICAS						
TABAQUISMO ACTUAL	3 12.5%	1 4.2%	0.233			
TABAQUISMO PASADO	4 16.7%	4 16.7%	0.556			
ALCOHOLISMO	2 8.3%	1 4.2%	0.435			
HACINAMIENTO	3 12.5%	3 12.5%	0.590			
RECLUSORIO	0 0.0%	1 4.2%	0.542			
COMORBILIDADES						
DIABETES MELLITUS	2 8.3%	6 25%	0.156			
DESNUTRICION	2 8.3%	4 16.7%	0.410			
VIH	2 8.3%	2 8.3%	0.637			
CUADRO CLÍNICO						
INICIO CRÓNICO	10 41.7%	12 50%	0.717			
FIEBRE	7 29.2%	9 37.5%	0.556			
DIAFORESIS NOCTURNA	3 12.5%	3 12.5%	0.590			
MALESTAR GENERAL	5 20.8%	8 33.3%	0.353			
TOS	7	8	0.625			

	29.2%	33.3%			
FATIGA	3 12.5%	6 25%	0.300		
DISNEA	2 8.3%	8 33.3%	0.040		
HEMOPTISIS	2 8.3%	5 20.8%	0.264		
DOLOR TORACICO	2 8.3%	4 16.7%	0.410		
HIPOREXIA	0 0%	7 29.2%	0.005		
PERDIDA DE PESO	7 29.2%	8 33.3%	0.625		
EXPLORACION FÍSICA					
EDAD	39.88	46.18	0.287		
PESO	61.82	57.82	0.478		
TALLA	165.73	164.92	0.811		
IMC	1.82	1.92	0.671		
FRECUENCIA CARDIACA	98.18	83.92	0.056	-0.384	28.901
FRECUENCIA RESPIRATORIA	24.73	23.62	0.667		
PAS	101.27	102.38	0.889		
PAD	62.45	61.46	0.839		
SATURACION O2	93.64	92.23	0.698		
ESTERTORES	9 37.5%	11 45.8%	0.637		
LINFADENOPATIA	4 16.7%	1 4.2%	0.112		
CAQUEXIA	2 8.3%	6 25%	0.156		
EVOLUCION					
DÍAS CULTIVO + MGIT	16.094	15.013	0.770		
DÍAS CULTIVO + LJ	36.27	31.50	0.416		
LABORATORIO					
HEMOGLOBINA	11.95	12.27	0.776		
HEMATOCRITO	35.52	37.62	0.535		

PLAQUETAS	346.73	341.17	0.913
LEUCOCITOS	9.82	8.89	0.588
NEUTROFILOS	74.03	75.67	0.682
LINFOCITOS	12.83	28.92	0.267
CREATININA	0.72	0.85	0.445
DHL	183.27	204.00	0.720
TRATAMIENTO PREVIO			
PRIMERA LINEA	9 37.5%	8 33.3	0.264
DURACION TRATAMIENTO	5.5	3.15	0.088
SEDUNDA LINEA	1 4.2%	2 8.3%	0.565
DURACION TRATAMIENTO	1.09	1.85	0.653
INTERRUPCION DE TRATAMIENTO	1 42%	0 0.0%	0.458
DESENLACE			
MUERTE	0 0.0%	2 8.3%	0.283

TABLA 9: AUSENCIA DE WT emb1 CON ASOCIACION A VARIABLES CLINICAS.

ESTREPTOMICINA

AUSENCIA WT rrs1; En el caso de esta ausencia se observó que aquello paciente que la presentaban tenían menor disnea con una p de 0.097 (OR 0.270 IC 0.42 – 1. 749).

TABLA 10: AUSENCIA DE WT rrs1 N = 24 MUESTRAS

VARIABLE	N o		P	Odds ratio	Intervalo de confianza	
	Si	No			Inferior	Superior
	7	17				
VARIABLES EPIDEMIOLOGICAS						
TABAQUISMO ACTUAL	2 8.3%	2 8.3%	0.328			
TABAQUISMO PASADO	2 8.3%	6 25.0%				
ALCOHOLISMO	0 0%	3 12.5%	0.336			
HACINAMIENTO	1 4.2%	5 20.8%	0.414			
COMORBILIDADES						
DIABETES MELLITUS	2 8.3%	6 25%	0.572			
DESNUTRICION	1 4.2%	5 20.8%	0.414			
VIH	2 8.3%	2 8.3%	0.328			
CUADRO CLÍNICO						
INICIO CRÓNICO	6 25%	16 66.7%	0.507			
FIEBRE	6 25%	10 41.7%	0.218			
DIAFORESIS NOCTURNA	2 8.3%	4 16.7%	0.586			
MALESTAR GENERAL	2 8.3%	11 45.8%	0.122			
TOS	2 12.5%	12 20%	0.208			

FATIGA	1 4.2%	8 33.3%	0.149			
DISNEA	1 4.2%	9 37.5%	0.097	0.270	0.42	1.749
HEMOPTISIS	1 4.2%	6 25%	0.306			
DOLOR TORACICO	1 4.2%	5 20.8%	0.414			
HIPOREXIA	0 0%	7 29.2%	0.056			
PERDIDA DE PESO	5 20.8%	10 41.7%	0.461			
EXPLORACION FÍSICA						
EDAD	39.20	44.83	0.350			
PESO	59.49	59.74	0.962			
TALLA	164.71	165.53	0.779			
IMC	1.86	1.88	0.910			
FRECUENCIA CARDIACA	92.29	89.71	0.704			
FRECUENCIA RESPIRATORIA	22.86	24.65	0.454			
PAS	92.86	105.59	0.068			
PAD	57.71	63.65	0.187			
SATURACION O2	93.86	92.47	0.638			
ESTERTORES	5 20.8%	15 62.5%	0.328			
LINFADENOPATIA	3 12.5%	2 8.3%	0.126			
CAQUEXIA	2 8.3%	6 25%	0.572			
EVOLUCION						
DÍAS CULTIVO + MGIT	13.40	16.353	0.392			
DÍAS CULTIVO + LJ	36.00	32.81	0.676			
LABORATORIO						
HEMOGLOBINA	12.27	12.05	0.859			
HEMATOCRITO	36.1	36.85	0.838			
PLAQUETAS	346.29	342.75	0.942			

LEUCOCITOS	9.86	9.11	0.730
NEUTROFILOS	73.47	75.50	0.624
LINFOCITOS	13.59	24.56	0.316
CREATININA	0.75	0.81	0.676
DHL	191.43	195.25	0.957
TRATAMIENTO PREVIO			
PRIMERA LINEA	6 25%	11 45.8%	0.306
DURACION TRATAMIENTO	5.67	3.65	0.216
SEDUNDA LINEA	1 4.2%	2 8.3%	0.664
DURACION TRATAMIENTO	1.71	1.41	0.881
INTERRUPCION DE TRATAMIENTO	1 4.2%	0 0.0%	0.292
DESENLACE			
MUERTE	0 0.0%	2 8.3%	0.493

CUADRO 10: AUSENCIA DE WT rrs1 CON ASOCIACION A VARIABLES CLINICAS.

ASOCIACION DE GENES DE RESISTENCIA Y SU ASOCIACIÓN CON LA SEVERIDAD RADIOLOGICA.

Se realizó análisis radiográfico de acuerdo a la escala de severidad en Radiografía de Baez y Cols en donde se evalúa el parénquima pulmonar en cuatro cuadrantes, con la división entre el lóbulo superior e inferior en ambos lados usando arbitrariamente la sección a nivel de la Carina. A cada cuadrante se le otorgo una calificación de 0 a 5, donde 0 indicaba apariencia normal y 5 indicaba severa anormalidad. La escala representa el porcentaje del parénquima pulmonary afectado. El puntaje máximo para las cuatro zonas es de 20. ¹³ los estudios tanto radiográficos como tomográficos fueron revisados con la participación de Medico Radiólogo del servicio de Imagenología INER.

TABLA 11 ANALISIS DE ESCALA BAEZ Y SU ASOCIACION CON GENES DE RESISITENCIA

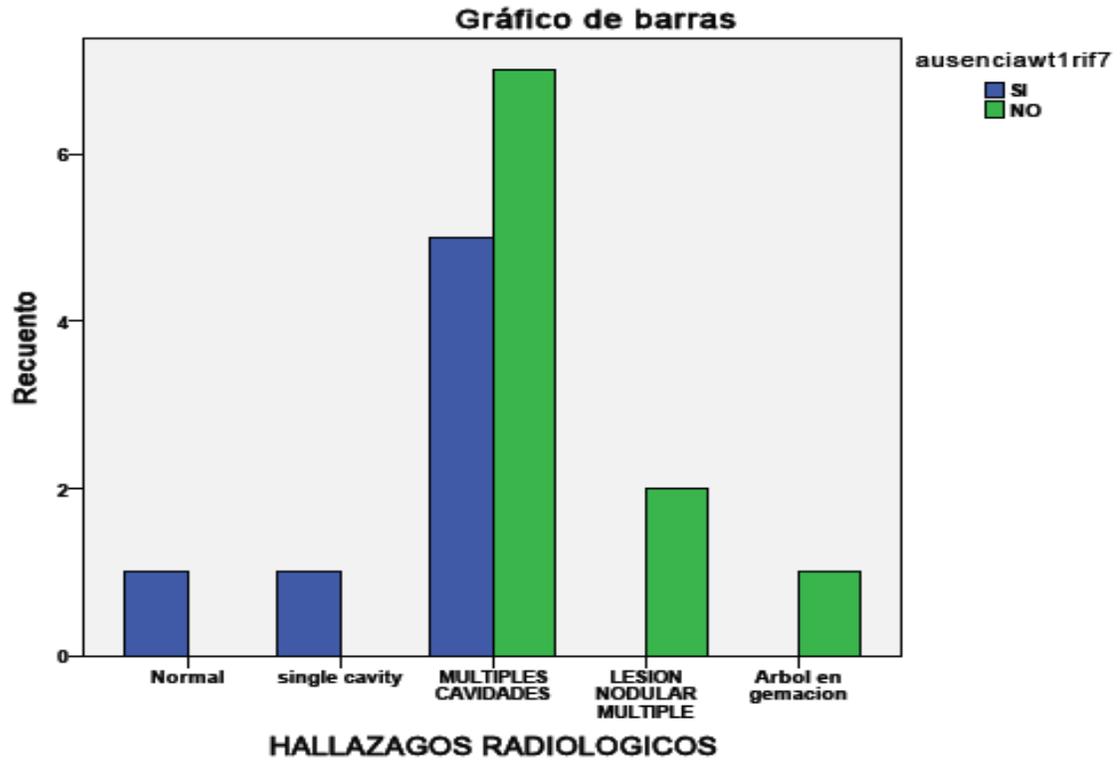
VARIABLE	N o		P	Odds ratio	Intervalo de confianza	
	Media/frecuencia				Inferior	Superior
	Si	No				
RESISTENCIA RIFAMPICINA						
AUSENCIA WT RIF 7	10	15	0.132			
AUSENCIA WT RIF8	17	8	0.389			
MUT rpoB3	5	20	0.019	0.968	8.732	
RESISTENCIA ISONIAZIDA						
AUSENCIA WTinhA1	5	20	0.394			
AUSENCIA WT inhA2	11	14	0.875			
MUT katG1	4	21	0.143			
MUT inhA1	3	22	0.697			
RESISTENCIA ETAMBUTOL						
AUSENCIA WT EMB1	9	8	0.211			
RESISTENCIA A ESTREPTOMICINA						
AUSENCIA WT rrs1	6	11	0.173			
MUTACION rrs1	2	15	0.598			

TABLA 11: ASOCIACION GENES DE RESISTENCIA ALTERACIONES RADIOGRAFICAS

Se revisó la severidad radiológica y su asociación con los genes de resistencia más prevalentes por cada fármaco encontrando lo siguiente:

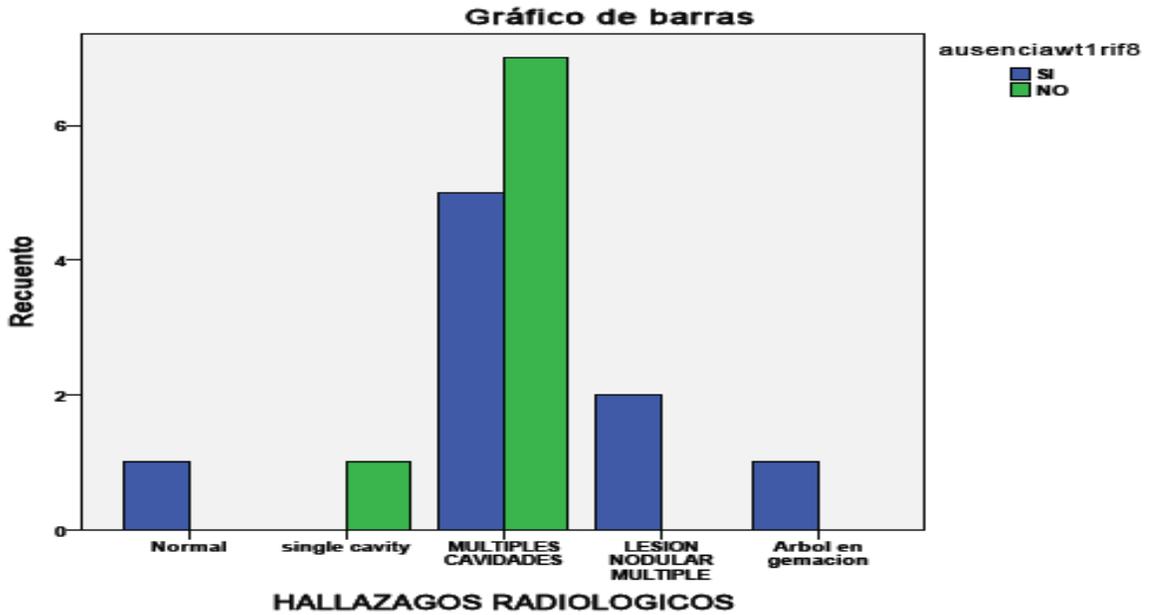
Resistencia de Rifampicina:

Ausencia de WT rif7 no se encontró asociación significativa con los diferentes patrones tomográficos presentando un valor de Chi-cuadrada de Pearson de 0.292, sin embargo observamos que la asociación más prevalente en el caso de ausencia de Wild Type fue con la presencia de múltiples cavernas en la imagen tomográfica.



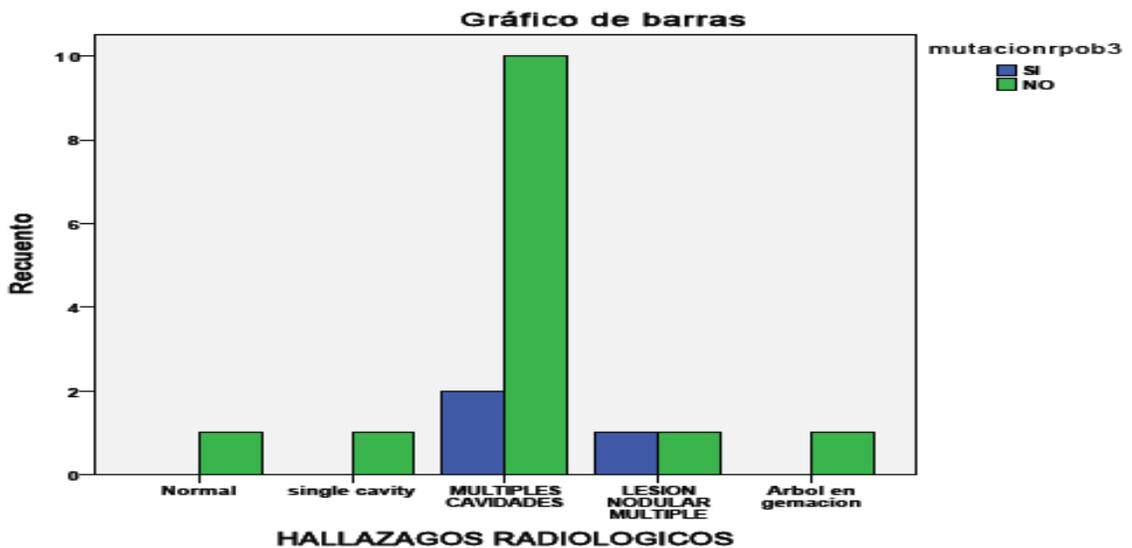
GRAFICA 35: HALLAZGOS RADIOLOGICOS CON SU ASOCIACION CON AUSENCIA DE WT rif7.

Se revisaron 17 imágenes tomográficas que presentaron Ausencia de WT rif8 con relación a los hallazgos tomográficos no se encontró asociación significativa con un valor de chi- cuadrada de 0.259, sin embargo se observó que los pacientes que tienen ausencia a WT rif8 tienen más alteraciones radiográficas que aquellos que presentan el WT, el patrón tomográfico nuevamente es el de cavidades múltiples.



GRAFICA 36: HALLAZGOS RADIOLOGICOS CON SU ASOCIACION CON AUSENCIA DE WT rif8.

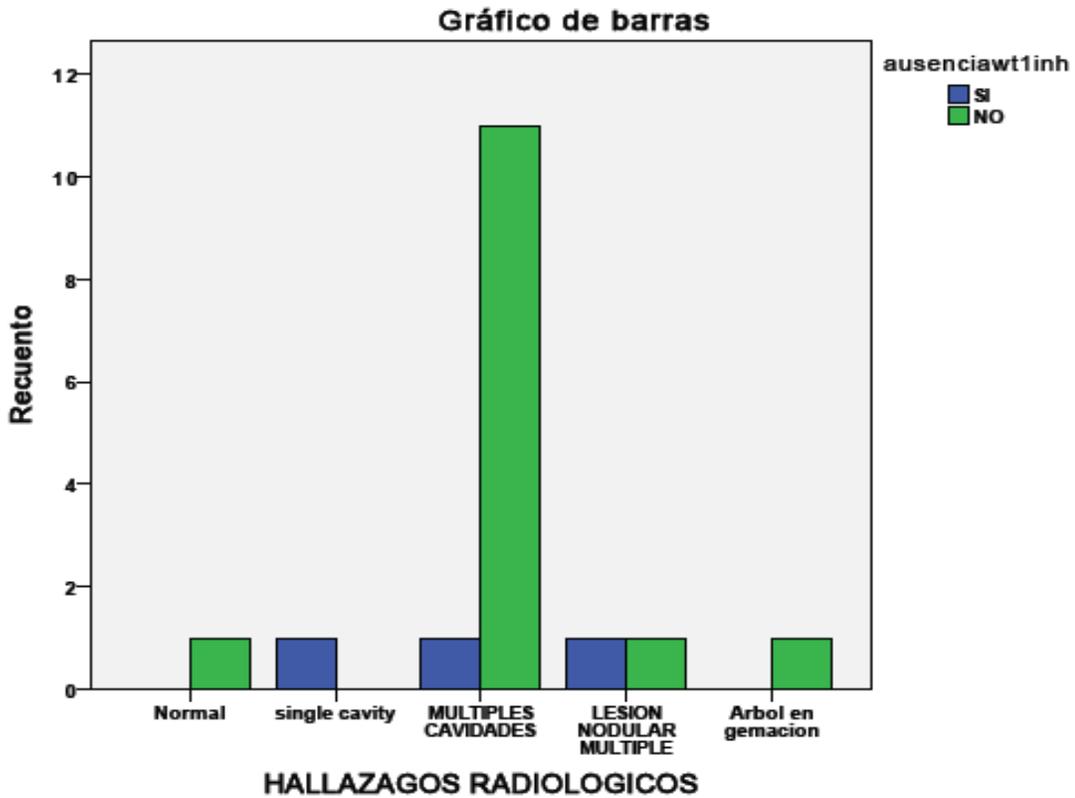
Se revisaron 17 imanes tomográficas de pacientes en donde se documentó resistencia a Rifampicina por presentar mutación rpoB3 no se encuentra asociación estadísticamente significativa con valor de Chi- cuadrada de 0.719 con los diferentes patrones tomográficos. Pero los pacientes que presentan la mutación tienen más alteraciones tomográficas predominando imagen de múltiples cavernas seguido de lesiones nodulares múltiples e imagen de árbol en gemación.



GRAFICA 38: HALLAZGOS RADIOLOGICOS CON SU ASOCIACION CON MUTACION rpoB3.

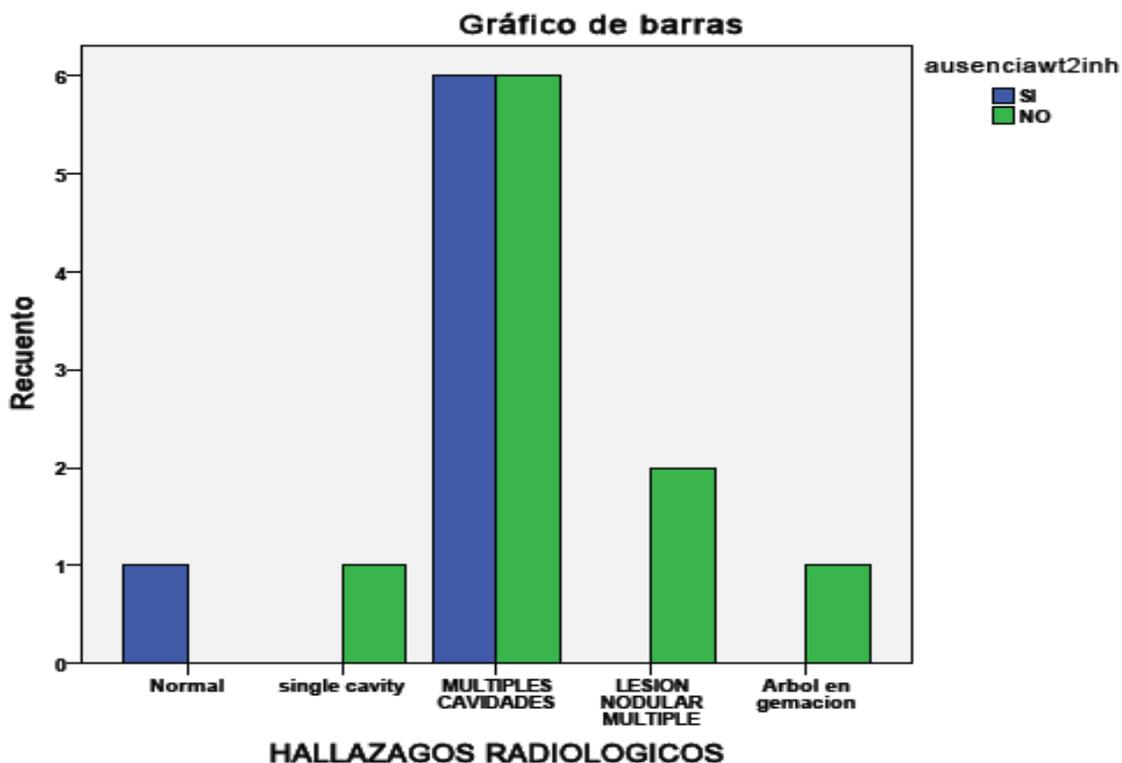
RESISTENCIA A ISONIAZIDA

La resistencia a Isoniazida se valoró mediante la Ausencia de WT inhA1 se encontró la ausencia en 17 pacientes de los que contábamos con estudio tomográfico completo. Los valores de asociación de la ausencia de WT con algún patrón tomográfico no fue estadísticamente significativo con un valor de chi-cuadrado de 0.123, pero la mayoría de los pacientes presentaron múltiples cavernas.



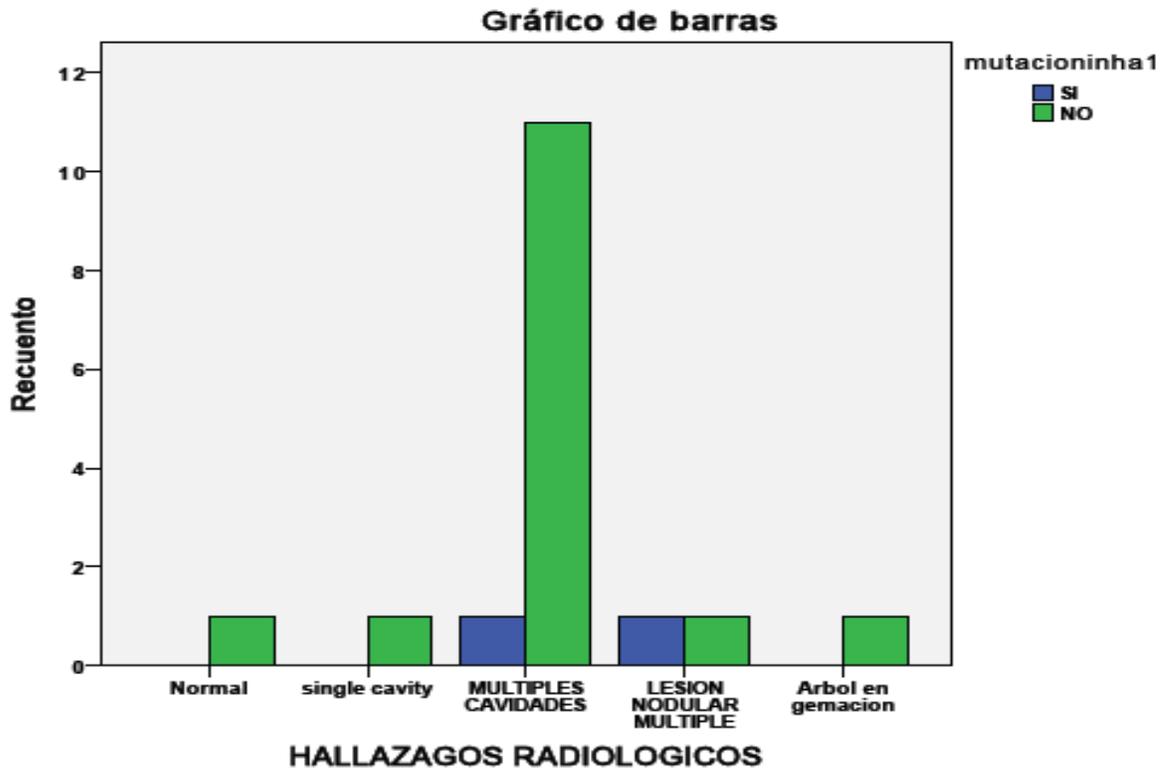
GRAFICA 39: HALLAZGOS RADIOLOGICOS CON SU ASOCIACION CON AUSENCIA DE WT1 inhA.

La ausencia de WT2 inhA se presentaron en 17 pacientes con estudio tomografico no encontrando una asociación significativa con algún patrón tomografico, con chi-cuadrada de 0.329



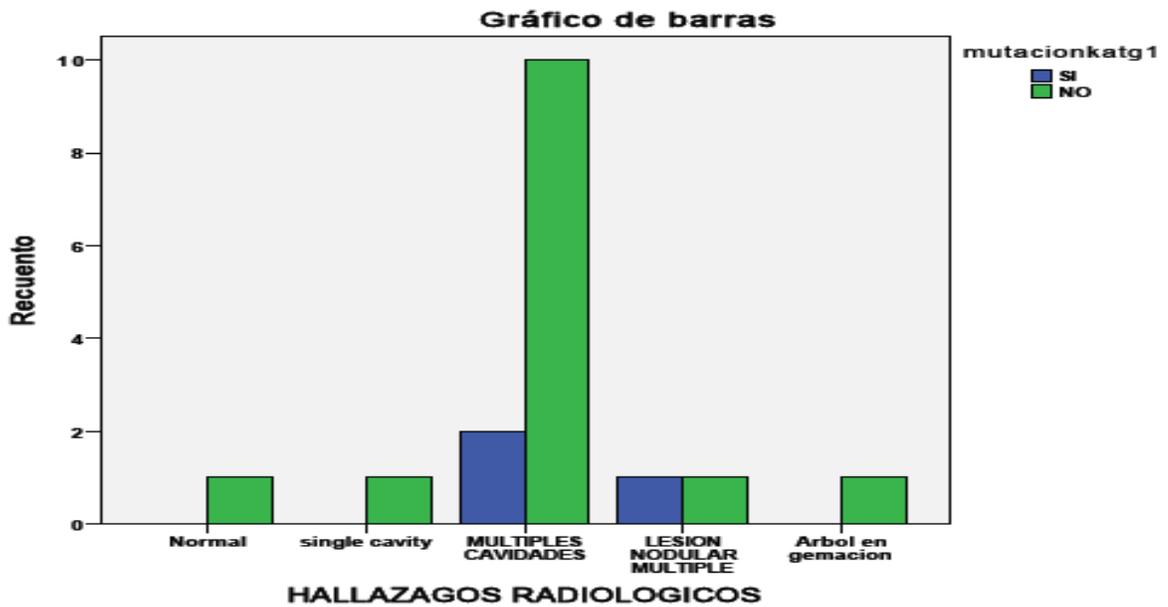
GRAFICA 40: HALLAZGOS RADIOLOGICOS CON SU ASOCIACION CON AUSENCIA DE WT2 inhA.

Mutaciones en inhA1 se encontraron en 17 pacientes de los cuales no se obtuvieron asociaciones significativas en chi-cuadrada con valor de 0.501 se encuentra la enfermedad multicavitaria la más prevalente.



GRAFICA 41: HALLAZGOS RADIOLOGICOS CON SU ASOCIACION CON AUSENCIA DE MUTACION inhA1

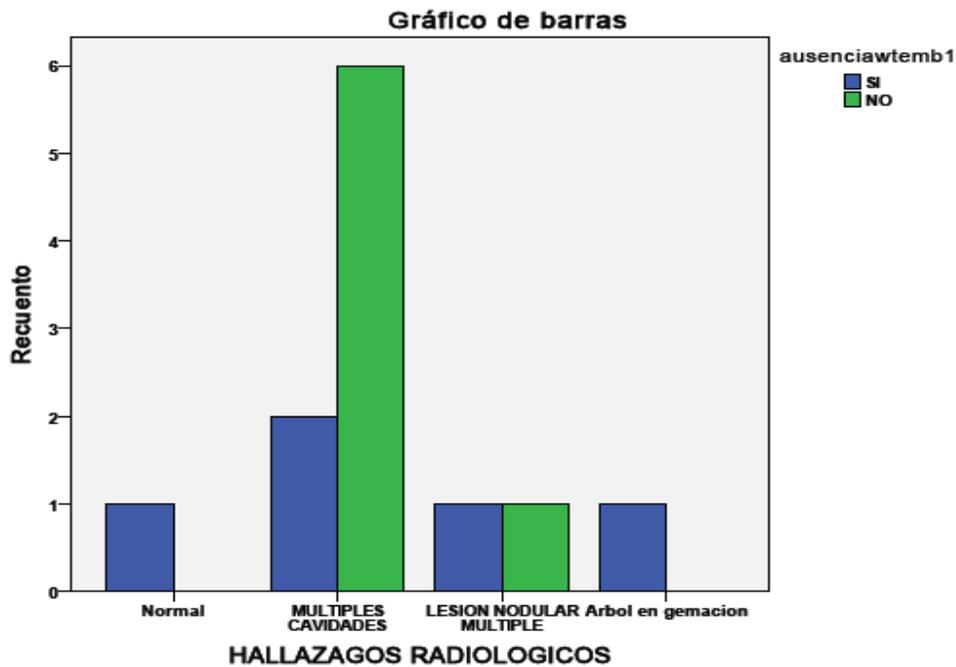
Resistencia a Isoniazida con mutacion katG1 no hubo relación estadísticamente significativa con algún patrón de imagen tomográfica, chi cuadrada de 0.719,



GRAFICA 42: HALLAZGOS RADIOLOGICOS CON SU ASOCIACION CON MUTACION katG1.

RESISTENCIA A ETAMBUTOL

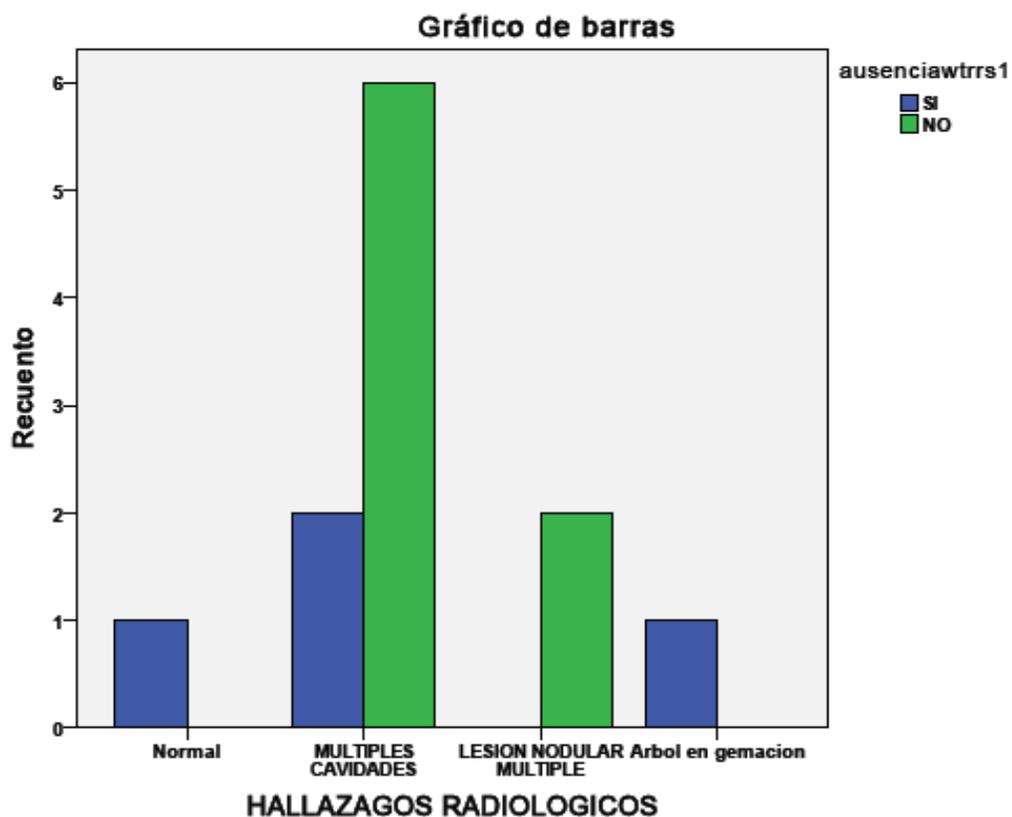
La resistencia a Etambutol las más prevalentemente encontrada es la ausencia de WT emb1, con relación al patrón tomografico no se encontraron diferencias estadísticamente significativas con un valor de chi-cuadrada de 0.287. pero en caso de Etambutol cavidades múltiples sigue siendo el patrón tomográfico más prevalente en esta resistencia.



GRAFICA 43: HALLAZGOS RADIOLOGICOS CON SU ASOCIACION CON AUSENCIA DE WT emb1.

RESISTENCIA A ESTREPTOMICINA

La resistencia a Estreptomycin predominante fue ausencia de WT rrs1, no se asoció la ausencia de este gen para la presentación radiológica, chi-cuadrada de 0.154.



GRAFICA 44: HALLAZGOS RADIOLOGICOS CON SU ASOCIACION CON AUSENCIA DE WT rif7.

12. DISCUSIÓN

Se analizaron un total de 332 muestras con alguna resistencia a fármacos antituberculosos de primera línea que se encontraban disponibles en el Laboratorio de microbiología del total encontramos Monoresistencia por SIRE en 59.3% de las muestras para Rifampicina, Isoniazida en el 59.6% y en menor medida para Etambutol en 5.4%, Pirazinamida 22.3%, Estreptomina en 41.3%. Se encontraron 167 muestras que corresponde a 50.3% MDR, siendo el género masculino el más prevalente representado el 57.5% de los casos, la muestra que mayormente se analizo fue el cultivo de expectoración, los estados con más casos fueron DF, Edo de México, Veracruz, Guerrero e Hidalgo.

Se recabo el expediente completo en 65 muestras y 40 archivos radiográficos de estos solo 25 pacientes contaban con tomografía. Los antecedentes más importantes fueron la presencia de Desnutrición, Diabetes Mellitus y si habían recibido tratamiento antituberculosis a primera y segunda línea antes de llegar al hospital. En el análisis radiográfico los principales hallazgos fueron la presencia de cavidades múltiples así como múltiples lesiones nodulares, árbol en gemación y distorsión de la arquitectura.

Cuando se realizó genotipificación a las muestras de Cepas multidrogo resistentes encontramos lo siguiente:

La resistencia a Rifampicina se realizó genotipificación en 52 muestras y sus genes que principalmente se encontraron fue la Ausencia del WT rif8 con 9%, Ausencia de WT rif7 en 4.8% y Mutaciones en rpoB3 en 3% de las muestras.

Cuando se comparó con lo encontrado mediante fenotipificación una correlación de 40.4% en ausencia de WT rif8, 13.5% para WT rif7 y 15.4% en mutaciones rpoB3.

En otros estudios reportan una sensibilidad para la detección de Resistencia a Rifampicina, Isoniazida y la multidrogo resistencia fue de 99%, 94% y 99% respectivamente. ⁸

La detección de mutaciones en la región 81 bp de gen rpoB correlaciona muy altamente con Resistencia a Rifampicina con 99% de las muestras resistentes a RIF identificadas en otros estudios. Quizá las pruebas de sensibilidad para resistencia a Rifampicina puede ser más baja en otros entornos donde las mutaciones fuera de la región 81 pares de bases del gen rpoB puede no ser detectado por este análisis, son responsables para la resistencia a RIF. De acuerdo con lo mostrado en otros estudios nosotros encontramos mutaciones comunes en el codón 531,526, y 516. Nosotros encontramos una alta proporción de resistencia a RIF además de mutaciones en S531L, que fueron reportadas en

otras regiones geográficas (70.5% en todas la muestras resistencia a Rifampicina en este estudio comparado con entre el 36.1 y 56.7%). La mutaciones en el codón 526 fueron menos comunes que lo reportado en otros países (8.6% en todas las cepas Resistencia a RIF y 39.3% con 6 de 9 países que tuvieron 20% de mutaciones en el codón 526). Las tasas de mutación de 516 (9.6% en todas las muestras Resistentes a RIF).⁸

Las principales mutaciones de resistencia se encuentran en la región core de 81pb del gen *rpoβ*; en este estudio el 82,2% de todas las mutaciones encontradas se ubicaron en esa región, siendo las mutaciones Mut3 y Mut1(S531L y D516V respectivamente) las más frecuentes; sin embargo, existe un 14,4% de las muestras cuya resistencia se debe a la ausencia de las bandas WT lo que indicaría que otras mutaciones están presentes en estas muestras y que no se encuentran fijadas en la tira reactiva. Por ejemplo, la banda WT 7 señala las posiciones de los codones 526 a 529, dentro de esa región, la sonda de mutación Mut 2A detecta la mutación en el codón 526 (H526Y, histidina por tirosina) mientras que la sonda Mut2B detecta el cambio H526D (histidina por ácido aspártico), la ausencia de WT 7 y sus correspondientes sondas de mutación indican que la mutación se dio en posiciones de codones cercanos a la posición 526, es decir que se puede haber dado en las posiciones 527, 528 o 529. La variabilidad genética de las cepas podría ser el responsable de la existencia de estas mutaciones, por tanto, el secuenciamiento de ADN de esta región permitiría determinar qué mutaciones se encuentran presentes en este tipo de muestras.¹⁴

Resistencia a Isoniazida por genotipificación se realizó en 52 muestras encontrando para el Gen *katG* 2.1% tanto en Ausencia para WT *katG* como Mutación en *katG*1, el gen *inhA* fue el que se encontró predominantemente y el más prevalente fue la Ausencia de WT *inhA*2 en 7.2%, Ausencia de WT *inhA*1 en 3%, y MUT*inhA*1 en 2.8%. Cuando se compara con los resultados obtenidos mediante SIRE encontramos que 11.5% de las muestras presentaban la ausencia de WT *katG* así como la mutación en *katG*1, y la ausencia de WT *inhA*2 solo en 38.5%, 13.5% de las muestras para ausencia de WT *inhA*1, 3.8% en el caso de mutación *inhA*2.

En otros estudios de las cepas el 54% de los monoresistentes a INH fueron detectadas como resisistentes a INH solo en el gen *inhA*. Estas cepas pueden no ser detectadas como MDR en el versión previa del análisis (Genotype MTBDR) en el cual solo se realizan mutaciones para el gen *katG*. En este ajuste la presencia de pruebas para *inhA* sustancialmente incrementa la sensibilidad de la detección de resistencia a INH (y MDR TB).¹⁵ La prevalencia de mutaciones en los genes *inhA* y *katG* tiene amplia variabilidad en diferentes regiones geográficas. Por ejemplo mutaciones *katG* fueron encontradas en 97% (77/79) y mutaciones

inhA en 24% (19/79) de las cepas aisladas resistentes a Isoniazida de KwaZulu-Natal donde van Rie et al reportaron mutaciones katG en 72% de las cepas aisladas resistentes a Isoniazida (41/57) y mutaciones del gen inhA solo en 2% (1/57) aislados en la provincia de Western Cape de Sudafrica. Estudios de otros países han confirmado esta variabilidad en la contribución de diferentes mutaciones para la resistencia INH. Mutaciones en inhA fueron raramente reportadas en Alemania. Una alta prevalencia de mutaciones de katG fueron reportadas en una alta proporción de resistencia a INH en países con alta prevalencia de TB y para una mucho más baja proporción en países con prevalencia más baja a TB, presumiblemente hace que la transmisión de estas cepas con alta carga.^{8, 16}

Resistencia a Etambutol se presentó como ausencia de WT emb1 en 4.1%, y Mutación en emb1b en 0.6%. Cuando se compara con lo obtenido mediante SIRE encontramos una correlación de 25% en ausencia de WT emb1, y 3.1% para emb1b en 6.3%.

El análisis para Estreptomina reporto una prevalencia de 3% de ausencia de WT rrs1 y por método de SIRE una correlación de 6.1%.

Cuando se analizaron la presencia de mutaciones y su asociación a variables clínicas los hallazgos que cursaron con significancia estadística fueron los siguientes:

En resistencia a Rifampicina: los paciente que presentaron Ausencia de WT rif7 presentaron un peso y talla más baja comparados con aquellos que si presentaban el gen nativo, con una p estadísticamente significativa, la Ausencia de WT rif8 presentaron aumento en las variables de respuesta inflamatoria sistémica aunque solo mostro significancia estadística en frecuencia cardiaca con un valor de p de 0.007y Mutación rpoB3 estaba asociado con que los paciente presentaron menos hiporexia comparados con aquello que no tenían la mutación, todas estas características no afectaron sobre mortalidad.

Resistencia a Isoniazida: Ausencia de WT inhA1 tuvo menos asociación a presentar DM2, son pacientes que se caracterizaron por haber recibido tratamiento de primera línea previo a su ingreso al INER también estar con el tratamiento más tiempo que aquello que si presentaron el gen WT inhA1 con una media de tratamiento en meses de 7.22. También compartieron esta característica con los que presentaron Mutación en inhA1.

En Etambutol y Estreptomina la ausencia de WT emb1 o WT rrs no se documentó que alguna característica clínica presentara significancia estadística.

13. CONCLUSIONES

En este estudio encontramos resistencia en el 50.3% de las muestras analizadas con *Mycobacterium tuberculosis* MDR, esto es mucho mayor con lo reportado de cepas MDR según la OMS México tiene una incidencia estimada de <24/100 000 habitantes y se espera que <1% de paciente que no ha recibido tratamiento presente TB MDR en aquellos que ya recibieron tratamiento previo la cifra aumenta hasta >20%¹⁷ Sin embargo siendo el INER centro de referencia para diagnóstico, tratamiento y seguimiento de pacientes con MT MDR es por ello que encontramos la mayor cantidad de cepas MDR. El estimado de tuberculosis MDR para el continente Americano según la OMS es del 2.2% casos nuevos TB MDR (IC 1.3–3.0) y del 13% de casos con retratamiento antituberculosis (IC 4.9–22).

De estas MTB MDR (167 muestras) se asociaron a otras resistencias: la presencia de resistencia a Estreptomina se presentó en el 37.7% de las cepas MDR, siendo la más frecuentemente encontrada, seguida por Pirazinamida en 31.7% y Etambutol 24%. La principal característica clínica de estos paciente que presento significancia estadística fue la desnutrición, así como peso bajo y talla baja, algunas variables de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica principalmente se presentaban con FC superiores a los pacientes sin mutación, de los hallazgos radiológicos encontramos principalmente la presencia de múltiples cavernas aunque no se encontró asociación estadística con ningún gen estudiado, la presencia de múltiples cavernas seguido de nódulos múltiples y patrón de árbol en gemación fueron las características radiológicas más frecuentemente encontradas.

Los genes implicados más frecuentemente encontrados en el estudio fueron para Rifampicina la Ausencia de Wild Type rif7 (4.8%) y rif8 (9%) así como presencia de Mutación rpoB3 (3%), en otros estudios se han reportado una frecuencia de mutación de hasta 36.1 y 56.7% Quizá las pruebas de sensibilidad para resistencia a Rifampicina puede ser más baja en otros entornos donde las mutaciones fuera de la región 81 pares de bases del gen rpoB puede no ser detectado por este análisis, son responsables para la resistencia a RIF. De acuerdo con lo mostrado en otros estudios nosotros encontramos mutaciones comunes en el codón 531,526, y 516.8.

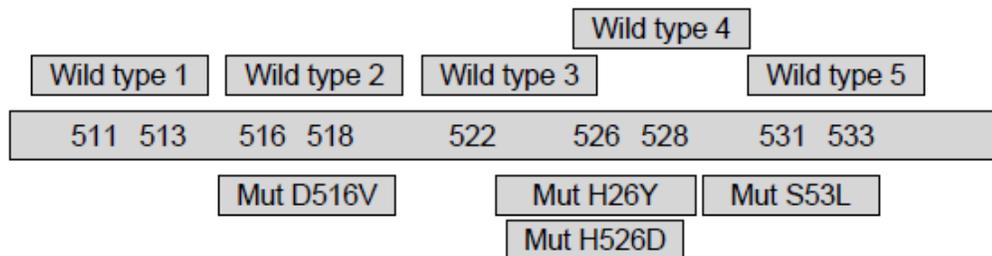


Fig. 1: localización de las sondas dentro de la región 81 pb del gen rpoB.

En el caso de Isoniazida se demostró la Ausencia de WT katG1 (2.1%) e inhA2 (7.2%) y la Mutación de inhA1 (2.4%), siendo estas las mas frecuentemente encontradas. La prevalencia de mutaciones en los genes inhA y katG tiene amplia variabilidad en diferentes regiones geográficas. Por ejemplo mutaciones katG fueron encontradas en 97% (77/79) y mutaciones inhA en 24% (19/79) de las cepas aisladas resistentes a Isoniazida de KwaZulu-Natal donde van Rie et al reportaron mutaciones katG en 72% de las cepas aisladas resistentes a Isoniazida (41/57) y mutaciones del gen inhA solo en 2% (1/57)⁸

En otro estudio encontraron los siguientes resultados al analizar las mutaciones que otorgan resistencia a isoniacida, donde la resistencia del 76,7% de las muestras se debe a la mutación en el gen katG (cambio en el codón S315T, serina por treonina) donde la mutación katG Mut1 es la más frecuente, lo que indica, además, que estas muestras presentan resistencia de alto nivel a la droga. El 13,7% de las cepas presenta resistencia de bajo nivel, siendo la mutación inhA Mut1 la más frecuente (15 C→T). Se ha observado que la ausencia de bandas WT en ambos genes así como muestras que presentaron mutaciones de alto y bajo nivel a la droga simultáneamente son poco frecuentes en este estudio.

Las mutaciones encontradas en las muestras de esputo analizadas son las mismas que se encontraron cuando se evaluaron los cultivos, lo cual confirma que katG Mut1, inhA Mut1 y rpoβ Mut3 son las mutaciones más prevalentes.¹⁸

Para Etambutol encontramos la Ausencia de WT emb1 (4.1%), y en Estreptomicina la Ausencia de WT rrs1 (6.1%).

Ahora bien cuando se compararon los genes encontrados con muestras positiva con resistencia Mediante SIRE se encontraron valores de p estadísticamente significativo únicamente para la ausencia WT emb1, esto puede deberse a que solo se realizaron 52 Genotipificaciones de las 167 muestras obtenidas con resistencia MDR y solo 34 muestras se les realizo TBMDR SL para asociación de genes de resistencia para Etambutol como para Estreptomicina esto es bajo comoparado con lo referido en la literatura con una sensibilidad de 97% y

especificidad del 99% cuando se comparan ambas pruebas por lo que es necesario ampliar el estudio y realizar más pruebas de geneotipificación.

Nosotros realizamos análisis radiológico de los archivos encontrados en sistema de 40 pacientes de las muestras MDR se aplicó la escala de Baez y col, para obtener un puntaje de severidad que va 0 a 20 siendo 20 el área con mayor afección de parénquima que ha demostrado tener índices superiores de correlación con variables funcionales pulmonares, en nuestro estudio no se obtuvieron resultados estadísticamente significativos cuando se compara la presencia de genes de resistencia a un puntaje mayor de acuerdo a la escala. De los hallazgos tomográficos no obtuvimos correlación estadísticamente significativa sin embargo los pacientes con presencia de TB MDR mayor incidencia de afección multisegmentaria con la presencia de cavidades múltiples así como múltiples lesiones nodulares.

En otros estudios se ha demostrado que estas pruebas pueden ser implementadas con éxito en un laboratorio de diagnóstico de TB rutinario con alto volumen con una equipo técnico bien calificado. El análisis MTBDR plus es rápido, factible y fácil de interpretar. Al menos el análisis MTBDRplus puede producir resultados con 8 horas, esto alto volúmenes lo que facilita la largas jornadas laborales de hasta 2 días que fueron reportadas de la selección de muestras probadas sobre resultados de muestra positivo porque las limitaciones del laboratorio general para la extracción del DNA y la lectura de las muestras de esputo no permiten que el procedimiento de MTBDRplus pueda ser completado en un día. Esto equipara a un total de tiempo de menos de 7 días cuando la muestra es transportada a tiempo, tiempo para hacer el examen microscópico, y el reporte de resultados incluido. Esto es una reducción sustancial comparada con el cultivo convencional y la DST.

Ante los desafíos tanto de VIH como TB MDR (y TB XDR) postura significativa al desafío para los programas de control de TB y servicios de laboratorios de TB. El costo y la complejidad de establecer cultivos capacidad de DST donde estos servicios no son disponibles, representan inmensos desafíos. Consecuentemente otros métodos diagnósticos y en particular otras pruebas moleculares, deben considerarse como alternativas.

14. REFERENCIAS

1. WHO. Global tuberculosis report 2014 (WHO). 171 (2014). doi:WHO/HTM/TB/2014.08
2. Becerril-Montes, P. *et al.* A population-based study of first and second-line drug-resistant tuberculosis in a high-burden area of the Mexico/United States border. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **108**, 160–166 (2013).
3. Pai, M., Kalantri, S. & Dheda, K. New tools and emerging technologies for the diagnosis of tuberculosis: Part II. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **6**, 423–32 (2006).
4. Type, G. Geno Type ® MTBDR sl. 8–14 (2009).
5. Richter, E., Weizenegger, M., Rüsç-Gerdes, S. & Niemann, S. Evaluation of genotype MTBC assay for differentiation of clinical Mycobacterium tuberculosis complex isolates. *J. Clin. Microbiol.* **41**, 2672–5 (2003).
6. Kreiswirth, B., Burzynski, J. & Schluger, N. W. Clinical and Radiographic Correlates A Molecular Epidemiology Study. **293**, (2005).
7. Ortega-estrada, J., Pérez-guzmán, C., Villarreal-velarde, H., Salazar-lezama, M. a & Torres-cruz, A. La imagen radiológica de la tuberculosis pulmonar en pacientes con farmaco-resistencia . Estudio comparativo. **60**, (2001).
8. Barnard, M., Albert, H., Coetzee, G., O'Brien, R. & Bosman, M. E. Rapid Molecular Screening for Multidrug-Resistant Tuberculosis in a High-Volume Public Health Laboratory in South Africa. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **177**, 787–792 (2008).
9. Safianowska, A., Walkiewicz, R., Nejman-Gryz, P., Chazan, R. & Grubek-Jaworska, H. Diagnostic utility of the molecular assay GenoType MTBC (HAIN Lifesciences, Germany) for identification of tuberculous mycobacteria. *Pneumonol. i Alergol. Pol. organ Pol. Tow. Ftyzjopneumonologicznego Pol. Tow. Alergol. i Inst. Gruzlicy i Chor. Pluc* **77**, 517–520 (2009).
10. Melean, G. *et al.* Detección de mutaciones en los Genes rpo β y katG asociados a resistencia en cepas de Mycobacterium tuberculosis de Bolivia

- Detection of mutations in *rpo* β and *katG* genes associated to resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains from Bolivia. **54**, 20–26 (2009).
11. Živanović, I., Vuković, D., Dakić, I., Stefanović, G. & Savić, B. Detection of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Serbia by the genotype MTBDRsl assay. *Arch. Biol. Sci.* **64**, 1311–1318 (2012).
 12. En, A. Y. & Hospital, E. L. Hilda Ruiz 1 , Vera Alvarado 1 , María Remei Gordillo 1 Laboratorio de Micobacteriología y Biología Molecular, Hospital Roosevelt, Ciudad de Guatemala. 53–59 (2014).
 13. BÃ¡ez-SaldaÃ±a, R. *et al.* A Novel Scoring System to Measure Radiographic Abnormalities and Related Spirometric Values in Cured Pulmonary Tuberculosis. *PLoS One* **8**, e78926 (2013).
 14. Asencios, L. *et al.* [Molecular test Genotype(R) MTBDRplus, an alternative to rapid detection of multidrug resistance tuberculosis]. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Publica* **29**, 92–98 (2012).
 15. Hillemann, D., Rusch-Gerdes, S. & Richter, E. Evaluation of the GenoType MTBDRplus Assay for Rifampin and Isoniazid Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis* Strains and Clinical Specimens. *J. Clin. Microbiol.* **45**, 2635–2640 (2007).
 16. Miotto, P. *et al.* Use of Genotype MTBDR Assay for Molecular Detection of Rifampin and Isoniazid Resistance in *Mycobacterium tuberculosis* Clinical Strains Isolated in Italy. *J. Clin. Microbiol.* **44**, 2485–2491 (2006).
 17. Palmero, D. J., Labor, R. L., Jave, O. & Dalcolmo, M. P. Guías latinoamericanas de diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis farmacorresistente. *Asoc. Latinoam. Tórax* 1–34
 18. Quirós Ol Atehort. a SL, Ospina S, Herrera-Torres AM, D. G. E. Utilidad de la técnica genotype MTBDRplus para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. *Rev Ces Med* **25**, 42–53 (2011).
 - 17.
 - 18.

19. Jorge Zazueta-Beltran, Claudia León-Sicaire, Adrián Canizalez-Roman Drug resistant Mycobacterium tuberculosis in Mexico J Infect Developing Countries 2009 3(3):162-168.
20. R Zenteno-Cuevas, JC Zenteno, A Cuellar, B Cuevas, CL Sampieri, JE Riviera, A Parissi Mutations in rpoB and katG genes in Mycobacterium isolates from the Southeast of Mexico. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2009;104(3): 468-472.
21. Kurtoglu MG. Et al Comparison of the GenoType® MTBC Molecular Genetic Assay with culture methods in the diagnosis of Tuberculosis Arch Med Sci 2012
22. Richter E. et al. Usefulness of the GenoType MTBC Assay for Differentiating Species of the Mycobacterium tuberculosis Complex in Cultures Obtained from Clinical Specimens J. Clin. Microbiol. 2004, 42(9):4303.
- 23.