

# UNIVERSIDAD NACIONAL JOSE FAUSTINO SANCHEZ CARRION

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE BIOLOGIA CON  
MENCION EN BIOTECNOLOGIA



**Diagnostico in vitro de PCR en tiempo real para la detección de  
*Mycobacterium tuberculosis* y mutaciones del gen *rpoB* en  
pacientes sintomáticos respiratorios del Hospital Regional de  
Huacho - 2021**

PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGA CON MENCIÓN EN  
BIOTECNOLOGIA

**PRESENTADO POR:**  
BACH. MANRIQUE CARBAJAL LESLIE YURICO

**ASESOR:**  
Dr. WILLIAM ANDRÉS GUZMAN SANCHEZ

**HUACHO - PERU  
2022**

**Diagnostico in vitro de PCR en tiempo real para la detección de *Mycobacterium tuberculosis* y mutaciones del gen *rpoB* en pacientes sintomáticos respiratorios del Hospital Regional de Huacho – 2021**

**ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS**

**MIEMBROS DEL JURADO EVALUADOR:**



Bigo. Dr. Romero Bozzetta José Luis  
C B P 1991

.....  
**Dr. ROMERO BOZZETTA José Luis**  
**PRESIDENTE**



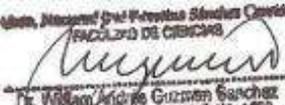
Lic. Eduardo Benites Requena

.....  
**Ms.C. BENITES REQUENA Eduardo Sigilfredo**  
**SECRETARIO**



Univ. Naz. José Faustino Sánchez Carrión  
Dr. Johnny Gregorio Cipriano Bautista  
DOCENTE

.....  
**Dr. CIPRIANO BAUTISTA Johnny Gregorio**  
**VOCAL**



Univ. Nacional José Faustino Sánchez Carrión  
FACULTAD DE CIENCIAS  
Dr. William Andrés Guzman Sanchez  
Docente Principal COLIBRI N° 1283

.....  
**Dr. GUZMAN SANCHEZ William Andrés**  
**ASESOR**

**HUACHO – PERÚ**

**2022**

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo a Dios por mantener a toda mi familia unida, con salud y a una persona especial Elsa Chumbes Díaz, que gracias a su apoyo moral siempre pude seguir adelante y cumplir todas mis metas y aun las que falta; mis padres Ana Carbajal Chumbes y Carlos Rodrigo Manrique Laos, por su apoyo, confianza constante a mi persona al apoyarme en todas mis metas, aquellos que sentaron las bases de la responsabilidad y deseos de superación; a mi novio Elvis Mendieta por su apoyo incondicional en todas mi metas a realizar.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecer a mi asesor Dr. William Guzmán Sánchez, por la gran ayuda e impulso a superarme día a día a pesar de todas las dificultades, por ayudarme en realizar mi tesis, gracias por su amistad y grandes consejos con su gran experiencia profesional en mi tema de investigación.

A mi escuela de biología con mención en biotecnología por la gran plana docente que ayudo mucho para lograr formarme en mi carrera profesional y cumplir mis metas trazadas.

Finalmente a mis compañeros de trabajo del servicio de laboratorio clínico por el apoyo incondicional para poder llevar a cabo mi trabajo de investigación de tesis al Dr. Hugo Segami Salazar, Lic. Adela Flores y la Sra. Leonor Campos por tantos consejos y su amabilidad a seguir impulsándome a superarme día a día.

## INDICE

ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS.....	II
DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTO.....	IV
RESUMEN.....	X
ABSTRACT.....	XI
INTRODUCCIÓN.....	12
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	14
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	15
1.2.1. Problema general.....	15
1.2.2. Problema específico.....	15
1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION.....	16
1.3.1. Objetivo general.....	16
1.3.2. Objetivo específico.....	16
1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACION.....	16
1.5. DELIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	17
1.6. VIABILIDAD DEL ESTUDIO.....	18
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO.....	19
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION.....	20
2.1.1 Investigaciones internacionales.....	21
2.1.2. Investigaciones nacionales.....	26
2.2. BASE TEORICAS.....	28
2.3.2. BASES FILOSÓFICAS.....	32
2.3. DEFINICIONES CONCEPTUALES.....	40
2.4. HIPÓTESIS.....	41
2.4.1. Hipótesis general.....	41
2.4.2. Hipótesis específico.....	41
2.4.3. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	41
CAPITULO III: METODOLOGÍA.....	43
3.1. DISEÑO METODOLÓGICO.....	44
3.1.1. Tipo de investigación.....	44
3.1.2. Nivel de investigación.....	44

3.1.3. Diseño de investigación .....	44
3.1.4. Enfoque de investigación .....	44
3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA .....	44
3.2.1. Población .....	44
3.2.2. Muestra .....	44
3.3. TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....	45
3.4. TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN .....	52
CAPITULO IV: RESULTADOS .....	53
CAPITULO V: DISCUSIÓN .....	64
5.1. Discusión de resultados .....	65
CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	67
6.1. Conclusiones .....	68
6.2. Recomendaciones .....	68
CAPITULO VII: REFERENCIAS .....	69
7.1. FUENTES DOCUMENTALES .....	70
7.2. FUENTES BIBLIOGRÁFICAS .....	71
7.3. FUENTES HEMEROGRAFICAS .....	73
7.4. FUENTES ELECTRÓNICAS .....	74
ANEXO .....	78

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Imagen de *Mycobacterium tuberculosis* por técnica Ziehl-Neelsen

**Figura 2.** La reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

**Figura 3.** Transmisión de la tuberculosis

**Figura 4.** Tuberculosis pulmonar: a) infección tuberculosa inicial en el lóbulo superior derecho; b) placa inicial activa que procesa hacia una cavitación y c) numerosos cavidades tuberculosas y erosión bronquial

**Figura 5.** Procedimiento para tinción de Ziehl-Neelsen: a) Aplicar tinción primaria de carbol fucsina durante 30 segundos, b) fije calor las celdas del portaobjetos con llama, c) decolorar con alcohol ácido durante 15-20 segundos y d) decolorar con alcohol ácido durante 15-20 segundos

**Figura 6.** Tinción ZIEHL – NEELSEN según pasos de coloración celular

**Figura 7.** *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, genoma completo - NCBI Reference Sequence: NC\_000962.3

**Figura 8.** Resumen de procedimiento para PCR en tiempo real con el equipo del GENEXPERT

**Figura 9.** Total de pruebas realizadas según el grupo etario

**Figura 10.** Porcentaje de muestras procesadas según su sexo (origen de nacimiento)

**Figura 11.** Porcentaje de pacientes positivos con el método Xpert frente a su origen de sexo

**Figura 12.** Porcentaje de pacientes según antecedentes de tratamiento según la ficha de investigación bacteriológica con respecto a resultado del GeneXpert

**Figura 13.** Diagnostico In Vitro De PCR En Tiempo Real Según Su Comorbilidad

**Figura 14.** Resultado Grafico Con Método Xpert Mtb/Rif Según Tipo De Muestras

**Figura 15.** Resultados positivas mediante las técnicas de baciloscopias

**Figura 16.** Resultados del método Xpert mediante resultados de baciloscopia

**Figura 17.** Interpretación del índice de Kappa

## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1.** Informe de resultados de baciloscopía de esputo

**Tabla 2.** Total de pruebas realizadas según el grupo etario y sexo

**Tabla 3.** Relación de pacientes positivos con el método Xpert frente a su origen de nacimiento.

**Tabla 4.** Resultados de porcentaje de procesos de GeneXpert relacionados con antecedentes de tratamiento

**Tabla 5.** Muestras procesadas según el método Xpert MTB/RIF según antecedentes de tratamiento

**Tabla 6.** Diagnostico in vitro de PCR en tiempo real de *Mycobacterium Tuberculosis* según su comorbilidad

**Tabla 7.** Resultado con el método XPERT MTB/RIF según tipo de muestras usadas en esta investigación

**Tabla 8.** Resultado de baciloscopias 1<sup>er</sup> y 2<sup>da</sup> muestra vs evaluación a resultado del método XPERT

**Tabla 9.** Resultados positivos con el método XPERT MTB/RIF con identificación a mutación del *gen rpob*

**Tabla 10.** El índice kappa

**Tabla 11.** Porcentaje de Sensibilidad, Especificidad, VPN, VPP

## **LISTA DE ANEXO**

**ANEXO 1.** FORMATO DE SOLICITUD DE INVESTIGACIÓN BACTERIOLÓGICA

**ANEXO 2.** INSTRUCTIVO DE ANEXO 1

**ANEXO 3.** LIBRO DE REGISTRO DE MUESTRAS PARA INVESTIGACIÓN BACTERIOLÓGICA EN TUBERCULOSIS

**ANEXO 4.** INSTRUCTIVO ANEXO 3 LIBRO DE REGISTRO DE MUESTRAS PARA INVESTIGACIÓN BACTERIOLÓGICA EN TUBERCULOSIS

**ANEXO 5.** POSIBLES RESULTADOS DEL GENEXPERT

**ANEXO 6.** FORMULARIO CONTROL DE USO DE EQUIPO - Vórtex

**ANEXO 7.** FORMULARIO CONTROL DE USO DE EQUIPO - GeneXpert

**ANEXO 8.** FORMULARIO LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE SUPERFICIES DE TRABAJO

**ANEXO 9.** LAMINAS COLOREADAS CON LA TÉCNICA DE ZIEHL NEELSEN

**ANEXO 10.** SERVICIO DE TUBERCULOSIS

**ANEXO 11.** LAMINA DE BACILOSCOPIA NEGATIVA

**ANEXO 12.** LAMINA DE BACILOSCOPIA POSITIVA 1+

**ANEXO 13.** LAMINA DE BACILOSCOPIA POSITIVA 2++

**ANEXO 14.** LAMINA DE BACILOSCOPIA POSITIVA 3+++

**ANEXO 15.** CARTUCHOS DE GENE XPRT

**ANEXO 16.** EQUIPO CEPEHID - GENE XPRT (4 MODULOS) Y ORDENADOR

**ANEXO 17.** METODO DE INGRESO (REGISTRO DE MUESTRA) A LA PLATAFORMA

**ANEXO 18.** ORDENADOR CON MUESTRAS YA REGISTRADAS DENTRO DEL SISTEMA OPERATIVO

**ANEXO 19.** FORMA DE IMPRESION DE RESULTADOS

**ANEXO 20.** PROCESANDO MUESTRAS PARA GerneXper

## RESUMEN

La tuberculosis es una de las infecciones producida por una bacteria llamada *Mycobacterium tuberculosis* también llamado bacilo de “Koch” y se caracteriza por síntomas de escalofríos, fiebre nocturna, etc. **Objetivo:** Revelar el diagnóstico *in vitro* de PCR en tiempo real para la detección de *Mycobacterium tuberculosis* y mutaciones del gen *rpoB* en pacientes sintomáticos respiratorios del Hospital Regional de Huacho – 2021. **Métodos:** La presente investigación estuvo conformada por una población de 287 pacientes sintomáticos respiratorios, el tipo de investigación es de tipo básico y un estudio de tipo transversal, los resultados fueron procesados utilizando el programa de Microsoft Excel 2016 considerando un nivel de significancia de 95% y el Índice de Kappa. **Resultados:** se obtuvo como resultado frente al método Xpert según su origen de nacimiento, se obtuvo 18.12% del sexo femenino y 81.82% del sexo masculino; según su comorbilidad de la investigación, Personas viviendo con VIH 0.35 %, Personas privadas de su libertad 60.63 %, Personas con diabetes mellitus 0.00 %, Contactos TB-MDR 1.05 %, Niños menores de 11 años 2.44 %, Adolescentes 0.35 %, Trabajadores de salud 6.27 %, Tb extrapulmonar (Jugo Gástrico, Liq Ascítico y LCR) 4.53%, Adultos mayores de 60 años 15.33 %, Mujeres gestantes, Casos en seguimiento diagnóstico y Trabajadores penitenciarios 0.00 %, Antes tratados 12.89%. La identificación de la mutación *gen rpoB* se observó un 3.64% MTB DETECTADO ALTO y un 3.64% MTB DETECTADO MEDIO. Finalmente obteniendo un índice de Kappa de 0.648 lo que indica una buena concordancia entre ambas pruebas y no inferioridad de las pruebas modificadas en relación a lo convencional. **Conclusión:** se concluye con que el grupo etario con mayor número de muestras procesadas fue en la etapa de adultos del sexo masculino, se observó un elevado porcentaje de comorbilidad en personas privadas de su libertad con un 60.63%, teniendo la muestra biológica con mayor uso en la investigación de esputo, finalmente se observó que la mutación *gen rpoB* en un 7.27%, consecuentemente la evaluación de la sensibilidad fue de 53.6%, especificidad de 100% y valores predictivos negativo (VPN) de 100%.

**Palabras claves:** diagnóstico *in vitro*, PCR en tiempo real, *Mycobacterium tuberculosis*, mutaciones del *gen rpoB*, pacientes sintomáticos respiratorios

## ABSTRACT

Tuberculosis is one of the infections produced by a bacterium called *Mycobacterium tuberculosis* also called "Koch's" bacillus and is characterized by symptoms of chills, night fever, etc. **Objective:** To reveal the in vitro diagnosis of real-time PCR for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* and *rpoB* gene mutations in respiratory symptomatic patients of the Regional Hospital of Huacho - 2021. **Methods:** The present research consisted of a population of 287 respiratory symptomatic patients, the type of research is basic and a cross-sectional study, the results were processed using the Microsoft Excel 2016 program considering a significance level of 95% and the Kappa Index. **Results:** The results obtained for the Xpert method according to origin of birth were 18.12% female and 81.82% male; according to comorbidity, people living with HIV 0.35%, people deprived of their liberty 60.63%, people with diabetes mellitus 0.00%, MDR-TB contacts 1.05 %, Children under 11 years 2.44 %, Adolescents 0.35 %, Health workers 6.27 %, Extrapulmonary Tb (gastric juice, ascitic fluid and CSF) 4.53 %, Adults over 60 years 15.33 %, Pregnant women, Cases under diagnostic follow-up and Prison workers 0.00 %, Previously treated 12.89 %. The identification of the *rpoB* gene mutation showed 3.64% MTB HIGH DETECTED and 3.64% MTB MEDIUM DETECTED. Finally, a Kappa index of 0.648 was obtained, which indicates a good concordance between both tests and non-inferiority of the modified tests in relation to the conventional. **Conclusion:** The conclusion is that the age group with the highest number of samples processed was adults of the male sex, a high percentage of comorbidity was observed in persons deprived of their freedom with 60.63%, having the biological sample with the highest use in the investigation of sputum, finally it was observed that the *rpoB* gene mutation in 7.27%, consequently the evaluation of the sensitivity was 53.6%, specificity of 100% and negative predictive values (NPV) of 100%.

**Keywords:** in vitro diagnosis, real-time PCR, *Mycobacterium tuberculosis*, *rpoB* gene mutations, respiratory symptomatic patients.

## INTRODUCCIÓN

Esta tesis titulada “**Diagnostico in vitro de PCR en tiempo real para la detección de *Mycobacterium tuberculosis* y mutaciones del gen *rpoB* en pacientes sintomáticos respiratorios del Hospital Regional de Huacho – 2021**”, ubicado la zona de obtención de información en el distrito de Huaura, Provincia de Huacho, departamento de Lima, por esta pandemia los pacientes sintomáticos respiratorios para cualquier enfermedad respiratoria han dejado de asistir a centro de salud aun teniendo sintomatología para tuberculosis, por miedo a contagiarse de Covid-19, esto hace referencia a una mala información recibida y esto genera que pacientes no sean atendido a primer tiempo de inicio de la enfermedad.

Pero con la nueva tecnología de hoy en pleno siglo XXI, se tiene un análisis de prueba de PCR (reacción de cadena polimerasa) para la detección de tuberculosis, y resistencia a uno de los medicamentos principales para este mal, que es la Rifampicina

**CAPITULO I**, El “Planteamiento del problema” de acuerdo con sus respectivos componentes: Descripción de la realidad problemática, formulación del problema, objetivos, justificación, delimitación del estudio y la viabilidad del estudio.

**El CAPITULO II**, el “Marco teórico” se menciona los antecedentes, bases teóricas, bases filosóficas, definición de términos básicos, hipótesis y la Operacionalización de las variables.

**El CAPITULO III**, la “Metodología” que incluye diseño metodológico, población – muestra, técnicas de recolección de datos, técnicas para el procesamiento de la información y matriz de consistencia

**El CAPÍTULO IV**, Resultados, teniendo en cuenta los resultados y procesamiento de datos.

**CAPÍTULO V**, Discusión de la investigación

**CAPÍTULO VI**, Conclusiones y recomendaciones

**CAPÍTULO VII**, Fuentes de Información, teniendo en cuenta sus componentes, fuentes bibliográficas, hemerográficas, documentales, y electrónicas.

**ANEXOS:** que consta de las evidencias del trabajo de investigación, encuesta, matriz de consistencia.



**CAPITULO I:  
PLANTEAMIENTO DEL  
PROBLEMA**

## 1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

En muchas investigaciones de tuberculosis (TB) esta enfermedad es muy contagiosa y causada por *Mycobacterium tuberculosis*, afectando al hombre y mujeres de todo el mundo y presenta un serio problema de salud a nivel mundial ya que principalmente afecta a los pulmones; pero también puede localizarse en otras zonas como son la pleura, ganglios linfáticos, sistema osteoarticular, sistema nervioso, abdomen, pericardio entre otros. Esta enfermedad es una de las más mortales y antiguas que afecta al ser humano y que posee una amplia distribución en el mundo; al año causa 2 millones de muerte de personas; en investigaciones recientes se hace referencia como la peor epidemia del siglo XXI, asociada en ocasiones la aparición de cepas drogoresistente a los fármacos tradicionalmente empleados en su tratamiento y a la presencia del VIH/SIDA. (Paneque & Rojas, 2018)

En el año 2018, la tuberculosis (TB), fue una de las enfermedades que afecto a más de 10 millones de personas nivel mundial, de las cuales 1,5 millones de personas fallecieron a causa de la tuberculosis (entre ellas, 251 000 personas con VIH), 1,1 millones de niños, de los cuales 251 000 fallecieron a causa la tuberculosis (entre ellos, niños con TB asociada a VIH); según la OMS se estimó que hubo 484 000 nuevos casos con resistencia a la rifampicina, de los cuales un 78% con tuberculosis multirresistente. (OMS, 2019)

La Situación de Tuberculosis en el Perú año 2016. OPS/OMS, la incidencia estimada de TB (x 100.000 hab.) los primeros 10 países en América 2016, el Perú se encuentra en el segundo lugar, ocupando Haití el primer lugar, seguido de Bolivia, Guyana, Rep. Dominicana, el salvador, Panamá, Ecuador, Nicaragua y Brasil; siendo en Perú los departamentos con alto riesgo Lima (siendo el Callao el primer lugar de infección), Ucayali y Madre de Dios.

En el Perú para el año 2016 y 2017, hubo una mejora en el departamento de Moquegua siendo de alto riesgo para TB, en el año 2017 bajo a mediano riesgo y San Martín estando en mediano riesgo en el 2016 mejoró pasando a bajo riesgo en el 2017. (Rios, 2018). En el 2017 se notificaron 31 087 2016 casos de tuberculosis, de ellos, 1 457 corresponden a TB MDR/RR y 121 a TB-XDR. (OPS, 2017)

En ámbito del control de la tuberculosis a nivel mundial, como prioridad tienen una mejor detección y más temprana su detección de los casos de tuberculosis positivos, incluidos aquellos que son baciloscopia negativa, que a menudo están asociados a la coinfección por el VIH y otras

enfermedades, la mejora de la capacidad para diagnosticar la tuberculosis multirresistente (OMS, 2010)

Un total de 1,4 millones de personas fallecieron a causa de tuberculosis en el año 2019 (entre ellas 208 000 personas con VIH). A nivel mundial, la tuberculosis es una de las 10 principales causas de muerte y una de las principales causas por un único agente infeccioso (por encima del VIH/sida). Se estimó que en 2019 enfermaron unas 10 millones de personas en todo el mundo: 5,6 millones de hombres, 3,2 millones de mujeres y 1,2 millones de niños. La tuberculosis está presente en todo el mundo y grupo etario. (CDC. 2021)

Los métodos convencionales de laboratorio son lentos y engorrosos, por lo que las iniciativas de investigación y desarrollo en esta materia se centran en métodos nuevos que propicien la detección rápida como la incorporación de nuevas tecnologías como GENEXPERT MTB/RIF (OMS, 2010)

Durante esta pandemia desde el año 2020 a 2021 por Covid 19, los pacientes al temor de contagiarse o mala información que desconocen, los pacientes sintomáticos respiratorios prefieren no acudir a centros de salud para no contagiarse de Covid, sin darse cuenta que la sintomatología es similar al de la tuberculosis y dejando de lado de tratar la enfermedad original.

Una nueva estrategia de tamizaje y notificación temprana, para el control de la transmisión de tuberculosis mediante un algoritmo diagnóstico que incluye Xpert MTB/RIF, baciloscopía y cultivo.

## **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

### **1.2.1. Problema general**

- ¿Se podrá realizar diagnóstico *in vitro* de PCR en tiempo real de *Mycobacterium tuberculosis* y mutaciones del gen *rpoB* en pacientes sintomáticos respiratorios del Hospital Regional de Huacho - 2021?

### **1.2.2. Problema específico**

- ¿Se podrá estimar el número de pacientes que presenta *Mycobacterium tuberculosis* y a la mutación del Gen *rpoB* por GeneXpert MTB/RIF del Hospital Regional de Huacho - 2021?

- ¿Se podrá estimar la cantidad de pacientes que presenta *Mycobacterium tuberculosis* en GeneXpert MTB/RIF según grupo etario, sexo y comorbilidad del Hospital Regional de Huacho - 2021?
- ¿Se podrá evaluar la sensibilidad y valores predictivos de BAAR-Ziehl-Neelsen y GeneXpert (MTB/RIF) en muestras de pacientes sintomáticos respiratorias del Hospital Regional de Huacho - 2021?

### **1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION**

#### **1.3.1. Objetivo general**

- Revelar el diagnóstico *in vitro* de PCR en tiempo real para la detección de *Mycobacterium tuberculosis* y mutaciones del gen *rpoB* en pacientes sintomáticos respiratorios del Hospital Regional de Huacho - 2021

#### **1.3.2. Objetivo específico**

- Identificar el número de pacientes que presenta *Mycobacterium tuberculosis* y a la mutación del Gen *rpoB* por GeneXpert MTB/RIF del Hospital Regional de Huacho - 2021
- Estimar la cantidad de pacientes que presenta *Mycobacterium tuberculosis* en GeneXpert MTB/RIF según grupo etario, sexo y comorbilidad del Hospital Regional de Huacho - 2021
- Evaluar la sensibilidad y valores predictivos de BAAR-Ziehl-Neelsen y GeneXpert (MTB/RIF) en muestras de pacientes sintomáticos respiratorias del Hospital Regional de Huacho - 2021

### **1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACION**

Aunque el número de pacientes con tuberculosis ha disminuido en las últimas décadas, la tuberculosis sigue siendo un problema de salud pública en todo el mundo. El diagnóstico y el tratamiento tempranos de la tuberculosis son esenciales para reducir la propagación, la morbilidad, la mortalidad y el aumento de los costos relacionados con la enfermedad ( Dlodlo, Brigden & Heldal, 2019).

Actualmente es conveniente realizar estudios de la situación del paciente con tuberculosis por nuevas tecnologías que se aplican hoy en la actualidad, para beneficio de la investigación y el paciente; el paciente no sólo tiene una enfermedad física altamente contagiosa, sino también problemas socio - económicos, como consecuencia de la crisis económica que vive el país

actualmente, en el diagnóstico de tuberculosos se ve perjudicado el paciente con resultado de baciloscopia negativa el diagnóstico es especialmente difícil, ya que se requieren exploraciones adicionales o bien demorar el tratamiento hasta el aislamiento del bacilo en el cultivo o MODS que eso demora un aproximado de 1 mes, lo que finalmente repercute negativamente en la recuperación del paciente. Actualmente se conoce de nuevas tecnologías de biología molecular, las cuales nos dan un resultado confiable para beneficio del paciente. (Almánzar, 2019)

Este estudio ayudará a comprender mucho el desempeño de nuevas tecnologías como es el GeneXpert en pacientes con sospecha de tuberculosis en el sector salud del Hospital Regional De Huacho S.B.S. Huaura Oyon, los datos sobre su efectividad, sensibilidad y especificidad son limitadas. Es necesario proporcionar nuestras propias pruebas para demostrar la utilidad de la prueba en el contexto de países donde la carga de tuberculosis es alta. La mayor parte de la evidencia confirma la efectividad del Xpert MTB / RIF, que fue aprobado recientemente por la OMS, con base en una investigación realizada en muestras de esputo.

Realizar este tipo de investigaciones sirve para adquirir nuevos conocimientos sobre métodos automatizados para el diagnóstico de tuberculosis además de que proporcionan un mayor nivel de confianza para el profesional que refiere esta prueba. (Almánzar, 2019)

En el del Hospital Regional De Huacho, durante la pandemia se vio afectado el número de pacientes que se realizaban pruebas para diagnóstico de tuberculosis (baciloscopia) ya que su producción fue de 6624 comparada a otros años, más de 10 000 pacientes en estos últimos 3 años.

La prueba de GENEXPERT MTB/RIF es una gran ayuda para el diagnóstico de pacientes, muy oportuno para su empiezo de tratamiento y su temprano diagnóstico de resistencia a uno de los medicamentos más importantes que hay para combatir esta enfermedad.

## **1.5. DELIMITACIONES DEL ESTUDIO**

El proyecto de tesis se realizará en las instalaciones del Hospital Regional De Huacho con un periodo de 1 año.

Las pruebas se delimitaran para la obtención de todos los datos, en el estudio de identificación, resistencia y valores predictivas de tuberculosis en condiciones de laboratorio.

#### **1.6. VIABILIDAD DEL ESTUDIO**

Es viable porque se contara con las instalaciones equipadas y equipo de protección personal (EPP) del Hospital Regional De Huacho; con el apoyo personal de licenciados/as encargados; así también con todos los suministros de insumos, materiales de trabajo y asistencia técnica profesional. Finalmente también se aportara todos los datos actualizados y completos de los resultados de los pacientes.



# **CAPITULO II: MARCO TEÓRICO**

## 2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION

La tuberculosis o también llamado el bacilo de Koch nos acompaña desde el comienzo de nuestra historia como atestiguan los hallazgos de lesiones tuberculosas en momias egipcias y precolombinas; y es una de las principales causas de alta morbimortalidad en Europa y, en los siglos XV y XVI.

En la actualidad la tuberculosis se considera un gran problema de salud pública de primera magnitud, constituyendo una de las causas más frecuente de muerte por el agente infeccioso y representa aproximadamente la cuarta parte de la mortandad evitable en los países en desarrollo, en donde se registran la gran mayoría de los casos y de los fallecimientos. (Bermejo, Clavera, De la Rosa, & Marín, 2007)

La Tuberculosis (TB) se define como un amplio espectro de entidades provocadas por el agente *Mycobacterium tuberculosis*, que puede afectar cualquier parte del cuerpo humano, siendo de importancia los pulmones, su mecanismo de transmisión del bacilo es de persona a persona por vía aérea. Según el reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2010 se presentaron incidencias de 8.8 millones de casos de Tuberculosis positivo. La Tuberculosis multidrogoresistente (TB MDR) se define como la infección bacteriana por M. tuberculosis resistente a uno de los primeros fármacos de primera línea: Isoniacida (INH) y la Rifampicina (RIF); en el año 2008 se estimó 350.000 a 500.000 casos en el mundo de TB MDR.

Acevedo , Vega y Ribón (2013) en su investigación reporto que en el año 2010, se registró 8.8 millones de casos de incidencia de tuberculosis en el mundo, 1.1 millones de muertes son atribuidas a personas VIH negativas y 0.35 millones de muertes adicionales a personas VIH positivas con Tuberculosis asociada, la tuberculosis tiene la característica que en presencia o no de medicamentos acumula unas mutaciones espontaneas y al azar, dándole una característica especial al generar unos cambios en los sitios de acción de los medicamentos antituberculosos y de esta forma adquirir resistencia a los mismos.

Son tres los mecanismos por los que la M. tuberculosis puede generar resistencia a los fármacos:

1) Generando mecanismos de barrera que impidan la entrada del fármaco a la célula.

2) Generando enzimas que inactiven los fármacos a nivel intracelular

3) Modificando el blanco de acción del fármaco, donde se presentarían mutaciones puntuales en algún gen del microorganismo, siendo esta última la más comúnmente utilizada por este germen.

Estos mecanismos no son excluyentes y algunas poblaciones bacterianas pueden combinar uno o varios mecanismos para generar resistencia. (Acevedo, Vega, & Ribón, 2013)

### **2.1.1 Investigaciones internacionales**

COLOMER (2018); de Valencia en su tesis doctoral Tuberculosis en el Departamento de Salud Valencia Doctor Peset. Aportación de los Métodos de Microbiología Molecular, teniendo como objetivo Conocer los casos con aislamiento de MTB o MNT y su evolución a lo largo del periodo de estudio en el Departamento de Salud Valencia Doctor Peset, así como las tasas de incidencia de TB confirmadas y su comparación con las declaradas desde la Conselleria de Sanitat en nuestro medio; analizar la distribución de los casos de TB detectadas según procedencia, variables demográficas (edad, sexo y nacionalidad del paciente) y/ o posibles factores de riesgo asociados (coinfección por VIH, inmigración y localización pulmonar/ extrapulmonar de la enfermedad); Estudiar la rentabilidad de la baciloscopia sobre muestra de paciente y su asociación con cuadro clínico y factores de riesgo asociados (inmigración y/ o VIH positivo); analizar el impacto que sobre la demora microbiológica pudiera tener la introducción, a lo largo del estudio, de nuevos métodos diagnósticos para identificación de MTB, tanto convencionales como moleculares; valorar la utilidad y la adecuación de las peticiones solicitadas sobre muestra directa de PCR en tiempo real (GeneXpert MTB/ RIF) para diagnóstico rápido molecular de TB; estudiar y analizar las resistencias de los aislados de MTB del área mediante métodos fenotípicos, tanto de forma global como por grupos de riesgo VIH y/ o inmigración; finalmente Valorar la aportación de la secuenciación genómica en el análisis de las cepas de MTB multirresistentes detectadas. Como metodología se trata de un estudio retrospectivo observacional con intervención en revisión de resultados emitidos sobre datos de pacientes del Departamento de Salud Valencia Doctor Peset, que acudieron entre los años 2005- 2015 a los diferentes Servicios de Salud del área por sospecha de TB o de micobacteriosis; su procesamiento de las muestras fue de recolección de muestras, tinción para detección de bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR); detección en su caso de ADN por PCR en tiempo real; cultivo

en Löwenstein- Jensen (LJ) y en medio líquido mediante sistema automatizado BACTEC MGIT 960® (BD)- o BacT/ Alert MB® (BioMérieux) para muestras de sangre o médula ósea; identificación fenotípica de especie; y estudio de sensibilidad por métodos fenotípicos para tuberculostáticos de primera línea mediante sistema automatizado en medio líquido (SIREP BACTEC MGIT 960® (BD)), por métodos genotípicos convencionales con detección molecular de mutaciones que codifiquen resistencias a isoniacida (H), rifampicina (R), etambutol (E), fluoroquinolonas (FQ). Como resultado se obtuvo se diagnosticaron 640 casos con aislamiento positivo para micobacterias, de los que 469 casos correspondieron a *Mycobacterium tuberculosis complex* (73,6%) y los 168 casos restantes (26,4%) a aislamientos de micobacterias no tuberculosas (MNT); la distribución de casos TB por sexo Hombre: Mujer en relación de 2:1 76% de hombres y 24% de mujeres, el porcentaje de casos TB en éstas va aumentando hasta llegar al 52- 53% en los dos últimos años de estudio; respecto a la detección de Ag- Ac antiVIH 1+2, se confirmaron 48 casos (10,2%) con coinfección por *M. tuberculosis complex* y VIH. El 62,7% (294 casos) fueron VIH negativo, mientras que en los 127 pacientes restantes (27,1%) no constaba petición ni resultado al respecto. Las baciloscopias iniciales sobre las muestras de los 469 pacientes con TB confirmada proporcionan un diagnóstico preliminar de “sospecha” de TB en 216 casos (46%) BAAR positivos, siendo los 253 casos restantes (54%) BAAR negativo. La cuantificación en cruces, de los casos positivos los clasificó en: 21% BAAR 1+ (46 casos); 27% BAAR 2+ (58 casos); 26% BAAR 3+ (56 casos) y 26% BAAR 4+ (56 casos)

SANABRIA, E. (2018), de Bogotá D. C.; en su tesis evaluación del desempeño de la prueba XPERT MTBD/RIF® para la detección de tuberculosis en un hospital público de Bucaramanga, teniendo como objetivo evaluar el desempeño de la prueba molecular Xpert MTB/RIF® para la detección de Tuberculosis en pacientes que acudieron a un Hospital Público de Bucaramanga durante el año 2016; describir las características demográficas y de laboratorio de los pacientes incluidos en el estudio; estimar la prevalencia de tuberculosis según la prueba diagnóstica, establecer la concordancia entre las pruebas moleculares y las convencionales; determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos y razón de verosimilitud de la prueba diagnóstica Xpert MTB/RIF® comparada con la baciloscopia y el cultivo. Su metodología consistió en un enfoque cuantitativo analítico de estimación de características operativas (sensibilidad, especificidad) de pruebas diagnósticas, el tipo de investigación es de estudio primario,

observacional, analítico de corte transversal. Se etiquetó cada cartucho Xpert MTB/RIF® con la identificación de la muestra. Con una pipeta de transferencia, al menos 0,5 ml del total del sedimento resuspendido a un tubo cónico con tapón de rosca para realizar el Xpert MTB/RIF®, con una pipeta de transferencia, se transfirió 1,5 ml del reactivo de la muestra Xpert MTB/RIF® a 0,5 ml del sedimento resuspendido, se agitó durante 10 segundos; se incubó durante 10 minutos; por 2 veces repitiendo el mismo procedimiento; luego se ingresó al cartucho la muestra procesada y seguidamente al equipo para darle lectura. Como resultado se analizaron los datos de 512 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión al estudio; de los pacientes excluidos, tres pacientes tuvieron error en la prueba Xpert MTB/RIF® y uno tuvo resultado inválido. Del total de muestras analizadas el 68,2% (349) provenían de hombres. La mediana de edad en ambos sexos fue 45 años (mín1-máx 99 años), siendo la mediana de edad para los hombres de 43 años (mín1-máx 100 años) y para las mujeres de 48 (mín 2-máx 95 años). La baciloscopia fue realizada a todas las muestras y la prevalencia de Tuberculosis por esta prueba fue del 15,6%. El cultivo por su parte, fue realizado al 97,0% (497) de las muestras y se logró el aislamiento de colonias características compatibles con *Mycobacterium tuberculosis* en el 14,7% de estas. La prevalencia de tuberculosis por medio de la prueba de Xpert MTB/RIF® fue del 20,9% . Al analizar la concordancia entre las pruebas por medio del coeficiente Kappa, se encontró que el Xpert MTB/RIF® y el cultivo tuvieron una concordancia del 78,2% y en mayor porcentaje el Xpert MTB/RIF® y la baciloscopia con el 82,4%.

VILLALOBOS, SOBERANIS , y GUZMAN, (2018), de Guatemala en la tesis titulada evaluación de una técnica de PCR en tiempo real para el diagnóstico molecular del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y su resistencia a la rifampicina; teniendo como objetivo general evaluar una técnica de PCR en tiempo real (Xpert® MTB/RIF) para el diagnóstico molecular del complejo M. tuberculosis y su resistencia a la rifampicina, en comparación con el estándar de oro (cultivo); y objetivos específicos, determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos e índice de concordancia Kappa de la metodología Xpert® MTB/RIF para muestras pulmonares en comparación con el estándar de oro; determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos e índice de concordancia Kappa de la metodología Xpert® MTB/RIF para muestras extra pulmonares en comparación con el estándar de oro, evaluar la detección de resistencia a la rifampicina por el método Xpert® MTB/RIF vrs el método MGITTM, a través de sensibilidad, especificidad, y valores predictivos. Y su metodología consistió en muestras

pulmonares y extra pulmonares que ingresen al Área de Tuberculosis y Hongos del Hospital General San Juan de Dios para diagnóstico de tuberculosis. Se recolectaron 523 muestras durante los meses de marzo, abril y mayo del año 2018, en las cuales se incluyeron muestras pulmonares (esputo, aspirado orotraqueal, aspirado bronquial, lavado bronquial, cepillado bronquial, líquido pleural, biopsia y absceso pulmonar) y extra pulmonares (orina, líquido cefalorraquídeo, lavado gástrico, aspirado gástrico, líquido pericárdico, peritoneal y gástrico, biopsias, secreciones y muestras ganglionares); el procesamiento de las muestras consistió en la Inoculación en medio Löwenstein-Jensen (se colocó 1 gota de muestra en la parte media del tubo con el medio, se dejó el tubo en posición horizontal por 24 horas en incubadora a 37°C, y por último, se colocó el tubo en posición vertical y se incubó a 37°C por 28-45 días); Cultivo en medio MGIT™ se agregaron 15 mL de suplemento de crecimiento BACTEC MGIT™ a un tubo de suplemento antibiótico PANTATM liofilizado y agitar, se agregó 0.5 mL de la muestra concentrada y descontaminada previamente, tapando el tubo y mezclando por vortex; Tinción Zhiel-Neelsen, se realizó extendido en lámina portaobjetos y se dejó secar, se fijó extendido, mediante calentamiento suave, flameándolo sobre la llama del mechero; repitiendo 3 veces esta acción, se colocó un trozo de papel filtro sobre extendido para agregar el colorante fucsina que cubrió la totalidad del frote por 5 minutos, luego se flameó por debajo del portaobjetos hasta el desprendimiento de vapores blancos (evitando producir ebullición por exceso de calor). se dejó enfriar 5 minutos y se repitió el flameado hasta nuevo desprendimiento de vapores blancos, luego se dejó enfriar 5 minutos. Cuando ya se encontraba frío, mediante el uso de pinzas, se quitó y descartó el papel de filtro y Se lavó con agua corriente y se cubrió con alcohol ácido al 3% durante 2 minutos. Después se lavó con agua corriente y luego se cubrió con azul de metileno durante 1 minuto, se lavó con agua corriente. Finalmente, se colocó cada portaobjetos en una gradilla para que secan al aire. • Por último, se colocó una gota de aceite de inmersión sobre la lámina y se observó al microscopio en el objetivo de 100x. Método Xpert® MTB/RIF se identificó correctamente cada tubo cónico y cartucho Xpert® MTB/RIF con el número de muestra, en el caso del cartucho, se realizó en los laterales del mismo, evitando tocar el área del código y tapa, luego se agregó como mínimo 1 mL de muestra en un tubo cónico, se agregó la misma cantidad de reactivo que demuestra dentro del tubo cónico, para obtener una relación 1:1, se agitó el tubo cónico 20 veces (de arriba hacia abajo) y se esperaron 10 minutos. Después se agitó nuevamente y se esperaron 5 minutos con la pipeta desechable y calibrada, se

aspiró muestra hasta que el menisco se encontrara por encima de la marca del volumen mínimo; por último, se abrió la tapa del cartucho y se transfirió la muestra al interior del puerto abierto del mismo; cerrando tapa y colocando al equipo para que pueda identificar la muestra. Como resultado se obtuvo 523 muestras provenientes de pacientes con sospecha de tuberculosis en el Área de Tuberculosis y Hongos (ATBH) del Laboratorio Clínico del Hospital General San Juan de Dios (HGSJDD), las muestras fueron clasificadas en pulmonares (n= 171) y extrapulmonares (n= 352) siendo éstas últimas las de mayor frecuencia. Por último, se realizó la comparación de la técnica molecular Xpert® MTB/RIF contra la metodología microbiológica MGITTM, para la determinación de la sensibilidad a la rifampicina. Se detectaron 33 muestras con presencia de *M. tuberculosis* utilizando la técnica molecular Xpert® MTB/RIF, las cuales en su totalidad mostraban sensibilidad al medicamento rifampicina. Finalmente se concluyó en que La metodología Xpert® MTB/RIF presentó un valor de 95.65% (IC95% = 85.14 – 100.00) de sensibilidad, 86.49% (IC95% = 80.64 – 92.33) de especificidad, 52.38% (IC95% = 36.09 – 68.68) de valor predictivo positivo, 99.22% (IC95% = 97.32 – 100.00) de valor predictivo negativo y 0.61 (IC95% = 0.46 – 0.75) para el índice de Kappa, en comparación con el cultivo en muestras pulmonares.

ULLAH Y OTROS, (2016) en Pakistán, en su artículo titulado Mutaciones de resistencia a la rifampicina en el RRDR de 81 pb del gen *rpoB* en aislados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* utilizando Xpert MTB / RIF en Khyber Pakhtunkhwa, Pakistán: un estudio retrospectivo; se estudió a 2 391 pacientes con muestras de estudio el esputo, entre octubre de 2011 y diciembre de 2014, tomando los criterios de todos los pacientes; su metodología se basó en proporción de agar estándar arroyo 7H10 mediano, en la siguiente concentración de drogas: Isoniazida 0,2 y 1 µg/ml, rifampicina 1 y 5 µg/ml, etambutol 5 y 10 µg/ml y estreptomycin 2 y 10 µg/ml [11, 12]. *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (sensible a todos los medicamentos antituberculosos) se utilizó como cepa de control de referencia. El ensayo MTB/RIF se usó y se añadió a los especímenes clínicos en una proporción de 3:1 para su descontaminación en un espécimen cerrado, se agitó por 15 min y 2ml e muestra inactivada fue transferida al cartucho de prueba Xpert, y se espera los resultados, en conclusión el 29% de los pacientes presentaba MDR-TB. Las mutaciones relacionadas con la sonda E (también conocidas como codón 531 y 533) fueron la mutación genética *rpoB* más común [314 (77%)], reconocida por el ensayo Xpert MTB / RIF. La menor mutación se detectó dentro de la secuencia 511 (1,2%).

### **2.1.2. Investigaciones nacionales**

CARRIQUIRY (2013) en PERÚ, en su tesis titulada evaluación del XPERT MTB/RIF un método de diagnóstico rápido para TBC en pacientes VIH positivos con sospecha de TBC pulmonar, tuvo como objetivo, determinar la sensibilidad y la especificidad de la prueba Xpert MTB/Rif en pacientes VIH positivos con sospecha de TBC pulmonar comparándolo con el método gold standard (cultivo L-J), así como el medio líquido MGIT y Baciloscopia con tinción ZiehlNeelsen; también demostrar el probable impacto del uso del dispositivo Xpert MTB/Rif en el sistema de salud al comparar tiempo en el diagnóstico en pacientes VIH positivos con sospecha de TBC pulmonar.

La metodología del estudio fue de prueba diagnóstica, y se consideró desde abril de 2010 a mayo de 2011, los pacientes con VIH positivos con sospecha de tuberculosis se inscribieron en dos hospitales de Lima, Perú. La detección de tuberculosis por MTB / RIF se comparó con un estándar compuesto de al medio de cultivo referencia Löwenstein-Jensen (LJ) y un cultivo líquido extra. La detección de resistencia a la rifampicina se comparó con el método de proporción (LJ) Löwenstein-Jensen. Se incluyeron 131 pacientes, el recuento medio de células CD4 fue de 154,5 células / mm<sup>3</sup> y 45 (34,4%) tenían tuberculosis. Para detectar Tuberculosis en pacientes con VIH, la sensibilidad de MTB / RIF fue del 97,8%; la especificidad fue del 97,7%; el valor predictivo positivo fue 95.7%; y el valor predictivo negativo, 98.8%.; MTB / RIF detectó 13/14 casos de TB con baciloscopia negativa. Para la detección a la resistencia de la rifampicina, la sensibilidad fue del 100%; la especificidad de 91.0%; el VPP 66.7% y el VPN fue del 100% en conclusión los pacientes con VIH en nuestra población con una alta sospecha clínica de TB, MTB / RIF se obtuvo un buen desempeño para el diagnóstico de TB y la microscopía de frotis superada.

MAYTA (2018), en Perú en su tesis titulado Factores asociados a la selección de la prueba GENEXPERT MTB/RIF como prueba inicial en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar multidrogorresistente en pacientes con vih/sida internados en el servicio de infectología del Hospital Nacional Guillermo Almenara, Irigoyen – Lima de julio a diciembre del 2017 siendo un estudio cuantitativo, retrospectivo, analítico, epidemiológico, observacional, y no experimental transversal, teniendo como objetivo identificar los factores asociados a la selección de la prueba GeneXpert MTB/RIF como prueba principal en el diagnóstico de

tuberculosis pulmonar multidrogorresistente en pacientes con VIH/SIDA internados en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, determinar si los factores sociodemográficos están asociados a la selección de la prueba GeneXpert MTB/RIF como prueba inicial en el diagnóstico de TB-MDR en pacientes con VIH/SIDA internados en el servicio de infectología del HNGA; determinar si el contacto con un paciente que padece TB está asociado a la selección de la prueba GeneXpert MTB/RIF como prueba inicial en el diagnóstico de TBMDR en pacientes con VIH/SIDA internados en el servicio de infectología del HNGAI; y determinar si los antecedentes patológicos son factores asociados a la selección de la prueba GeneXpert MTB/RIF como prueba inicial en el diagnóstico de TB-MDR en pacientes con VIH/SIDA internados en el servicio de infectología del HNGAI. Se tomó en consideración 110 pacientes con VIH/SIDA diagnosticados con tuberculosis. Después de calcular la muestra probabilística usando el programa STATS, se tuvo un Tamaño de muestra de 86 pacientes de los cuales 40 tenían TB-MDR y el resto eran se consideró como TB no MDR. Como conclusión de tiene como factores asociados a la edad entre 19-38 años, la condición de empleado, el contacto TB, el tratamiento previo para la tuberculosis, la inmuno-supresión severa y la hospitalización previa.

ALVAREZ (2019) en Perú su tesis titulada Detección de mutaciones en *rpoB* relacionadas a rifampicina-resistencia en aislamientos clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* a través de un ensayo simple y de bajo costo basado en High Resolution Melting Analysis; teniendo como objetivo Determinar la sensibilidad, especificidad y concordancia de la prueba de High Resolution Melting para la detección de mutaciones que confieren resistencia a rifampicina en aislamientos clínicos de *Mycobacterium tuberculosis*; optimizar el ensayo de High Resolution Metlting para la detección de mutaciones que confieren resistencia a rifampicina en cepas de *M. tuberculosis*; analizar el genotipo y el nivel de susceptibilidad fenotípica a rifampicina de la población de cepas incluidas en el estudio; determinar la sensibilidad y especificidad del HRM usando resultados cualitativos del análisis visual del gráfico de diferencias, unidades de fluorescencia relativa vs temperatura; determinación de la sensibilidad y especificidad del HRM usando resultados cuantitativos mediante el análisis de las unidades de fluorescencia relativa máxima (RFUmax) de las curvas de fusión de HRM; y compararla sensibilidad y especificidad obtenidos de los análisis cualitativo y cuantitativo mediante la prueba de McNemar. La metodología consistió en recibir las muestras de los hospitales María Auxiliadora y Hospital Nacional Dos de Mayo entre los años 2001 y 2004 .La prueba fenotípica basada en cultivo de

la prueba estándar, aun cuando el tiempo de respuesta es prologando. Pruebas moleculares como el Genotype MTBDRplus y el GeneXpert MTB/RIF son opciones de diagnóstico rápido, pero no de acceso fácil a la población. Se empleó el método de hidróxido de sodio-N-acetil-L-cisteína (0.5% NALC en NaOH-Na citrato) para lo cual se mezcló 2 ml de esputo y un volumen equivalente de NaOH-NALC.

En el estudio se incluyó muestras de DNA extraído de 123 muestras a partir de aislamientos clínicos resultando en valores de sensibilidad y especificidad de 82.4% y 96.4%, respectivamente. Adicionalmente a la extracción de DNA empleando un kit comercial (High Pure PCR template Preparation kit), también se utilizó el método de fenol-cloroformo, manteniendo los valores de sensibilidad, pero incrementando la dispersión de las curvas HRM. A su vez, este estudio se plantea un análisis cuantitativo de las curvas de fusión empleando unas unidades de fluorescencia relativa máxima para determinar un punto de corte. Como conclusión se considera que ambos tipos de análisis se concluye que el HRM es una prueba robusta, simple y de bajo costo para la detección de mutaciones en *rpoB* asociadas a RIF-resistencia.

## **2.2. BASE TEORICAS**

### ***Diagnostico in vitro***

El término *in vitro* es de origen latín que significa “dentro del vidrio”, es una técnica empleada que se realiza fuera del organismo, dentro de un tubo de ensayo, en un medio de cultivo. (SIGNIFICADOS.COM, 2020)

Conocido por sus siglas “IVD”, una tecnología que se es fundamentalmente, por ser no invasiva y cuál misión principal es mostrarnos información sin causar riesgo al paciente, es una de las técnicas más empleadas, a nivel cuantitativo, y una de las que goza de mayor relevancia y fiabilidad en el marco del proceso asistencial. (SANIDAD, 2018)

### ***Tuberculosis***

La tuberculosis es una de las infecciones producida por la bacteria de *Mycobacterium tuberculosis* llamado también el bacilo de “Koch”, se caracteriza por un período de latencia prolongado entre la infección inicial y las manifestaciones clínicas en el que predomina, muchos síntomas de escalofríos, fiebre nocturna, etc. (Morán L. & Lazo A., 2001)

## CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LAS MICOBACTERIAS DE ACUERDO AL Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology

**Dominio:** Bacteria

**Phyllum:** Actinobacteria

**Orden:** Actinomycetales

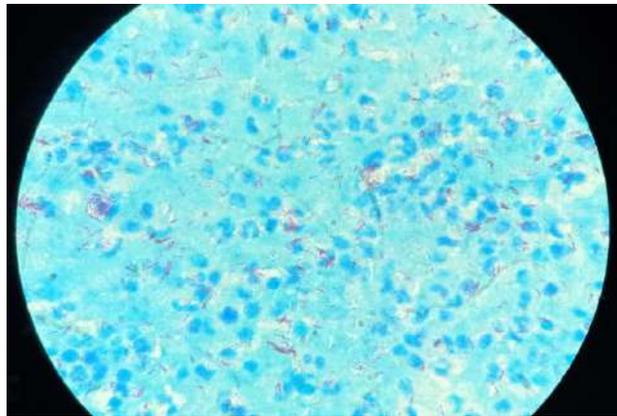
**Suborden:** Corynebacterineae

**Familia:** Mycobacteriaceae

**Género:** *Mycobacterium*

**Especie:** *Mycobacterium Tuberculosis*

Las micobacterias son inmóviles bacilos, no formadores de esporas y aerobios, con un recubierto de cérea que hace retener la tinción roja (fucsina) después de ser tratadas con ácido, de ahí que se nombren también bacilos acidorresistentes. (Morán L. & Lazo A., 2001) (Figura 1)



**Figura 1.** Imagen de *Mycobacterium tuberculosis* por técnica Ziehl-Neelsen a 100X

### **PCR**

PCR es la reacción en cadena de la polimerasa es una reacción enzimática in vitro que amplifica millones de veces una secuencia de ADN específica, durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia específica es copiada fielmente.

Por ello la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar naturalmente el ADN en las células. (Tamay de Dios, Ibarra, & Velasquillo, 2013)

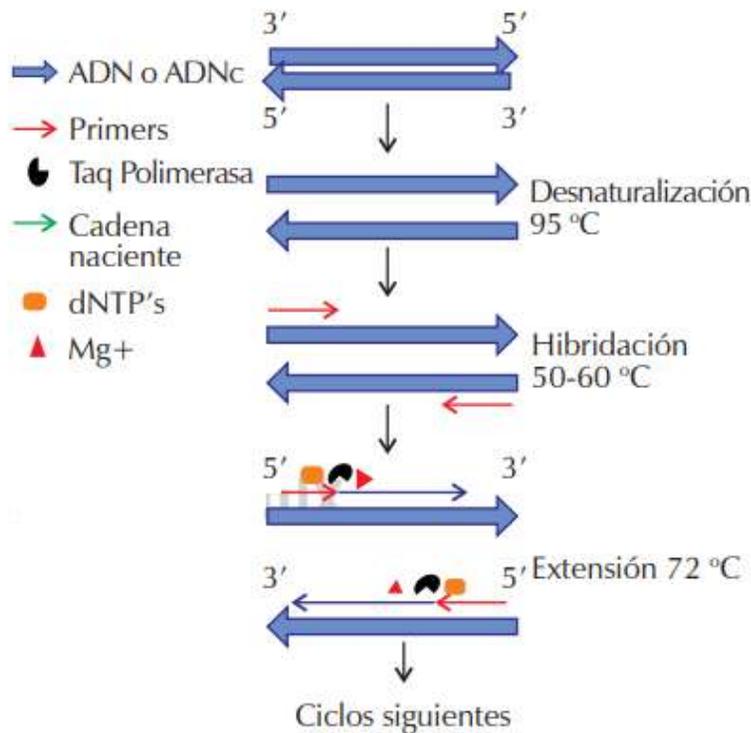
### **Fundamento**

Según Tamay de Dios, Ibarra, & Velasquillo, (2013) El ciclo de la PCR se lleva a cabo en tres etapas principales:

**DESNATURALIZACIÓN:** durante la desnaturalización las cadenas de ADN son calentadas y separadas a una temperatura de 95 °C durante 20-30 segundos y el tiempo depende de la secuencia del templado, finalmente se tendrá cadenas separadas que servirán como templado para el siguiente paso.

**HIBRIDACIÓN:** durante esta etapa, los primers se alinean al extremo 3' del templado previamente separado e hibridan con su secuencia complementaria, para que se forme el complejo templado-primers, es importante que la temperatura de hibridación o temperatura melting ( $T_m$ ) sea la óptima, generalmente oscila entre 50-60 °C.

**EXTENSIÓN:** finalmente durante esta etapa, la Taq polimerasa actúa frente al complejo templado-primers y comienza la función catalítica a una velocidad muy rápida; agrega dNTP's complementarios para crear las cadenas de ADN completas, la extensión de las cadenas es en una dirección de la síntesis del ADN, es decir, de 5' a 3'. La temperatura óptima para dicha reacción es de 72 °C, ya que con esa temperatura óptima la enzima es funcional. Finalmente después del ciclo, se habrán formado las ampliaciones con un tamaño dictado por el número total de pares de bases (pb) que deberá ser conocido por el investigador. (Figura 2)



**Figura 2.** La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Tamay de Dios, Ibarra, & Velasquillo, 2013)

### ***PCR EN TIEMPO REAL***

El objetivo de la Reacción de la Cadena Polimerasa en tiempo real ha sido detectar y cuantificar secuencias específicas de ácidos nucleicos mediante el uso de reporteros fluorescentes en la reacción. El principio de la técnica se basa en la Reacción de la Cadena Polimerasa, sólo que se detectan y analizan los productos de la amplificación es diferente. El término en tiempo real se refiere a que su detección de los productos amplificados sucede en durante cada ciclo de la reacción. (Tamay de Dios, Ibarra, & Velasquillo, 2013)

### ***FUNDAMENTO***

La Reacción de la cadena polimerasa en tiempo real ha sido detectar y cuantificar las secuencias específicas de ácidos nucleicos. El principio de esta técnica se basa en la Reacción de la cadena polimerasa, sólo que se detección y análisis de la amplificación es diferente, se refiere que detección de los productos amplificados sucede en cada ciclo de la reacción, la cuantitativo se

refiere a que es posible cuantificar la cantidad de ADN en la muestra. La metodología de la Reacción de la cadena polimerasa en tiempo real es más sensible para detectar y cuantificar los ácidos nucleicos, teniendo en cuenta una cantidad muy pequeña de ADN, el sistema garantiza una alta sensibilidad, especificidad y eficiencia (Tamay de Dios, Ibarra, & Velasquillo, 2013)

### ***MODS***

SUSCEPTIBILIDAD A DROGAS DE *Mycobacterium tuberculosis* MEDIANTE OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA (MODS)

El método se basa en la observación de cordones característicos de *Mycobacterium tuberculosis* cuando crece en medio líquido, los cuales son visualizados tempranamente mediante el uso de un microscopio luz invertida. El método, ha sido diseñado para la detección del crecimiento de MTB y la susceptibilidad a INH y RIF. La simplicidad de la técnica, la gran sensibilidad, la especificidad y el bajo costo son las mayores ventajas para su uso en países en vías de desarrollo. (INS, 2011)

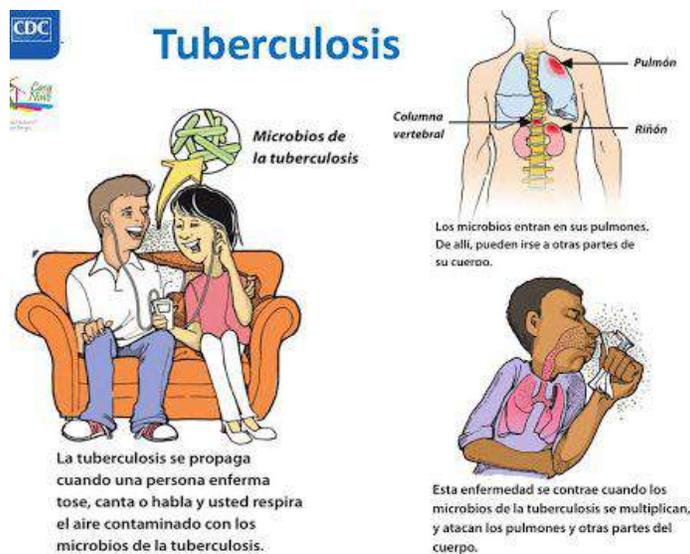
### ***CULTIVO DE MICOBACTERIAS***

Es un examen para buscar la bacteria que causa la tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) y otras infecciones causadas por bacterias similares, con medio de Löwenstein-Jensen u Ogawa Kudoh. (INS, 2011)

## **2.3.2. BASES FILOSÓFICAS**

### ***TRANSMISIÓN DE LA TUBERCULOSIS***

Para la transmisión de la tuberculosis es principalmente por la inhalación de partículas de secreciones respiratorias suspendidas en el aire, gotitas las cuales son generadas por personas con tuberculosis, al toser, estornudar, hablar o cantar, debido a su escaso peso, pueden permanecer suspendidas en el aire por horas, días y ser transportadas por todos los ambientes. Es importante resaltar que la transmisión del *Mycobacterium tuberculosis* se produce por vía aérea y no por contacto con objetos como ropa, mandilones o cubiertos. (Huaroto & Espinoza, 2009) (Figura 3)



**Figura 3.** Transmisión de la tuberculosis. (CDC, 2021)

### ***PACIENTES SINTOMÁTICOS RESPIRATORIOS***

Es todo ser que presenta síntomas de expectoración por más de 15 días, tos, fiebre, sudoración nocturna; ya que es una persona sospechosa de Tuberculosis y debe realizársele una prueba de baciloscopia seriada de esputo (2 a 3 muestras). (Ramos, 2018)

Los grupos en los que se encuentran más casos de Tuberculosis son:

- Contactos directos (convivientes: padre, esposa e hijos) de enfermos pulmonares bacilíferos, especialmente niños y jóvenes.
- Personas que por otros motivos de salud consultan un hospital, pero tienen síntomas de tos y/o expectoración por más de 15 días.
- Personas infectadas con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) y/o Sida.
- .Adictos a sustancias ilegales (drogas y/o alcohol)
- Enfermos que comprometen el sistema inmunitario o en tratamiento prolongado con corticoides o inmunosupresores
- Personas que presentan Rx pulmonares con anomalías. (Ramos, 2018)

## ***DEFINICIONES OPERATIVAS SEGÚN EL MINSA (2013)***

**Caso probable de tuberculosis:** Paciente que presenta síntomas de tuberculosis, incluyendo a los pacientes sintomáticos respiratorios.

**Caso de tuberculosis:** Paciente a quien se le diagnostica la enfermedad de tuberculosis (por baciloscopia u otro método de diagnóstico) y al que se le debe administrar tratamiento.

### ***Caso de tuberculosis según localización de la enfermedad:***

#### ***1. Caso de tuberculosis pulmonar:***

Paciente a quien se le diagnostica tuberculosis con compromiso pulmonar con o sin confirmación bacteriológica (ejemplo: baciloscopia, cultivo o prueba molecular) (MINSA, 2013)

- **Tuberculosis pulmonar con frotis positivo:** Caso de Tuberculosis pulmonar con baciloscopia de esputo positiva.
- **Tuberculosis pulmonar con frotis negativo:** Caso de Tuberculosis pulmonar con 2 o más baciloscopias de esputo negativas.

Se clasifica en:

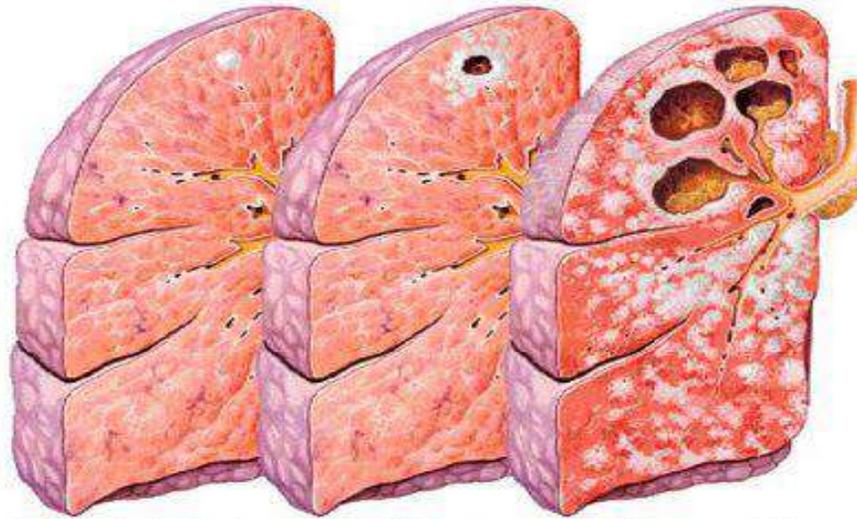
- **Tuberculosis pulmonar frotis negativo y cultivo o prueba molecular positiva:**

Caso de Tuberculosis pulmonar con baciloscopia negativa y que cuenta con prueba molecular positiva para *M. tuberculosis* o cultivo

- **Tuberculosis pulmonar frotis y cultivo negativos:**

Caso de Tuberculosis pulmonar sin confirmación bacteriológica cuyo diagnóstico se basa en criterios clínicos.

- **Tuberculosis pulmonar sin frotis de esputo:** Caso de Tuberculosis pulmonar en el que no ha sido posible lograr una muestra de esputo para el estudio bacteriológico. (MINSA, 2013)



**Figura 4.** Tuberculosis pulmonar: a) infección tuberculosa inicial en el lóbulo superior derecho; b) placa inicial activa que procesa hacia una cavitación y c) numerosas cavidades tuberculosas y erosión bronquial. (Rodríguez R. , 2016)

## **2. Caso de tuberculosis extra-pulmonar:**

Persona a quien se le diagnostica tuberculosis en órganos diferentes que no sea en los pulmones. El diagnóstico es en base un cultivo, prueba molecular positiva o evidencia clínica de la enfermedad extrapulmonar (MINSa, 2013) (Figura 4).

La afección pleural o ganglionar intratorácica, sin anormalidades radiográficas en parénquima pulmonar, constituye un caso de tuberculosis extrapulmonar.

Las definiciones operativas de caso de tuberculosis extrapulmonar son:

- **Tuberculosis extra-pulmonar con confirmación bacteriológica**

Caso que se demuestra la presencia de *M. tuberculosis*, por bacteriología. (MINSa, 2013)

- **Tuberculosis extrapulmonar con confirmación histopatológica**

Se muestra una reacción inflamatoria con tuberculosis compatible o presencia de bacilos ácidos en tejido fluido extrapulmonar mediante estudio histopatológico (MINSa, 2013)

## - **TB extra-pulmonar sin confirmación**

Caso en las cuales no se determina la presencia de *Mycobacterium tuberculosis* en el tejido o fluido extra-pulmonar por bacteriología ni por estudios histopatológicos. El diagnóstico se basa en criterios epidemiológicos, clínicos u/o estudios de imágenes. (MINSA, 2013)

## **Caso de tuberculosis según sensibilidad a medicamentos anti-TB por pruebas convencionales (MINSA, 2013)**

### **1. Caso de TB pansensible:**

Caso que se demuestra sensibilidad a todos los medicamentos de primera línea por pruebas de sensibilidad convencional.

### **2. Caso de TB multidrogorresistente (TB MDR):**

Caso con resistencia simultánea a isoniacida (H) y rifampicina (R) por pruebas convencionales.

### **3. Caso de TB extensamente resistente (TB XDR):**

Caso con resistencia simultánea a isoniacida (H), rifampicina (R), una fluoroquinolona y un inyectable de segunda línea (amikacina, kanamicina o capreomicina) por prueba rápida molecular o convencionales.

### **4. Otros casos de TB drogoresistente:**

Caso en el que se demuestra resistencia a medicamentos antituberculosos sin cumplir criterio de TB MDR. Pueden ser:

#### **4.1. TB monorresistente**

Caso en el que se demuestra, a través de una Prueba de Sensibilidad (PS) convencional, resistencia solamente a un medicamento anti-tuberculosis.

#### **4.2. TB polirresistente**

Caso en el que se demuestra, a través de una PS convencional, resistencia a más de un medicamento. (MINSA, 2013)

## **Condición de ingreso según antecedente de tratamiento (MINSA, 2013)**

### **Caso nuevo**

Paciente con diagnóstico de tuberculosis que nunca ha recibido tratamiento.

### ***Caso antes tratado***

Paciente con tuberculosis con antecedente de haber recibido tratamiento por más de 1 mes- Se clasifican en:

- **Recaída:** Persona que presenta unos episodios de tuberculosis diagnosticado después de haber sido dado de alta, en sus muestras de control después del dado de alta
- **Abandono recuperado:** Persona que no recibir tratamiento por más de 1 mes consecutivo
- **Fracaso:** Persona que ingresa a tratamiento luego de haber sido declarado como un fracaso, con medicamentos de primera o segunda línea antituberculosas. (MINSa, 2013)

### ***Mycobacterium tuberculosis***

*Mycobacterium tuberculosis* es la bacteria encargada de la enfermedad de la tuberculosis, que pertenece al orden de los Actinomycetales, Familia de las *Mycobacteriaceae*; son BAAR, no móviles, aerobios obligados, resistentes a los antisépticos comunes. Se inactivan por rayos UV y a T° mayor de 60 °C. (López E. , 2002)

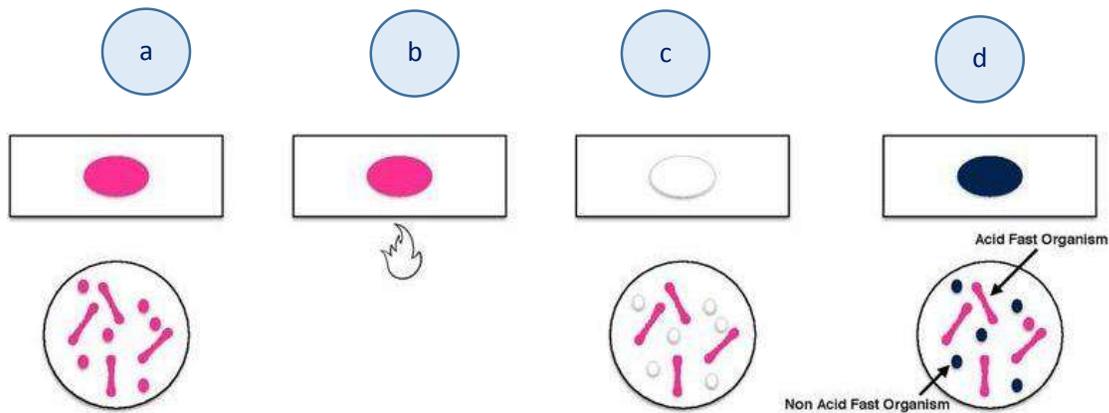
Tuberculosis micobacteriana esta bacteria es el agente causante de la tuberculosis, una enfermedad infecciosa crónica con una incidencia creciente en todo el mundo. Esta especie es responsable de más morbilidad en humanos que cualquier otra enfermedad bacteriana. Infecta a 1.700 millones de personas al año (~ 33% de la población mundial total) y causa más de 3 millones de muertes al año. Esta bacteria no forma una cápsula de polisacárido y es un aerobio obligado de crecimiento extremadamente lento. La lenta tasa de crecimiento es el resultado de la pared celular resistente que resiste el paso de nutrientes a la célula e inhibe los productos de desecho que se excretan fuera de la célula. (NCBI, 2020)

### ***TINCIÓN DE ZIEHL NEELSEN***

Es una técnica de coloración de microorganismos para la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* causante de la tuberculosis, que requiere de 3 colorantes que son: Carbol Fucsina Fenicada (Fucsina Básica), Azul de Metileno y Solución Decolorante. (Graterol, y otros, 2016).

La tinción de Ziehl-Neelsen es una técnica rápida, fácil y de muy bajo costo, que se puede realizar en cualquier laboratorio, la tinción permite diferenciar a las bacterias que son aquellos que son capaces de resistir la decoloración con alcohol-ácido y las que no; la sensibilidad es del

74% y la especificidad 98%, teniendo un límite de detección de 5,000-10,000 bacilos/mL de muestra. Las muestras clínicas para su uso son varios por ejemplo: LCR, líquido pleural, líquido sinovial, líquido pericárdico, etc. La tinción positiva es aquella en la que se observan bacilos ácido alcohol resistente, los cuales son de color rojo fucsia y de fondo color azul. (López, y otros, 2014) (Figura 5 y 6)



**Figura 5.** Procedimiento para tinción de Ziehl-Neelsen: a) Aplicar tinción primaria de carbol fucsina durante 30 segundos, b) fije calor las celdas del portaobjetos con llama, c) decolorar con alcohol ácido durante 15-20 segundos y d) decolorar con alcohol ácido durante 15-20 segundos. (Mokobi, 2020)

## TINCIÓN DE ZIEHL-NEELSEN

AAR +	Pasos	AAR -
	<b>Fijación</b>	
	<b>Colorante principal: fucsina</b>	
	<b>Decoloración: alcohol/HCl</b>	
	<b>Colorante de contraste: Azul de metileno</b>	

**Figura 6.** Tinción ZIEHL – NEELSEN según pasos de coloración celular. (Jorge, 2019)

### **GeneXpert MTB/RIF**

El Xpert MTB/RIF Assay, que se usa con el sistema Cepheid GeneXpert®, es una prueba de diagnóstico in vitro de Reacción de la cadena polimerasa semicuantitativa en tiempo real, que se utiliza para la detección de:

- ADN de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras de esputo u otro tipo de muestra preparados a partir de esputos inducidos o expectorados que son positivos o negativos en frotis de bacilos acidorresistentes (BAAR)
- Mutaciones del gen rpoB asociadas a la resistencia a rifampicina.

El Xpert MTB/RIF Assay está indicado para usarse con muestras de pacientes no tratados con medicamentos antituberculosos que presentan indicios clínicos de tuberculosis (TB).

El GeneXpert MTB/RIF es un examen de biología molecular que permite un diagnóstico bacteriológico rápido y ofrece la posibilidad de conocer la susceptibilidad a la rifampicina de las cepas en estudio en menos de dos horas. (Herrera, Arias, & Ruiz, 2017)

### **Gen rpoB**

La Rifr ha sido atribuida a mutaciones puntuales, inserciones y deleciones en una región limitada del gen rpoB que codifica a la subunidad  $\beta$  de la ARN polimerasa (Figura 7). Estas mutaciones son asociadas con resistencia fenotípica a rifampicina y son generalmente localizados en una región de 81 pb con mutaciones en los codones Ser-531, His-526 y Asp-516. (Agapito, y otros, 2002)



**Figura 7.** *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, genoma completo - NCBI Reference Sequence: NC\_000962.3 (NCBI, 2020)

### **2.3. DEFINICIONES CONCEPTUALES**

**MUTACIÓN:** Es cualquier alteración de la secuencia de bases de un segmento de ADN correspondiente a un gen o a un locus, las mutaciones son el resultado de errores en la copia del ADN durante la división celular, la exposición a radiaciones o a alguna sustancias químicas denominadas mutágenos, o infección por virus. (NIH, 2021)

**PCR:** Es una prueba de reacción en cadena de la polimerasa, detectan el ADN o el ARN de un patógeno (el organismo que causa una enfermedad) o células anormales en una muestra (MedlinePlus, 2021)

**GeneXpert MTB/RIF:** es una prueba de amplificación del ácido nucleico totalmente automatizada que emplea un cartucho para diagnosticar la tuberculosis y la resistencia a la rifampicina(OMS, 2016)

**NCBI:** Centro Nacional para la Información Biotecnológica, es parte de la Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos, una rama de los Institutos Nacionales de Salud. (Cañedo, Rodríguez, & Vázquez, 2009)

**Gen:** es la unidad funcional del cromosoma bacteriano, el cual es una secuencia ordenada de nucleótidos de ADN que contiene la información necesaria para la síntesis de una macromolécula con función celular específica (Brandan, Aguirre, Llanos, & Rodríguez, 2011)

**RESISTENCIA BACTERIANA:** es un tipo específico de resistencia a los fármacos antimicrobianos. (Calderón & Aguilar, 2016)

**DESNATURALIZACIÓN:** Por medio de la aplicación de calor a 94°C, se produce la separación de las dos cadenas de la molécula de DNA que se quiere amplificar. (Ramírez, Méndez, Cocotle, & Arenas, 2003)

**HIBRIDACIÓN:** proceso por el cual se combinan dos cadenas complementarias simples de ácidos nucleicos (ADN o ARN) y se permite que formen una única molécula de doble cadena por apareamiento de sus bases. (NIH, 2021)

**EXTENSIÓN:** parte final del proceso de PCR y agrega dNTP's complementarios para crear las cadenas de ADN completas. (Tamay de Dios, Ibarra, & Velasquillo, 2013)

## 2.4. HIPÓTESIS

### 2.4.1. Hipótesis general

Se podrá realizar el diagnóstico *in vitro* mediante la técnica de PCR en tiempo real de *Mycobacterium tuberculosis* y mutaciones del gen *rpoB* en pacientes sintomáticos respiratorios del Hospital Regional de Huacho - 2021

### 2.4.2. Hipótesis específico

- Se podrá identificar el número de pacientes que presenta *Mycobacterium tuberculosis* y a la mutación del Gen *rpoB* por GeneXpert MTB/RIF del Hospital Regional de Huacho - 2021
- Se podrá estimar la cantidad de pacientes que presenta *Mycobacterium tuberculosis* en GeneXpert MTB/RIF según grupo etario, género y comorbilidad del Hospital Regional de Huacho - 2021
- Se podrá evaluar la sensibilidad y valores predictivos de BAAR-Ziehl-Neelsen y GeneXpert (MTB/RIF) en muestras de pacientes sintomáticos respiratorias del Hospital Regional de Huacho – 2021

### 2.4.3. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLES	SUBVARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	Unidad
<b>INDEPENDIENTE:</b>  <b>DIAGNOSTICO IN VITRO DE PCR EN TIEMPO REAL De <i>Mycobacterium tuberculosis</i></b>	Pacientes SR	Formato de solicitud de investigación bacteriológica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nunca tratados</li> <li>• Antes tratado</li> <li>• Recaída</li> <li>• Abandono recuperado</li> <li>• Fracaso</li> </ul>	Escala nominal
	Baciloscopia	Informe de resultados de baciloscopia de esputo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Negativo (-)</li> <li>• Número exacto de bacilos en 100 campos</li> <li>• Positivo (+)</li> <li>• Positivo (++)</li> <li>• Positivo (+++)</li> </ul>	Escala numeral
	Grupo etario	Tiempo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Infancia</li> <li>• Niñez</li> <li>• Adolescencia</li> <li>• Juventud</li> </ul>	Escala ordinal

			<ul style="list-style-type: none"> <li>• Adultez</li> <li>• Ancianidad</li> </ul>	
	Sexo	Origen de nacimiento	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Masculino</li> <li>• Femenino</li> </ul>	Escala nominal
	Comorbilidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Personas viviendo con VIH (PVV)</li> <li>• Personas privadas de su libertad (PPL)</li> <li>• Diabetes mellitus (DM)</li> <li>• Contacto TB-MDR</li> <li>• Niños</li> <li>• Adolescente</li> <li>• Personal de salud</li> <li>• Personal penitenciario</li> <li>• Casos de tb extra pulmonar</li> <li>• SR en adulto mayor (+de 60años)</li> <li>• Gestantes</li> <li>• Casos de seguimiento diagnostico</li> <li>• Antes tratado</li> </ul>	SI / NO	Escala nominal
	Técnica Xpert MTB/RIF	Informe de resultados	<ul style="list-style-type: none"> <li>• MTB NO DETECTADO</li> <li>• MTB DETECTADO MUY ALTO</li> <li>• MTB DETECTADO ALTO</li> <li>• MTB DETECTADO MEDIO</li> <li>• MTB DETECTADO BAJO</li> <li>• MTB DETECTADO MUY bajo</li> </ul>	Escala de Likert
<b>DEPENDIENTE:</b>				
<b>DETECCIÓN Y MUTACIONES DEL GEN RPOB EN PACIENTES SINTOMÁTICOS RESPIRATORIO</b>	Técnica Xpert MTB/RIF	Informe de resultados sobre mutación del <i>gen rpoB</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• RIF NO DETECTADO</li> <li>• RIF DETECTADO</li> </ul>	Escala nominal



# **CAPITULO III: METODOLOGÍA**

### **3.1. DISEÑO METODOLÓGICO**

#### **3.1.1. Tipo de investigación**

Tipo de investigación según la naturaleza del estudio es de tipo básico y según la evolución del fenómeno es un estudio de tipo transversal (Rodríguez & Mendivelso, 2018)

#### **3.1.2. Nivel de investigación**

Nivel descriptivo

#### **3.1.3. Diseño de investigación**

Diseño tipo no experimental.

#### **3.1.4. Enfoque de investigación**

Tipo de investigación según su enfoque es de tipo cuantitativo

### **3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA**

#### **3.2.1. Población**

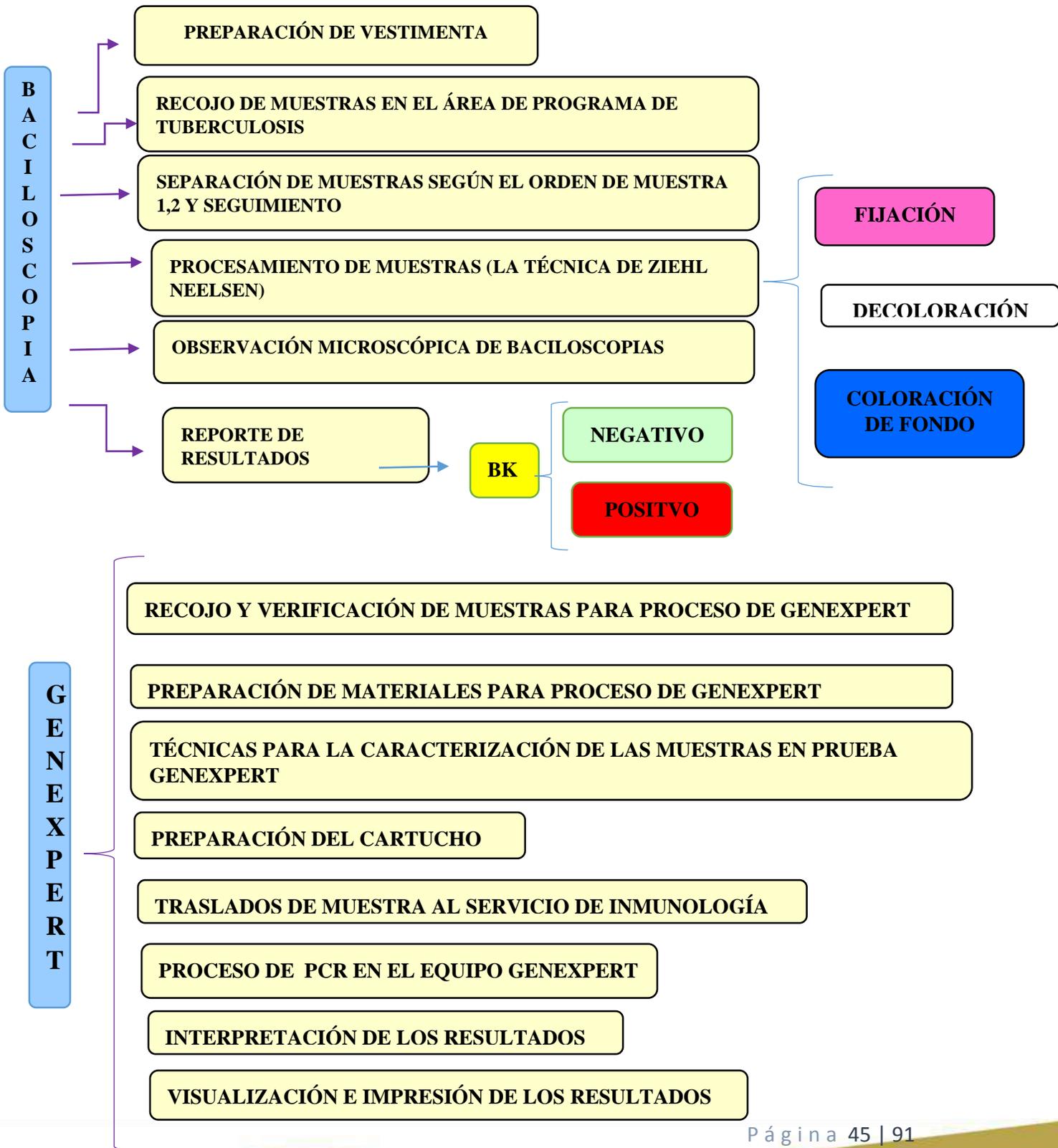
La población es en la que la elección de los elementos no depende de la probabilidad sino de las características de la investigación, de subgrupo criterial o intencional. (Otzen & Manterol, 2017)

#### **3.2.2. Muestra**

El tipo de muestra de este proyecto de investigación es muestra no probabilística o dirigida y la muestra estuvo representada por un total de 287 muestras.

### 3.3. TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Método, Técnicas e instrumento de recolección de datos



### **3.3.1. BACILOSCOPIA**

#### **3.3.1.1. Preparación de vestimenta**

El personal se preparó con una vestimenta especial que correspondió al uso de un mandil descartable, colocación de guantes de látex (2 pares), un lente protector, gorro descartable de laboratorio, protector facial y un respirador N° 95.

#### **3.3.1.2. Recojo de muestras en el área de programa de tuberculosis**

El personal se dirigió al servicio de programa de tuberculosis, que se encuentra dentro de las instalaciones del Hospital Regional de Huacho donde se recolectó y dejó las muestras para baciloscopia.

#### **3.3.1.3. Separación de muestras según el orden de muestra 1,2 y seguimiento**

Dentro del servicio de programa de tuberculosis, se recogió las muestras de esputos, según el orden de muestra que se dejó ya previamente en el servicio, ya sea primera, segunda muestra o seguimientos de sintomáticos respiratorios, también ya sea el caso si es otro tipo de muestra extrapulmonares, ejemplo LCR, jugo gástrico, secreción bronquial; nos basaremos en el **FORMATO DE SOLICITUD DE INVESTIGACIÓN BACTERIOLÓGICA (ver ANEXO 1 y 2)** y se dirigió al servicio de laboratorio clínico.

#### **3.3.1.4. Procesamiento de muestras para baciloscopia**

Posteriormente al llegar a laboratorio se encendió la luz y aire de la cabina de flujo laminar horizontal, (**ver ANEXO 10**) teniendo listo laminas porta objeto ya enumeradas (en orden ascendente), para la reparación del frotis; estas muestras serán muestras frescas (no más de dos días), en cantidad mínima de 5 ml aproximadamente; se tomó un baja lengua de madera partido en dos, tratando que las puntas queden ásperas, luego con ellas se realizó el frotis sobre el porta objetos con movimientos suaves, circulares, tratando de dispersarlo en forma homogénea en el centro de la lámina, dibujando un círculo u óvalo, sin llegar a los bordes de la lámina para evitar que se contamine al manipularlo.

Se verificó que el extendido de la muestra tenga el grosor homogéneo y adecuado, si en el caso que fuera demasiado fino el extendido, es posible producir un resultado falso negativo, en el caso si fuera muy grueso, la muestra puede desprenderse durante la coloración o puede resultar difícil la visualización de bacilos debajo de una capa gruesa de mucus, al terminar se dejó secando a temperatura ambiente.

Luego se desechó el aplicador de madera en un contenedor con solución de cloro, cerrando el envase de la muestra con la que se realizó el extendido y se dejó al lado de las muestras ya procesadas, y así se continuó con las demás muestras.

Seguidamente se conservó las muestras hasta terminar las lecturas de la baciloscopia en una refrigeradora y se verifico que no sea necesario realizar un nuevo extendido y si fue positivo se conservó hasta enviarlo para un MODS o CULTIVO.

#### **3.3.1.4.1. LA TÉCNICA DE ZIEHL NEELSEN**

Se dispuso de unas gradillas de metal en forma paralela con una distancia de 5 cm, se colocó en el orden correspondiente las láminas portaobjetos con el frotis y se mantuvo una separación de al menos 1 cm entre ellas, para la coloración Ziehl Neelsen, que es el método de coloración con fucsina calentada hasta la eliminación de vapores, decoloración con alcohol ácido y luego con azul de metileno.

Se empezó cubriendo totalmente la superficie del extendido con fucsina básica fenicada recién filtrada, se dispense el colorante con suavidad, sin salpicar y sin tocar con el embudo los extendidos, seguidamente se preparó una mecha embebida en alcohol, se calentó suavemente por debajo de los extendidos, con movimientos de vaivén, hasta que se observó que se desprende los primeros vapores blancos, teniendo en cuenta de no calentar la muestra; si en caso hubiera un derrame del colorante, se dispuso a reponer la fucsina, sin dejar secar el preparado.

En el término de aproximadamente cinco minutos se calentó tres veces hasta emisión de vapores; esto es suficiente para que la fucsina penetre adecuadamente en el bacilo y se fije a sus lípidos. Se enjuago con abundante agua; suavemente y cuidadosamente la superficie eliminando totalmente la solución de fucsina, también se realizó por la parte posterior, se inclinó el portaobjetos para eliminar el exceso de agua y así se evitara diluir los reactivos que se utilizaran después.

##### **3.3.1.4.1.1. Decoloración**

Se cubrió la totalidad del extendido con solución acido alcohol resistente y se dejó actuar aproximadamente de 1 a 3 minutos, se enjuago con abundante agua y se verifico que el extendido se ha decolorado totalmente, se eliminó el exceso de agua inclinando el portaobjetos. Si la lámina sigue coloreada se agregó por segunda vez solución acido alcohol resistente.

#### **3.3.1.4.1.2. Coloración de fondo**

Seguidamente se cubrió todo el extendido con solución de azul de metileno y se dejó actuar durante 1 a 1.5 minutos, se enjuagó las láminas en ambas caras con agua, posteriormente se colocaron las láminas en una gradilla para láminas y se dejó secar a temperatura ambiente.

Finalmente se encendió la luz UV durante 15 a 20 minutos.

#### **3.3.1.5. Registro de muestras**

El registro de muestras se realizó en el: “**LIBRO DE REGISTRO DE MUESTRAS PARA INVESTIGACIÓN BACTERIOLÓGICA EN TUBERCULOSIS**” (Ver ANEXO 3 y 4), los que incluye: un número de ingreso del año, fecha de recepción, apellidos y nombres completos, sexo, edad, historia clínica, DNI, EE SS procedencia, calidad y cantidad de muestra, BACILOSCOPIA [ sintomático respiratorio (número de muestra (1,2) y resultado), Rx anormal, extrapulmonar, control (N° de mes (1,2,3, .....,8, 24), resultado], PRUEBA DE SENSIBILIDAD RAPIDA [ fecha de inicio, fecha de resultado, método, R, H] , CULTIVO [ fecha de siembra, fecha lectura final, resultado] y observaciones.

Ahí es donde se registraron todas las órdenes llenando todos los datos correspondientes a su orden.

#### **3.3.1.6. Lectura de baciloscopia**

Se esperó a que las láminas se hayan secado completamente a temperatura ambiente, se tomó cada extendido con la cara que contiene la muestra hacia arriba, se agregó 1 gota de aceite de inmersión y se dio lectura en el microscopio a 100X. **Ver Tabla 1. (ver ANEXO 9, 11,12,13 y 14)**

#### **3.3.1.7. Reporte de resultados**

El reporte de cada muestra ya procesada, fue en el “**LIBRO DE REGISTRO DE MUESTRAS PARA INVESTIGACIÓN BACTERIOLÓGICA EN TUBERCULOSIS**”. (ver ANEXO 3 y 4)

**Tabla 1.** Informe de resultados de baciloscopía de esputo

<b>RESULTADOS DEL EXAMEN MICROSCÓPICO</b>	<b>INFORME DE RESULTADOS DE BACILOSCOPIA</b>
No se observan bacilos ácido alcohol resistente (BAAR) en 100 campos observados	Negativo (-)
Se observan de 1 a 9 BAAR en 100 campos observados (paucibacilar)*	Número exacto de bacilos en 100 campos
Menos de 1 BAAR promedio por campo en 100 campos observados (10-99 bacilos en 100 campos )	Positivo (+)
De 1 a 10 BAAR promedio por campo en 50 campos observados	Positivo (++)
Más de 10 BAAR promedio por campo en 20 campos observados.	Positivo (+++)

\* Se observa de 1 a 9 BAAR en 100 campos microscópicos, leer otros 100 campos microscópicos. Si persiste el resultado se anotará el hallazgo en el registro y la muestra se enviará para cultivo. (MINSA, 2013)

### **3.3.2. GENEXPERT**

#### **3.3.2.1. Recojo y verificación de muestras para proceso de GeneXpert**

El personal recogió las muestras del servicio de programa de TBC del Hospital Regional de Huacho, con EPP de protección adecuado, se verifico el tipo de muestra a trabajar que correspondiera a cada paciente la cantidad necesaria de muestra, dejando 2 frascos con muestras diferentes del mismo paciente.

#### **3.3.2.2. Preparación de materiales para proceso de GeneXpert**

Al llegar a laboratorio se recolecto todos los materiales a utilizar, por cada muestra a procesar se utilizó 1 tubo de ensayo cónico para centrifuga estéril, pipetas Pasteur de plástico de 2 ml, guantes de nitrilo, cartuchos MTB/RIF y reactivo. (ver ANEXO 15 )

#### **3.3.2.3. Técnicas para la caracterización de las muestras en prueba GeneXpert**

El sistema GeneXpert integrara y automatiza el procesamiento de muestras, la amplificación de ácidos nucleicos y la detección de las secuencias diana en muestras sencillas o complejas mediante ensayos de PCR y PCR de transcriptasa inversa en tiempo real. (SANABRIA, 2018)

Al llegar al laboratorio se encendió la cabina de flujo laminar, se tuvo listos tubos de ensayo cónicos de 14 ml estériles, y se colocaron en una gradilla, se les colocó sus nombres completos y número de orden de las muestras a procesar.

Con una pipeta Pasteur de plástico se cogió 1 ml de muestra sea de muestra pulmonar (esputo) y/o muestras extrapulmonares (LCR, jugo gástrico, secreción bronquial, etc); se agregó al tubo de ensayo cónico, seguidamente se agregó 2ml de reactivo, se agitó enérgicamente de 10 a 20 veces en un vórtex durante 10 a 20 segundos como mínimo.

Se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente y luego se agitó la muestra enérgicamente 10 a 20 veces con un vórtex durante 10 segundos como mínimo, por último se incubó la muestra a temperatura ambiente durante 5 minutos más. (Ver **ANEXO 20**)

#### **3.3.2.4. Preparación del cartucho**

Se abrió la tapa del cartucho, seguidamente se abrió el recipiente del tubo cónico y con una pipeta de transferencia suministrada, se aspiró la muestra líquida hasta suministrar al cartucho 2 ml de la muestra.

Se transfirió la muestra al interior de la cámara de muestra del cartucho Xpert MTB/RIF®; se dispuso la muestra lentamente para reducir al mínimo el riesgo de formación de aerosol.

Finalmente, se cerró firmemente la tapa, teniendo en cuenta que en cada cartucho con un rotulador deben estar sus datos del paciente.

#### **3.3.2.5. Traslados de muestra al servicio de inmunología**

Al terminar de procesar todas las muestras, se guardaron en su caja de traslado y se mantendrán a conservación a 4°C hasta su resultado; los cartuchos se trasladaron al servicio de inmunología para su proceso. (ver **ANEXO 5,6,7,8 y 16**)

**Nota:** Teniendo en cuenta que es otro servicio se dio paso al cambio de EPP para ingresar al servicio de inmunología.

#### **3.3.2.6. Proceso de PCR en el equipo GeneXpert**

Se encendió el equipo GeneXpert, seguidamente su ordenador; el software GeneXpert se inició automáticamente y se dio clic en el icono del acceso directo del software GeneXpert Dx en el escritorio de Windows. (Figura 8)

Se inició una sesión en el software del GeneXpert Dx System con un nombre de usuario y su contraseña del personal encargado, en la ventana GeneXpert Dx System, se hizo clic en Create Test (Crear prueba) y apareció un cuadro de diálogo Scan Sample ID (Escanear Id. de muestra) y se escaneo el cartucho con su lector de código de barras, esto permitió verificar el lote, fecha de expiración y prueba a realizarse. (ver ANEXO 17 )

Se registró el código de muestra, fecha, datos del paciente (apellido y nombres) y tipo de muestra, seguidamente se colocó el nombre de usuario y contraseña para que pueda ejecutarse la prueba, luego de ello el equipo permitió un acceso a un módulo siempre y cuando se tuvo la luz amarillo intermitente que tiene el equipo. Se cargó el cartucho dentro del módulo y se cerró la puerta con firmeza; ya cuando estuvo dentro su luz amarilla intermitente cambio a amarillo fija, (ver ANEXO 18 )se puso en ejecución la prueba y de un tiempo estimado de 2 horas. Se esperó ese tiempo hasta el término de su proceso cuando finaliza la prueba la luz del módulo se apagara.

### 3.3.2.7. Interpretación de los resultados

#### 3.3.2.7.1. Razones para repetir la prueba

Se realizó el proceso 2 veces, siempre y cuando un resultado es INVALIDO, ya que el control SPC fallo o no se procesó correctamente y la PCR se inhibió; un resultado de ERROR, indica que el PCC (QC1 o QC2) ha fallado o se ha producido un fallo del sistema, y se ha interrumpido el ensayo; NO RESULT indico que no se han recogido suficientes datos



**Figura 8.** Resumen de procedimiento para PCR en tiempo real con el equipo del GENEXPERT.1) Mezclar, 2)Añadir, 3) Insertar y 4) Detectar. (OPS, 2016)

### **3.3.2.8. Visualización e impresión de los resultados**

Luego del paso de 2 horas aproximadamente el sistema del instrumento GeneXpert genero los resultados a partir de las señales fluorescentes medidas y los algoritmos de cálculo integrados. **(Ver ANEXO 19)**

La identificación de muestra se asoció a los resultados de la prueba y se muestra en la ventana View Results (Ver resultados) y en todos los informes, así se imprimieron todos los resultados de la prueba GeneXpert.

### **3.4. TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN**

Los resultados fueron procesados utilizando el programa de Microsoft Excel 2016 considerando las herramientas descriptivas con un nivel de significancia de 95%.



# **CAPITULO IV: RESULTADOS**

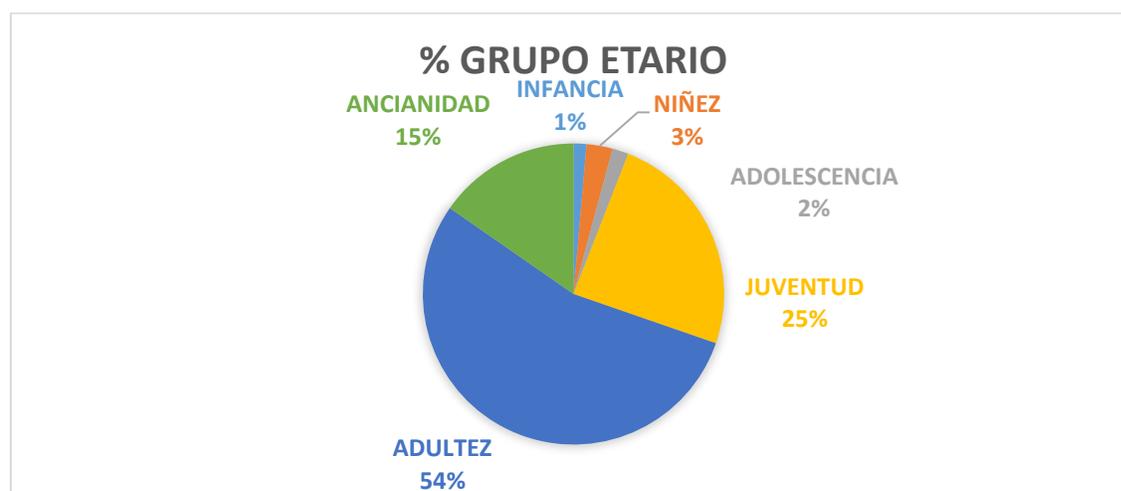
## PRESENTACIÓN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

En la tabla 2 y figura 9 y 10, corresponde al total de pruebas realizadas desde el mes de Marzo a Noviembre del 2021, la cual su porcentaje total según grupo etario de infancia correspondió al 1.39%, niñez 2.79%, adolescencia 1.74%, juventud 24.39%, adultez 54.36 % y la ancianidad 15.33%.

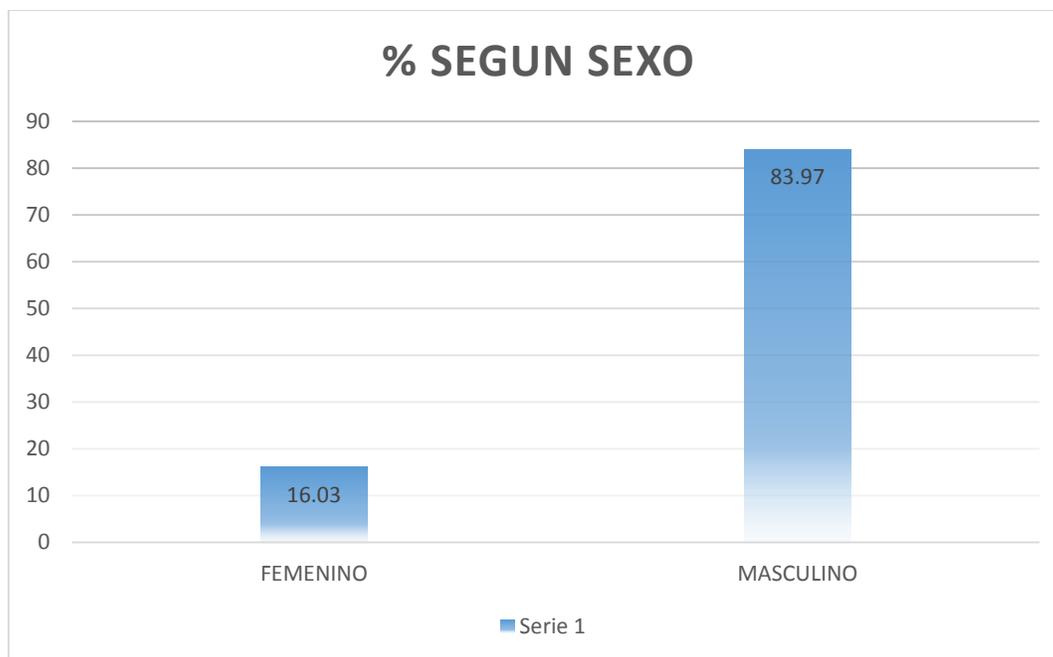
Del total de muestras procesadas se obtuvo un 16.03% del sexo femenino y 83.97% del sexo masculino.

**Tabla 2.** Total de pruebas realizadas según el grupo etario y sexo

GRUPO ETARIO	F	M	TOTAL	%
<b>INFANCIA</b> (1 – 5 años)	2	2	4	1.39 %
<b>NIÑEZ</b> (6 – 12 años)	4	4	8	2.79%
<b>ADOLESCENCIA</b> (16 – 18 años)	3	2	5	1.74 %
<b>JUVENTUD</b> (19 – 26 años)	3	67	70	24.39%
<b>ADULTEZ</b> (27 – 59 años)	22	134	156	54.36%
<b>ANCIANIDAD</b> (60 a +)	12	32	44	15.33%
<b>TOTAL</b>	<b>46</b>	<b>241</b>	<b>287</b>	<b>100%</b>



**Figura 9.** Total de pruebas realizadas según el grupo etario

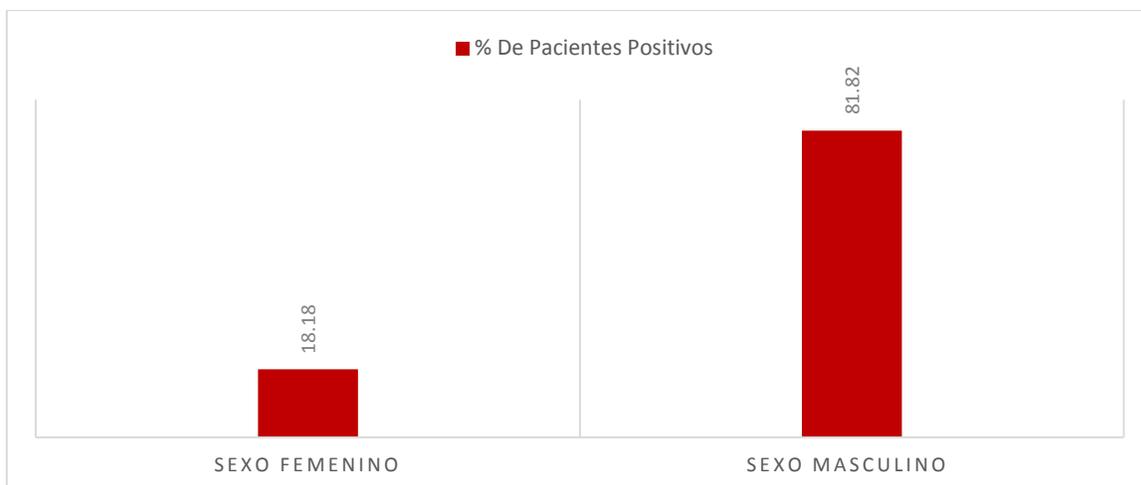


**Figura 10.** Porcentaje de muestras procesadas según su sexo (origen de nacimiento)

En la tabla 3 y figura 11 se ve la Relación de pacientes positivos con el método Xpert frente a su origen de nacimiento, lo cual se observa que del sexo femenino ocupa el 18.18% y del sexo masculino un 81.82%.

**Tabla 3.** Relación de pacientes positivos con el método Xpert frente a su origen de nacimiento.

RESULTADOS DEL MÉTODO XPERT	SEXO		TOTAL
	F	M	
MTB DETECTADO ALTO	7	12	19
MTB DETECTADO BAJO	0	11	11
MTB DETECTADO MEDIO	3	19	22
MTB DETECTADO MUY BAJO	0	3	3
<b>TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>45</b>	<b>55</b>
<b>TOTAL %</b>	18.18	81.82	100.00

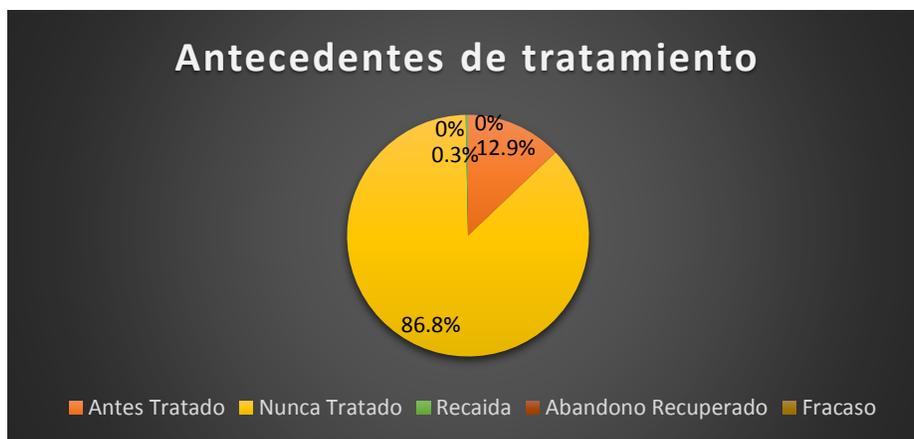


**Figura 11.** Porcentaje de pacientes positivos con el método Xpert frente a su origen de sexo

En la tabla 4 y figura 12 se encuentra el Porcentaje (%) total de pacientes con resultado de la técnica GeneXpert con antecedentes de tratamiento según la ficha de investigación bacteriológica, los cuales se obtiene por resultado de 12.9% para antes tratado, 86.8% para nunca tratado, 0.3% para pacientes con recaída y 0% para pacientes con abandono recuperado y fracaso.

**Tabla 4.** Resultados de porcentaje de procesos de GeneXpert relacionados con antecedentes de tratamiento

ANTECEDENTE DE TRATAMIENTO	CANTIDAD DE PROCESO DEL METODO XPERT MTB/RIF	% TOTAL
ANTES TRATADO	37	12.9 %
NUNCA TRATADO	249	86.8 %
RECAÍDA	1	0.3 %
ABANDONO RECUPERADO	0	0%
FRACASO	0	0%
<b>TOTAL</b>	<b>287</b>	<b>100 %</b>



**Figura 12.** Porcentaje de pacientes según antecedentes de tratamiento según la ficha de investigación bacteriológica con respecto a resultado del GeneXpert

En la tabla 5 se observa (%) total de pacientes con resultado del método Xpert, los cuales en resultado error tiene un 3.83%, MTB DETECTADO ALTO 6.62 %, MTB DETECTADO BAJO 3.83 %, MTB DETECTADO MEDIO 7.67 %, MTB DETECTADO MUY BAJO 1.05 % y MTB NO DETECTADA 77.00 %

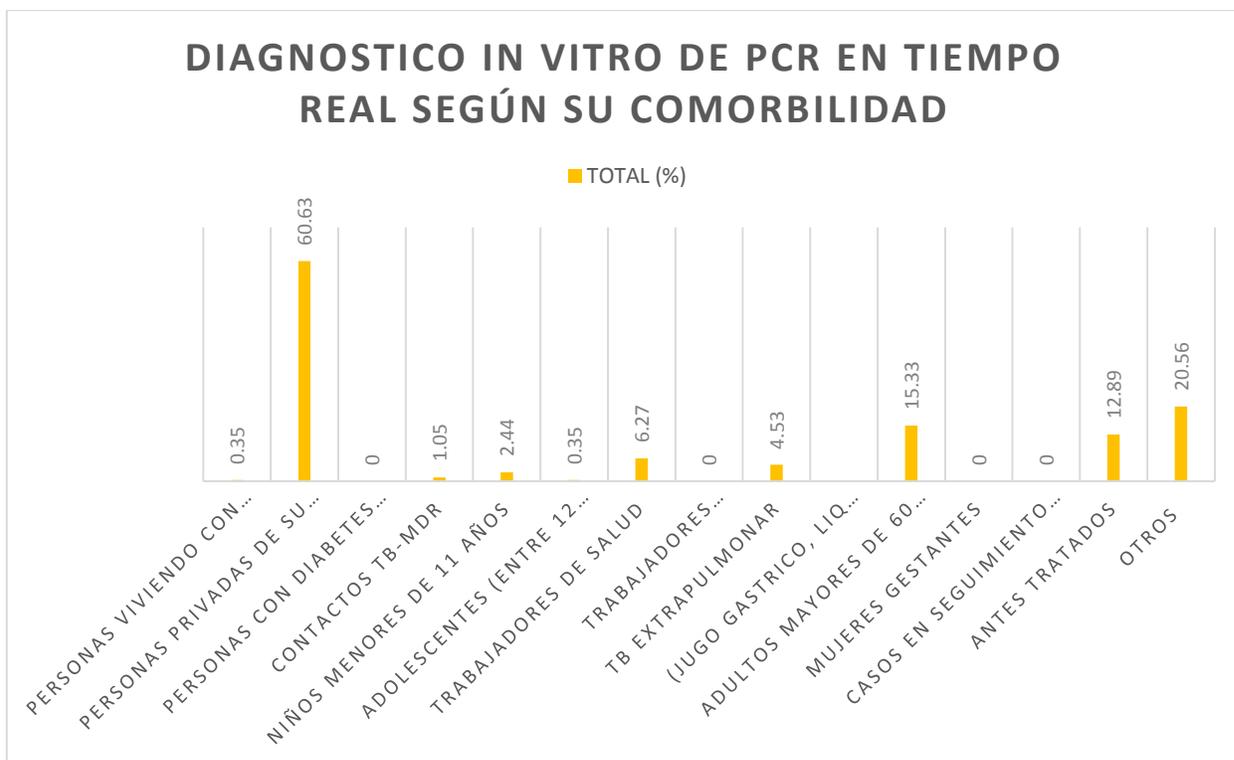
**Tabla 5.** Muestras procesadas según el método Xpert MTB/RIF según antecedentes de tratamiento

RESULTADO Del MÉTODO XPRT MTB/RIF	ANTECEDENTE DE TRATAMIENTO			TOTAL	% TOTAL
	ANTES TRATADO	NUNCA TRATADO	RECAÍDA		
<b>ERROR</b>	1	10	0	11	3.83 %
<b>MTB DETECTADO ALTO</b>	1	18	0	19	6.62 %
<b>MTB DETECTADO BAJO</b>	3	8	0	11	3.83 %
<b>MTB DETECTADO MEDIO</b>	2	19	1	22	7.67%
<b>MTB DETECTADO MUY BAJO</b>	1	2	0	3	1.05 %
<b>MTB NO DETECTADA</b>	29	192	0	221	77.0 %
<b>TOTAL</b>	<b>37</b>	<b>249</b>	<b>1</b>	<b>287</b>	<b>100 %</b>

En la tabla 6 y figura 13, se observa el diagnóstico in vitro de PCR en tiempo real de *Mycobacterium Tuberculosis* según su comorbilidad de la investigación, obteniéndose como resultado Personas viviendo con VIH 0.35 %, Personas privadas de su libertad 60.63 %, Personas con diabetes mellitus 0.00 %, Contactos TB-MDR 1.05 %, Niños menores de 11 años 2.44 %, Adolescentes (entre 12 y 17 años) 0.35 %, Trabajadores de salud 6.27 %, Trabajadores penitenciarios 0.00 %, Tb extrapulmonar (Jugo Gastrico, Liq Ascitico y LCR) 4.53%, Adultos mayores de 60 años 15.33 %, Mujeres gestantes 0.00 %, Casos en seguimiento diagnóstico 0.00 %, Antes tratados 12.89% y Otros 20.56

**Tabla 6.** Diagnóstico in vitro de PCR en tiempo real de *Mycobacterium Tuberculosis* según su comorbilidad

COMORBILIDAD	TOTAL (%)
PERSONAS VIVIENDO CON VIH	0.35
PERSONAS PRIVADAS DE SU LIBERTAD	60.63
PERSONAS CON DIABETES MELLITUS	0.00
CONTACTOS TB-MDR	1.05
NIÑOS MENORES DE 11 AÑOS	2.44
ADOLESCENTES (ENTRE 12 Y 17 AÑOS)	0.35
TRABAJADORES DE SALUD	6.27
TRABAJADORES PENITENCIARIOS	0.00
TB EXTRAPULMONAR (JUGO GASTRICO, LIQ ASCITICO Y LCR)	4.53
ADULTOS MAYORES DE 60 AÑOS	15.33
MUJERES GESTANTES	0.00
CASOS EN SEGUIMIENTO DIAGNÓSTICO	0.00
ANTES TRATADOS	12.89
OTROS	20.56



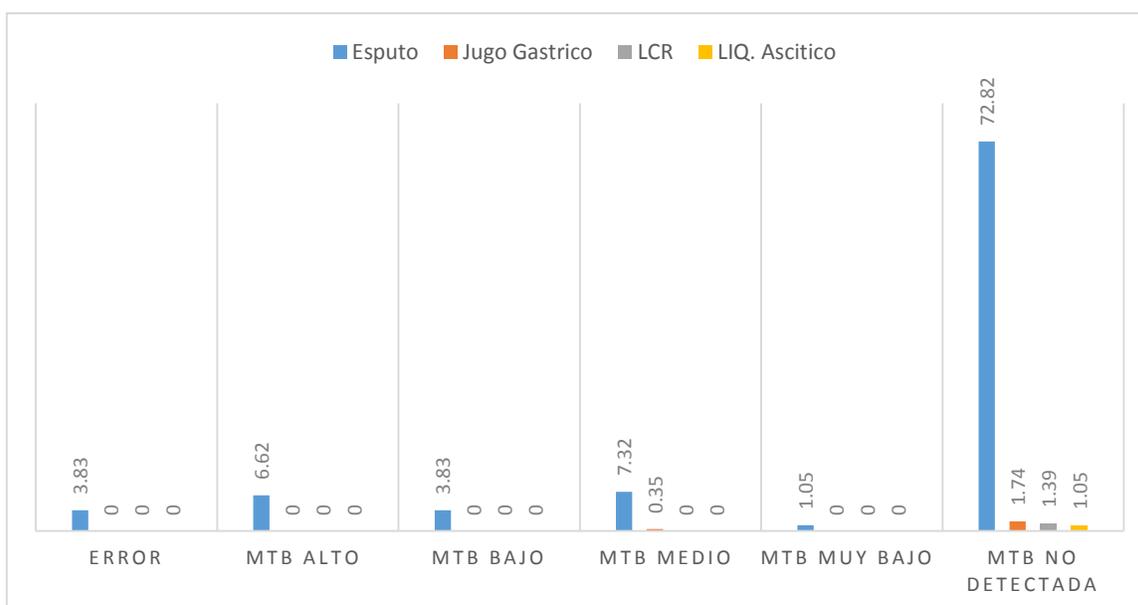
**Figura 13. DIAGNOSTICO IN VITRO DE PCR EN TIEMPO REAL SEGÚN SU COMORBILIDAD**

En la tabla 7 y figura 14 se observa resultados con el método XPERT MTB/RIF según el tipo de muestras procesadas durante esta investigación, las cuales se observa el mayor porcentaje de proceso en la muestra de ESPUTO con un 95.47%, seguidamente de JUGO GASTRICO con 2.09%, LCR con 1.39% y LIQ. ASCITICO con 1.05%.

La muestra de Espudo con respecto a los resultados con el método XPERT MTB/RIF en tipo de Error se tiene un 3.83%, Mtb Detectado Alto con un 6.62%, Mtb Detectado Bajo con un 3.83%, Mtb Detectado Medio con un 7.32%, Mtb Detectado Muy Bajo con 1.05% y finalmente Mtb No Detectada con un 72.82%. En la muestra de Jugo Gástrico se obtuvo Mtb Detectado Medio 0.35% y Mtb No Detectada 1.74%. Finalmente en muestra de LCR se obtuvo un 1.39% con Mtb No Detectada y Liq. Ascítico un 1.05%.

**Tabla 7.** Resultado con el método XPERT MTB/RIF según tipo de muestras usadas en esta investigación

RESULTADOS CON el método XPERT MTB/RIF	TIPO DE MUESTRAS							
	ESPUTO	% Total	JUGO GASTRICO	% Total	LCR	% Total	LIQ. ASCITICO	% TOTAL
<b>ERROR</b>	11	3.83	0	0.00	0	0.00	0	0.00
<b>MTB DETECTADO ALTO</b>	19	6.62	0	0.00	0	0.00	0	0.00
<b>MTB DETECTADO BAJO</b>	11	3.83	0	0.00	0	0.00	0	0.00
<b>MTB DETECTADO MEDIO</b>	21	7.32	1	0.35	0	0.00	0	0.00
<b>MTB DETECTADO MUY BAJO</b>	3	1.05	0	0.00	0	0.00	0	0.00
<b>MTB NO DETECTADA</b>	209	72.82	5	1.74	4	1.39	3	1.05
<b>TOTAL</b>	<b>274</b>	<b>95.47</b>	<b>6</b>	<b>2.09</b>	<b>4</b>	<b>1.39</b>	<b>3</b>	<b>1.05</b>
<b>% TOTAL</b>	<b>95.47%</b>		<b>2.09%</b>		<b>1.39%</b>		<b>1.05%</b>	



**Figura 14.** RESULTADO GRAFICO CON MÉTODO XPERT MTB/RIF SEGÚN TIPO DE MUESTRAS

En la tabla 8 y figura 15 y 16 se observa la relación entre los resultados de baciloscopias y resultados del método Xpert MTB/RIF, las cuales se observa la relación sobre toda

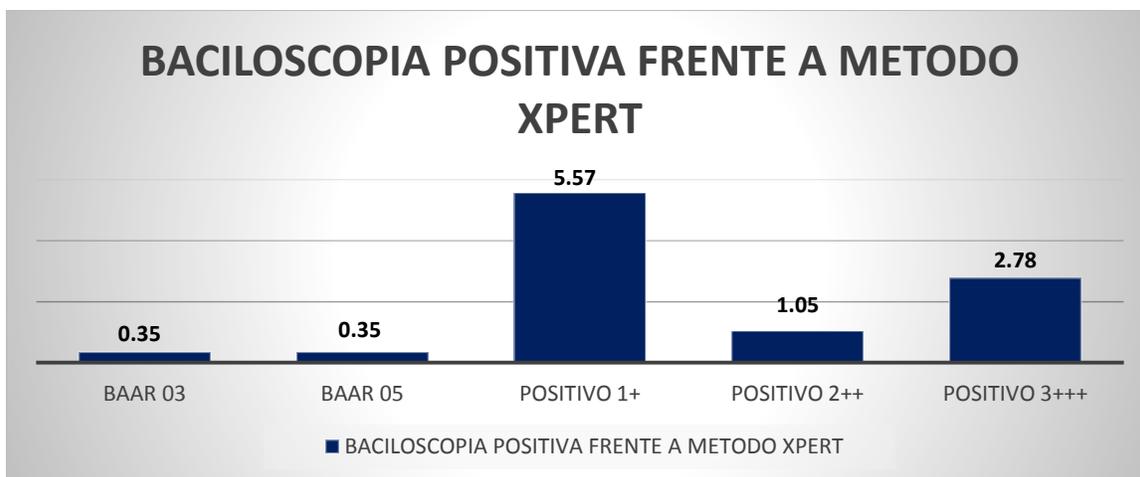
baciloscopia detectada para *Mycobacterium tuberculosis* y la detección de asertividad para MTB DETECTADA; la cual se tuvo por resultado 0.35 % en relación BAAR 03 Mtb Detectado Medio, 0.35% en relación BAAR 05 Mtb Detectado Medio, 5.57 % en relación POSITIVO 1+ en Mtb Detectado Alto, Bajo Y Medio; 1.05% En Relación POSITIVO 2++ En Mtb Detectado Alto Y Medio y 2.78 % en relación POSITIVO 3+++ en Mtb Detectado Alto; lo cual se observa que mediante baciloscopia se obtuvo un 10.45% de positividad y un 10.01 frente al método Xpert.

**Tabla 8.** Resultado de baciloscopias 1<sup>er</sup> y 2<sup>da</sup> muestra vs evaluación a resultado del método XPERT

RESULTADO DE BACILOSCOPIA	RESULTADO DE Método XPERT MTB/RIF							% TOTAL
	ERROR	MTB DETECTADO ALTO	MTB DETECTADO BAJO	MTB DETECTADO MEDIO	MTB DETECTADO MUY BAJO	MTB NO DETECTADA	TOTAL	
BAAR 03	0	0	0	1	0	0	1	0.35%
BAAR 05	0	0	0	1	0	0	1	0.35%
NEGATIVO	10	0	10	13	3	221	257	89.55%
POSITIVO 1+	1	9	1	6	0	0	17	5.92% (5.57%)
POSITIVO 2++	0	2	0	1	0	0	3	1.05%
POSITIVO 3+++	0	8	0	0	0	0	8	2.78%
<b>TOTAL</b>	<b>11</b>	<b>19</b>	<b>11</b>	<b>22</b>	<b>3</b>	<b>221</b>	<b>287</b>	<b>100%</b>



**Figura 15.** Resultados positivas mediante la técnica de baciloscopias



**Figura 16.** Resultados del método Xpert mediante resultados de baciloscopia

En la tabla 9 se observa el porcentaje de resultados positivos frente a la identificación de la mutación *gen rpoB*; las muestras con resultado MTB DETECTADA (resultados positivos) obteniéndose un 30.91 % en MTB DETECTADO ALTO, 20 % en MTB DETECTADO BAJO, 36.36% en MTB DETECTADO MEDIO y 5.45 % en MTB DETECTADO MUY BAJO; para Resistencia a Rifampicina No Detectada, mientras que frente a la identificación de la mutación *gen rpoB* se observó un 3.64% MTB DETECTADO ALTO y un 3.64% MTB DETECTADO MEDIO

**Tabla 9.** Resultados positivos con el método XPERT MTB/RIF con identificación a mutación del *gen rpoB*

RESULTADO CON EL MÉTODO XPERT MTB/RIF	IDENTIFICACIÓN DE MUTACIÓN DEL <i>gen RPOB</i>				TOTAL	TOTAL (%)
	RIF DETECT ADA	Total %	RIF NO DETECT ADA	Total %		
MTB DETECTADO ALTO	2	3.64	17	30.91	19	34.55%
MTB DETECTADO BAJO	0	0.00	11	20.00	11	20%
MTB DETECTADO MEDIO	2	3.64	20	36.36	22	40%
MTB DETECTADO MUY BAJO	0	0.00	3	5.45	3	5.45%
<b>TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>7.27</b>	<b>51</b>	<b>92.73</b>	<b>55</b>	<b>100%</b>

**Tabla 10.** El índice kappa

BK	GX		TOTAL
	Enfermos (+)	Sanos (-)	
Positivos	30	0	30
NEGATIVOS	26	221	247
TOTAL	56	221	277

**Cohen's Kappa**

Alpha 0.05

kappa 0.6480305

std err 0.06150303

lower 0.52748677

upper 0.76857422

Índice Kappa	Interpretación
0.00 – 0.20	Ínfima concordancia
0.20 – 0.40	Escasa concordancia
0.40 – 0.60	Moderada concordancia
0.60 – 0.80	Buena concordancia
0.80 – 1.00	Muy Buena concordancia

**Figura 17.** Interpretación del índice de Kappa

**Tabla 11.** Porcentaje de Sensibilidad, Especificidad, VPN, VPP

Item	Valor	Total %
La Sensibilidad (S)	0.54	53.6
La Especificidad €	1.00	100.0
El Valor predictivo negativo (VPN)	1.00	100.0
El Valor predictivo positivo (VPP)	0.89	89.5
% DE FALSOS NEGATIVOS		46.4 %
% DE FALSOS POSITIVOS		0.0 %



# **CAPITULO V: DISCUSIÓN**

## 5.1. Discusión de resultados

La tuberculosis es una enfermedad infectocontagiosa, curable y prevenible con un importante componente social, las cuales en el mundo y nuestro país aún no pueden combatirlo al 100%, gracias a muchos métodos avanzados hoy en día ayuda a la población a tener resultados fiables, certeros y rápidos, para un tratamiento a tiempo y poder combatir la enfermedad.

Villalobos Morales, C. & otros (2018) en su investigación presentó una sensibilidad frente al método Xpert para muestras pulmonares de 86.49% y en las muestras pulmonares, el valor predictivo positivo (VPP) fue de 52.38% y valor predictivo negativo (VPN), fue de 99.22%; muestras extrapulmonares de 90.18%; VPP para muestras extrapulmonares en este estudio fue de 25.00% y el VPN de 98.38%. El índice de Kappa que registro fue de 0.61, según su investigación mientras que en esta tesis se presentó un índice de 0.64 la cual indica que presenta este trabajo buena concordancia frente a la investigación.

En la presente tesis se obtuvo una sensibilidad del método Xpert con relación a bacilospia mediante la tinción Ziehl-Neelsen del de 53.6% y una especificidad de 100%, mientras que en investigaciones según (Colomer Roig, 2018) menciona en su trabajo de tesis que se encuentra su especificidad entre el 93.4% y 99.4%, teniendo en cuenta que esta investigación se tuvo un 95% y el tiempo de investigación fue durante 6 años consecutivos desde el año 2010 al año 2015; con valores de más de 145 resultados positivos ante esta prueba. La importancia de los valores predictivos es muy importante ya que mediante este valor se puede considerar mejoras y futuras investigaciones en esta tesis con la método Xpert se obtuvo un valor predictivo positivo de 89.5% y un valor predictivo negativo de 100%; la cual en la investigación de (Colomer Roig, 2018) su valor predictivo positivo fue 97.97% y su valor predictivo negativo fue de 95.45%, la negatividad de una prueba de baciloscopia no sería válido cuando se existe una fuerte sospecha de Tuberculosis, ya que se puede presentar la positividad mediante una prueba de PCR en tiempo real y para algunos resultados de positividad mediante la prueba de baciloscopia tendrá que ser confirmada por una prueba de PCR lo cual indicaría una falsa positividad.

SANABRIA DELGADO, (2018) refiere en su investigación que el porcentaje del sexo masculino presenta un predominio de 68.2 % y del sexo femenino 31.8 %; en muestras de esputo según su investigación se encontró un 82.8% y en muestras extrapulmonares refirió

como LCR un 10.4%, Aspirado gástrico con un 0.2% y Lavado broncoalveolar un 6.6%; y con respecto a su positividad frente a baciloscopia con MTB detectada en pacientes femeninos se obtuvo un 27% y masculinos 80%; mientras que en la presente tesis se presenta un porcentaje de procesos del sexo masculino un 83.97 % y del sexo femenino 16.03 %; y de ellas según muestras de esputo se obtuvo un 95.47% , en muestras extrapulmonares con jugo gástrico 2.09%, LCR 1.39% y Liq. Ascítico 1.05%; las cuales su porcentaje de positividad frente al método Xpert difiere en ambos sexos, predominando en del sexo masculino con 81.82% y del sexo femenino con 18.18%; la cual concuerda con SANABRIA DELGADO, (2018) que menciona que en gran parte del mundo hay más probabilidad de que hombres se les diagnostique esta enfermedad y esta situación puede deberse en parte a diferencias epidemiológicas como la exposición, riesgos de infección y la progresión de la enfermedad. La resistencia antimicrobiana hoy en día va en aumento del número de casos frecuente; frente a una o varias mutaciones del ADN, la cual genera que así sea uno de los tantos factores a que este patógeno se enfrente, como en la investigación de Ullah & otros (2016) que trabajo con 2391 muestras, 1408 (59%) resultaron positivas para MTB y, entre ellas, 408 (29%) mostraron resistencia a la rifampicina con mutaciones diferentes del gen rpoB dentro de 81 pb; en la tesis presentada se mostró 287 (100%) del total, la cual 55 (19.17%) de resultados positivos para MTB Detectada, la cual presentaron resistencia 4 (7.27%) mostrando alteraciones en el gen rpoB.

Frente a enfermedades con comorbilidad una de las más preocupantes es de las personas afectadas por el HIV por su parte Carriquiry Carreño, G. (2013) en su investigación demostró que pacientes con VIH muestran una alta sospecha clínica de TB, obteniéndose la sensibilidad de MTB / RIF fue del 97,8% , la especificidad fue del 97,7%; Mayta Condori, E. (2018), con pacientes con HIV, con diabetes mellitus presenta el 10.05%, mientras en la presente tesis se observó que personas con VIH corresponden al 0.35 %, Personas privadas de su libertad 60.63 %, Personas con diabetes mellitus 0.00 %, Contactos TB-MDR 1.05 %, Niños menores de 11 años 2.44 %, Adolescentes (entre 12 y 17 años) 0.35 %, Trabajadores de salud 6.27 %, Trabajadores penitenciarios 0.00 %, Tb extrapulmonar (Jugo Gastrico, Liq Ascítico y LCR) 4.53%, Adultos mayores de 60 años 15.33 %, Mujeres gestantes 0.00 %, Casos en seguimiento diagnóstico 0.00 %, Antes tratados 12.89% y Otros 20.56%.



**CAPITULO VI:  
CONCLUSIONES Y  
RECOMENDACIONES**

## 6.1. Conclusiones

- Se observó que el grupo etario con mayor número de muestras procesadas fue en la etapa de adultos con un 54.36 %; la cual corresponde al 83.97 % al sexo masculino
- De resultados positivos mediante el método Xpert se obtuvo un porcentaje elevado de 81.82% del sexo masculino.
- Las muestras procesadas con el método Xpert se obtuvo 86.8% para pacientes nunca tratado
- Se observó un elevado porcentaje de comorbilidad en personas privadas de su libertad con un 60.63%.
- De las muestras biológicas usadas en esta investigación; la muestra de esputo se procesaron en un 95.47%, las cuales dieron el mejor resultado para el diagnóstico de tuberculosis.
- Se observó mediante baciloscopia un 10.45% de pacientes positivos, lo cual frente al método Xpert mostro un 10.01% de positividad.
- Se identificó la mutación *gen rpoB* en un 7.27%, consecuentemente la evaluación de la sensibilidad fue de 53.6%, Especificidad de 100% y valores predictivos negativo (VPN) de 100%.

## 6.2. Recomendaciones

- Se recomienda a los futuros Tesista que tengan interés en el proyecto, de hacer la complementación con más distribuciones, como observación de según localidad, en niños menores de edad, en pacientes alcohólicos, pacientes drogadictos, u otro factor que presente de riesgo a la resistencia.
- Originar un seguimiento de este método Xpert frente a la Baciloscopia, comparando años de estudio, y el cambio de tamaño de muestra afecte el índice de concordancia ya preestablecido.
- Seguir con investigación más afondo de uso de tipo de muestra probabilística para asegurar que el sexo masculino tiene la mayor probabilidad de verse afectado frente a esta enfermedad de la tuberculosis y a su resistencia.



# **CAPITULO VII: REFERENCIAS**

## 7.1. FUENTES DOCUMENTALES

- Alvarez Calderón, D. (2019). *Detección de mutaciones en rpoB relacionadas a rifampicina-resistencia en aislamientos clínicos de Mycobacterium tuberculosis a través de un ensayo simple y de bajo costo basado en High Resolution Melting Analysis*. LIMA-PERÚ: Universidad Peruana Cayetano Heredia. Recuperado de [http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/6591/Deteccion\\_AlvarezCalde ron\\_Daniela.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/6591/Deteccion_AlvarezCalde ron_Daniela.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Carriquiry Carreño, G. (2013). *Evaluación del Xpert MTB/Rif un método de diagnóstico rápido para TBC en pacientes VIH positivos con sospecha de TBC pulmonar*. LIMA - PERÚ: Universidad Peruana Cayetano Heredia. Recuperado de [http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/7112/Evaluacion\\_CarriquiryCa rreno\\_Gabriela.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/7112/Evaluacion_CarriquiryCa rreno_Gabriela.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Colomer Roig, C. R. (2018). *"Tuberculosis en el Departamento de Salud Valencia Doctor Peset. Aportación de los Métodos de Microbiología Molecular"*. VALENCIA: UNIVERSIDAD DE VALENCIA. Recuperado de <https://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/67924/TESIS%20DOCTORAL.pdf?se quence=1>
- Mayta Condori, E. (2018). *Factores asociados a la selección de la prueba genexpert mtb/rif como prueba inicial en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar multidrogorresistente en pacientes con vih/sida internados en el servicio de infectología del Hospital Nacional Guillermo Almen*. TACNA- PERU: UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN. Recuperado de [http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/3331/1324\\_2018\\_mayta\\_c ondori\\_em\\_facsc\\_medicina\\_humana.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/3331/1324_2018_mayta_c ondori_em_facsc_medicina_humana.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Ullah, I., Shah, A., Basit, A., Ali, M., Khan, A., Ullah, U., . . . Mughal, A. Y. (2016). Rifampicin resistance mutations in the 81 bp RRDR of rpoB gene in Mycobacterium tuberculosis clinical isolates using Xpert MTB/RIF in Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan: a retrospective study. *Quaid-i-Azam University*, pag 2 -6. Recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27519406/>

Villalobos Morales, C., Soberanis López, S., & Guzman Escobar, B. (2018). *Evaluación de una técnica de PCR en tiempo real para el diagnóstico molecular del complejo Mycobacterium tuberculosis y su resistencia a la rifampicina*. GUATEMALA: UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA. Recuperado de <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB1219.pdf>

## 7.2. FUENTES BIBLIOGRÁFICAS

Brandan, N., Aguirre, M., Llanos, I., & Rodríguez, A. (2011). *Conceptos de Genética*. Argentina: Universidad Nacional Nordeste.

Calderón, G., & Aguilar, L. (2016). RESISTENCIA ANTIMICROBIANA: MICROORGANISMOS MÁS RESISTENTES Y ANTIBIÓTICOS CON MENOR ACTIVIDAD. *REVISTA MEDICA DE COSTA RICA Y CENTROAMERICA LXXIII*, 757 - 763.

Cañedo, R., Rodríguez, R., & Vázquez, M. (2009). Centro Nacional para la Información Biotecnológica de los Estados Unidos: un palacio de la información para la medicina molecular. *SCIELO*, 1-30. recuperado de: <http://scielo.sld.cu/pdf/aci/v19n4/aci03409.pdf>

Dlodlo, R., Brigden, G., & Heldal, E. (2019). MANEJO DE LA TUBERCULOSIS. En R. Dlodlo, G. Brigden, & E. Heldal. París, Francia: Unión Internacional Contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias (La Unión) 68 boulevard Saint-Michel, 75006 París, Francia.

Herrera, T., Arias, F., & Ruiz, N. (Mayo de 2017). *Implementación del GeneXpert MTB/RIF*. CHILE : edt. MINISTERIO DE SALUD - GOBIERNO DE CHILE .

López, E. (2002). *Infectología Pediátrica/ Manual Practico*. En E. López, *Infectología Pediátrica/ Manual Practico* (pág. 564 pag.). Argentina: edit. kliczkowski. Recuperado de <https://books.google.com.pe/books?id=bTMcJKjSu1AC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

- MINSA. (2013). *Norma técnica de salud para la atención integral de las personas afectadas por tuberculosis*. Jesús María - Lima - Perú: Ministerio de Salud. Recuperado de <http://www.tuberculosis.minsa.gob.pe/portaldpctb/recursos/20180308083418.pdf>
- Morán L., E., & Lazo A., Y. (15 de Marzo de 2001). Tuberculosis. *Rev Cubana Estomatol*, pag. 33-51. Recuperado de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75072001000100005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072001000100005)
- NIH. (04 de ABRIL de 2021). *NATIONAL HUMAN GENOME RESEARCH INSTITUTE*. recuperado de: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Hibridacion#:~:text=La%20hibridaci%C3%B3n%20es%20un%20proceso,por%20apareamiento%20de%20sus%20bases>.
- NCBI. (02 de 06 de 2020). *National Center for Biotechnology Informatio*. Recuperado de National Center for Biotechnology Informatio: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome?LinkName=genome\\_genome&from\\_uid=888164](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome?LinkName=genome_genome&from_uid=888164)
- OMS. (6 de DICIEMBRE de 2010). *ORGANIZACION MUNDIAL DE LAS SALUD*. Recuperado de ORGANIZACION MUNDIAL DE LAS SALUD: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2011/Hoja-Ruta-Introduccion-Xpert-MTB-RIF.pdf>
- Otzen, T., & Manterol, C. (2017). Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio. *SCIELO*, Pag. 227-232
- Paneque, E., & Rojas, L. Y. (2018). La Tuberculosis a través de la Historia: un enemigo de la humanidad. *Scielo*, PAG. 353- 363. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v17n3/1729-519X-rhcm-17-03-353.pdf>
- Ramírez, N., Méndez, A., Cocotle, B., & Arenas, J. (2003). REACCIÓN EN CADENA DE POLIMERASA. *REVISTA MEDICA DE LA UNIVERSIDAD DE VERACRUZANA*, 5-9.

Ramos, M. (19 de Julio de 2018). *Organizacion panamericana de la salud*. Recuperado de Organizacion panamericana de la salud: <https://www.paho.org/relacsis/index.php/es/areas-de-trabajo/desigualdades/item/1039-sintomatico-respiratorio>

Rios, J. (5 de JUNIO de 2018). *MINISTERIO DE SALUD (MINSA)*. Recuperado de MINISTERIO DE SALUD (MINSA): <http://www.tuberculosis.minsa.gob.pe/portaldpctb/recursos/20180605122521.pdf>

SANABRIA DELGADO, E. (2018). *EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE LA PRUEBA XPERT MTBD/RIF® PARA LA DETECCIÓN DE TUBERCULOSIS EN UN HOSPITAL PÚBLICO DE BUCARAMANGA*. COLOMBIA: UNIVERSIDAD DEL ROSARIO. Recuperado de <https://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/18047/Tesis%20EDITH%20VERENICE%20SANABRIA%20DELGADO%202018.pdf;jsessionid=E7417063DCBF243C01131DE3FCB3357A?sequence=1>

### 7.3. FUENTES HEMEROGRAFICAS

Acevedo, G., Vega, A. y Ribon, W . (septiembre-diciembre de 2013 de 2013). Tuberculosis Multidrogoresistente - Multidrug-resistant tuberculosis. *Revista de la Universidad Industrial de Santander, Vol.45 (No.3)*, pag. 87-92. Recuperado de <https://revistas.uis.edu.co/index.php/revistasaluduis/article/view/3899>

Agapito, J., Neyra, V., Castro, J., Accinelli, R., Rodríguez, I., & Espinoza, J. (2002). CARACTERIZACIÓN DE LAS MUTACIONES EN EL GEN *rpoβ* ASOCIADAS A LA RESISTENCIA A RIFAMPICINA EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, PAG. 117 - 123.

Bermejo, M., Clavera, F., De la Rosa, M., & Marín, B. (2007). Epidemiology of tuberculosis. *Scielo*, 7-19. Recuperado de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1137-66272007000400002&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1137-66272007000400002&script=sci_arttext&tlng=pt)

Graterol, O., Barreto, M., Ramos, N., Fernández, S., Da Mata, O., & Angulo, J. (2016). Diseño del Kit de Tinción Ziehl Neelsen del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”. *SCIELO, vol.47 (no.1-2)*, 1-2. Recuperado de

[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-04772016000100003#:~:text=La%20tinci%C3%B3n%20de%20Ziehl%20Neelsen,y%20Soluci%C3%B3n%20Decolorante%2C%20que%20se](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772016000100003#:~:text=La%20tinci%C3%B3n%20de%20Ziehl%20Neelsen,y%20Soluci%C3%B3n%20Decolorante%2C%20que%20se)

Huaroto, L., & Espinoza, M. (2009). Recomendaciones para el control de la transmisión de la tuberculosis en los hospitales. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, vol. 26 (n.3 ), pag. 364-69. Recuperado de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342009000300016](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342009000300016)

López, L., Hernández, M., Colín, C., Ortega, S., Cerón, G., & Cedejas, R. (Enero-Marzo de 2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *medigraphic*, Vol. 3(Núm. 1), pp 10-18. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/invd/ir-2014/ir141b.pdf>

Rodríguez, M., & Mendivelso, F. (Julio/Septiembre de 2018). Revista Médica Sanitas. *Volumen 21( No. 3)*. Recuperado de Revista Médica Sanitas: [https://www.unisanitas.edu.co/Revista/68/07Rev%20Medica%20Sanitas%2021-3\\_MRodriguez\\_et\\_al.pdf](https://www.unisanitas.edu.co/Revista/68/07Rev%20Medica%20Sanitas%2021-3_MRodriguez_et_al.pdf)

#### **7.4. FUENTES ELECTRÓNICAS**

Almánzar, E. (2019). *VALOR DIAGNÓSTICO DEL GENEXPERT MTB/RIF EN EL LAVADO BRONCOALVEOLAR EN PACIENTES CON SOSPECHA DE TUBERCULOSIS PULMONAR CON BACILOGRAFÍA NEGATIVA EN EL HOSPITAL GENERAL DE LA PLAZA DE LA SALUD EN EL PERIODO AGOSTO 2018 -ENERO 2019*. República Dominicana: UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO HENRIQUEZ UREÑA. Recuperado de <https://repositorio.unphu.edu.do/bitstream/handle/123456789/1356/Valor%20diagn%C3%B3stico%20del%20Genexpert%20MTBRIF%20en%20el%20lavado%20broncoalveolar%20en%20pacientes%20con%20sospecha%20de%20tuberculosis%20pulmonar%20con%20baciloscop%C3%ADa%20neg>

CDC. (10 de 09 de 2021). *Centros para el control y la prevención de enfermedades*. Recuperado de Portal web de los Centros Para el Control y la Prevención de

Enfermedades (CDC): <http://www.lacasadelnino.org/site/index.php/2-uncategorised/44-dia-mundial-de-la-tuberculosis.html>

INS. (2011). SUSCEPTIBILIDAD A DROGAS DE Mycobacterium tuberculosis MEDIANTE OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA (MODS). *Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud*. Recuperado de [https://repositorio.ins.gob.pe/xmlui/bitstream/handle/INS/1118/MODS.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=El%20m%C3%A9todo%20de%20MODS%20\(Microscop%C3%ADc,rifampicina%20directamente%20de%20dichas%20muestras](https://repositorio.ins.gob.pe/xmlui/bitstream/handle/INS/1118/MODS.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=El%20m%C3%A9todo%20de%20MODS%20(Microscop%C3%ADc,rifampicina%20directamente%20de%20dichas%20muestras).

Jorge, L. (27 de Noviembre de 2019). *PDFCOOKIE*. Recuperado de Tinción De Ziehl Neelsen: <https://pdfcookie.com/documents/tincion-de-ziehl-neelsen-g27ojjepokv0>

MedlinePlus. (1 de 05 de 2021). *MedlinePlus - Informacion de salud para usted*. Obtenido de MedlinePlus - Informacion de salud para usted recuperado de: <https://medlineplus.gov/spanish/pruebas-de-laboratorio/pruebas-de-pcr/#:~:text=%C2%BFQu%C3%A9%20son%20las%20pruebas%20de,c%C3%A9lulas%20anormales%20en%20una%20muestra>.

Mokobi, F. (08 de Septiembre de 2020). *Microbe Notes*. Recuperado de <https://microbenotes.com/ziehl-neelsen-staining/>

NIH. (10 de 05 de 2021). *National Human Genome Research Institute*. recuperado de: National Human Genome Research Institute: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Mutacion>

OMS. (26 de Enero de 2016). *ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD* . recuperado de: [https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=12924:manual-de-capacitacion-en-genexpert&Itemid=42250&lang=es](https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=12924:manual-de-capacitacion-en-genexpert&Itemid=42250&lang=es)

OMS. (17 de Octubre de 2019). *ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD*. Recuperado de ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD: <https://www.who.int/es/news->

room/fact-sheets/detail/tuberculosis#:~:text=Ese%20mismo%20a%C3%B1o%2C%20e1%2087,%2C%20Nigeria%2C%20Bangladesh%20y%20Sud%C3%A1frica.

OMS. (14 de OCTUBRE de 2020). *Organizacion Mundial de la Salud*. Recuperado de Organizacion Mundial de la Salud: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>

OPS. (2016). *Organizacion Panamericana de la Salud*. Recuperado de Global Laboratory Initiative: [https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=12924:manual-de-capacitacion-en-genexpert&Itemid=42250&lang=es](https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=12924:manual-de-capacitacion-en-genexpert&Itemid=42250&lang=es)

OPS. (2017). *ORGANIZACION PANAMERICANA DE SALUD*. Recuperado de ORGANIZACION PANAMERICANA DE SALUD: [https://www.paho.org/per/index.php?option=com\\_content&view=article&id=4075:tuberculosis&Itemid=0](https://www.paho.org/per/index.php?option=com_content&view=article&id=4075:tuberculosis&Itemid=0)

Rodríguez, R. (03 de Enero de 2016). *Gomeres- Salud, Historia, Cultura y Pensamiento*. Recuperado de Gomeres- Salud, Historia, Cultura y Pensamiento: <https://www.fundacionindex.com/gomeres/?p=1266>

SANIDAD. (4 de JULIO de 2018). *SANIDAD*. Recuperado de SANIDAD: <http://isanidad.com/117287/diagnostico-in-vitro-tecnica-complementaria-mas-significativa-en-el-proceso-asistencial/>

SIGNIFICADOS.COM. (27 de MAYO de 2020). *SIGNIFICADOS.COM*. Recuperado de SIGNIFICADOS.COM: <https://www.significados.com/in-vitro/>

Tamay de Dios, L., Ibarra, C., & Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Medigraphic- literatura biomedica*, Vol. 2, pag. 70 - 78. Recuperado de [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/52083062/pcr\\_medic\\_graphic.pdf?1489036646=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPcr\\_medic\\_graphic.pdf&Expires=160407829](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/52083062/pcr_medic_graphic.pdf?1489036646=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPcr_medic_graphic.pdf&Expires=160407829)

0&Signature=Lg4rA3vF0B5gBHU8VdmS-g36zNZyl-  
ZQ76nxCrwR4N~OHAjJvbtYs6cPYOo1UXS4C2LIRVjH2

## ANEXO

### ANEXO 1. FORMATO DE SOLICITUD DE INVESTIGACIÓN BACTERIOLÓGICA

DISA/DIRESA: ..... Red de Salud: .....

EESS: ..... 2. Servicio: ..... Cama N°

3. .... Edad  Sexo

Apellidos y Nombres

Hist. Clínica  DNI  Teléfono

Dirección: .....

Provincia: ..... Distrito: .....

Referencia: ..... Correo electrónico: .....

4. Tipo de Muestra: ..... Esputo  Otro  Especificar: .....

5. Antecedente de tratamiento: Nunca Tratado  Antes tratado: Recaida  Abandono Recup.  Fracaso

6. Diagnóstico: S.R.  Seg. Diagnóstico  Rx Anormal  Otro

7. Control de tratamiento: Mes  Esq. TB sensible  Esq. DR  Esq. MDR  Esq. XDR  Otros

8. Ex. solicitado: Baciloscopia: 1ra M  2da M  Otras (especificar N°)  Cultivo

Prueba de Sensibilidad: Rápida  Especificar: ..... Convencional  Especificar: .....

Otro examen (especificar): .....

9. Factores de riesgo TB resistente a medicamentos: .....

10. Fecha de obtención de la muestra: ..... 11. Calidad de la muestra: Adecuada  Inadecuada

12. Datos del solicitante:

Apellidos y Nombres: .....

Teléfono celular: ..... Correo: .....

13. Observaciones: .....

14. RESULTADOS: (PARA SER LLENADO POR EL LABORATORIO)						
Fecha	Procedimiento	N° de Registro de Laboratorio	Aspecto macroscópico	Resultados (solo marcar casilla correspondiente)		
				Negativo Anotar (-)	N° BAAR/ Colonias	POSITIVO (Anotar: +, ++, +++ con color rojo)
	Baciloscopia					
	Cultivo					

15. Apellidos y Nombres del Laboratorista: ..... 16. Fecha de entrega: .....

17. Observaciones: .....

.....

.....

## ANEXO 2. INSTRUCTIVO DE ANEXO 1

1. Escribir el nombre de la Dirección de Salud o Dirección Regional de Salud, Red de Salud y EESS.
2. Especificar el servicio y número de cama en el caso de pacientes hospitalizados.
3. **Datos de filiación:** Escribir apellidos y nombres, edad, sexo, número de historia clínica, DNI, teléfono celular personal o fijo, dirección (una referencia del domicilio) y correo electrónico con letra legible.
4. **Tipo de Muestra:** Marcar con una equis (X) si la muestra corresponde a esputo u otro (especificar la procedencia de la muestra). Solo marcar una opción.
5. **Antecedentes:** Al momento de la identificación del sintomático respiratorio, preguntar al paciente si en una anterior oportunidad ha recibido medicamentos anti-tuberculosis, o que le orientará para el registro si es nunca tratado o antes tratado. Solo marcar una opción.  
**Nunca tratado:** Marcar con una equis (X) si no recibió tratamiento o lo recibió por menos de 30 días.  
**Antes tratado:** Marcar con una equis (X) si cumple criterio de recaída, abandono recuperado o fracaso.
6. **Diagnóstico:** Se consideran tres categorías excluyentes de diagnóstico:
  - **Sintomático Respiratorio (S.R.):** Persona que tiene tos y expectoración por más de 15 días.
  - **Seguimiento diagnóstico:** Es cuando un sintomático respiratorio sospechoso de tuberculosis tiene dos baciloscopias negativas y se le solicitan más muestras de esputo y cultivo en la tercera y cuarta muestra procesada. Si durante el tiempo de espera del resultado del cultivo el paciente continúa con tos y expectoración, se deberán solicitar dos baciloscopias de diagnóstico cada dos semanas.
  - **Rayos X anormal:** Persona que siendo o no sintomático respiratorio, tiene indicación médica de baciloscopia, por presentar radiografía de pulmones anormal. Si el paciente es SR y tiene además rayos X anormal debe marcarse solo como rayos X anormal.
7. **Control de tratamiento:** En el primer casillero, colocar el mes de tratamiento al cual corresponde el control, y luego marcar con una equis (X) en el recuadro que corresponda al esquema de tratamiento.
8. **Examen solicitado:** Baciloscopia: Colocar una equis (X) en: 1ra. M. (Primera muestra), 2da. M. (Segunda muestra), según sea el caso y en el recuadro otras anotar el número de muestra que corresponde al Sintomático Respiratorio en seguimiento al diagnóstico (3ra, 4ta, etc.). **Cultivo:** Marcar con una equis (X) si se solicita cultivo.  
**Prueba de sensibilidad:** Marcar con una equis (X) si se solicita procesar una prueba de sensibilidad rápida o convencional.  
**Rápida:** Marcar con una equis (X) y especificar el método a

utilizar (MODS, Griess, Genotype) **Convencional:** Marcar con una equis (X) en el recuadro que corresponda al método convencional y especificar el método a utilizar (Löwenstein Jensen, Agar en placa o BACTEC). **Otro examen:** Especificar, por ejemplo tipificación de micobacteria, cultivo en medio BACTEC, etc.

9. **Factores de riesgo:** Registrar factores de riesgo para TB resistente que se hayan identificado en el paciente.
10. **Fecha de obtención de muestra:** Anotar la fecha que se recolecta la muestra.
11. **Calidad de la muestra:** Marcar si la muestra enviada al laboratorio es adecuada (tiene mas de 5 mililitros y es mucopurulenta) de lo contrario colocar inadecuada. No rechazar ninguna muestra.
12. **Datos del solicitante:** Escribir Apellidos y Nombres de la persona que solicita la baciloscopia, teléfono celular y correo electrónico (en caso de que se disponga).
13. **Observaciones:** El solicitante podrá anotar datos importantes que no figuren en el formato.
14. **RESULTADOS: Reportar en este formato solo baciloscopia y el cultivo.**
  - a) Fecha: Registrar la fecha de procesamiento de la baciloscopia o la fecha de siembra del cultivo.
  - b) Procedimiento: baciloscopia o cultivo.
  - c) N° de Registro de Laboratorio: Especificar el número de orden donde se registro la muestra procesada.
  - d) Aspecto macroscópico: Anotar el aspecto de la muestra al ser procesada: salival, mucosa, mucopurulenta, purulenta, hemoptoica. En caso de muestras extrapulmonares podría anotarse por ejemplo: En líquido pleural: serico, purulento, hemático.
  - e) Resultados: Anotar (-), el N° de BAAR o colonias (paucibacilar), (+), (++) o (+++) según corresponda. Los resultados positivos deben marcarse con lapicero rojo.
15. **Datos del Personal de laboratorio:** Escribir apellidos y nombres del laboratorista que procesó la muestra.
16. **Fecha de entrega:** Registrar la fecha que se entrega el resultado a la Estrategia Sanitaria de TB.
17. **Observaciones:** Anotar comentarios y sugerencias que el personal de laboratorio considere importantes. Por ejemplo, "Se envió muestra positiva para prueba rápida Genotype". En el caso de muestra paucibacilar se colocará: "Se observó 4 BAAR en cien campos", "N° de colonias", "se deriva la muestra a cultivo", "Se solicita más muestras". En el caso de que se contamine el cultivo se colocaría: "Cultivo Contaminado, Se solicitan más muestras", entre otros.

NOTA: Se deberá entregar una copia de esta solicitud con el resultado de baciloscopia y el número de registro del cultivo, para que el equipo de la Estrategia Sanitaria hagan el seguimiento respectivo. En casos positivos que requieran prueba rápida, debe enviarse la muestra con un duplicado de este formato incluyendo el resultado de la baciloscopia del laboratorio local.

### ANEXO 3. LIBRO DE REGISTRO DE MUESTRAS PARA INVESTIGACIÓN BACTERIOLÓGICA EN TUBERCULOSIS



PERÚ Ministerio de Salud

## ANEXO 3

### LIBRO DE REGISTRO DE MUESTRAS PARA INVESTIGACIÓN BACTERIOLÓGICA EN TUBERCULOSIS

DIRECCIÓN DE SALUD: ..... RED DE SALUD: .....

N° DE REGISTRO	FECHA DE RECEPCIÓN	APELLIDOS Y NOMBRES	SEXO Y EDAD		HISTORIA CLÍNICA	DNI	ESES DE PROCEDENCIA	TIPO DE MUESTRA	CALIDAD Y CANTIDAD DE MUESTRA	BACILOSCOPIA			
			M	F						SINTOMÁTICO RESPIRATORIO		SEGUIMIENTO DE DIAGNÓSTICO	
										N° MUESTRA (1,2)	RESULTADO	N° MUESTRA (3,4,5,6,7,8)	RESULTADO

N° DE REGISTRO	BACILOSCOPIA				PRUEBA DE SENSIBILIDAD RAPIDA					CULTIVO			OBSERVACIONES
	RX ANORMAL	EXTRA PULMONAR	CONTROL		FECHA DE ENVIO	FECHA DE RESULTADO	METODO	R	H	FECHA SIEMBRA	FECHA LECTURA FINAL	RESULTADO	
			N° DE MES (1,2,3...8...24)	RESULTADO									

## ANEXO 4. INSTRUCTIVO ANEXO 3 LIBRO DE REGISTRO DE MUESTRAS PARA INVESTIGACIÓN BACTERIOLÓGICA EN TUBERCULOSIS

El libro de Registro para la investigación Bacteriológica es el instrumento de información oficial del Instituto Nacional de Salud y de la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis (ESN PCT) tiene carácter confidencial, por lo que debe ser adecuadamente conservado (forrado con plástico transparente). Sirve para realizar el consolidado nacional trimestral y anual de la producción de pruebas de laboratorio para el diagnóstico de tuberculosis en todo el país.

**DIRECCIÓN DE SALUD Y RED DE SALUD:** Anotar el nombre de la DISA/DIRESA/GERESA y Red de Salud donde se ubica el laboratorio.

**ESTABLECIMIENTO DE SALUD:** Anotar el EESS o Institución donde está ubicado el laboratorio.

**RESPONSABLE:** Anotar el nombre del responsable del laboratorio notificante.

**N° DE REGISTRO:** Anotar el número de registro de cada muestra en forma correlativa del laboratorio notificante.

**FECHA DE RECEPCIÓN:** Anotar día, mes y año cuando el laboratorio recibe la muestra.

**APELLIDOS Y NOMBRES:** Anotar con letra legible los nombres y apellidos.

**SEXO Y EDAD:** Anotar la edad en años en la columna del sexo correspondiente.

**HISTORIA CLÍNICA:** Anotar el número de historia clínica o ficha familiar.

**DNI:** Anotar el número de DNI.

**ESS DE PROCEDENCIA:** Anotar el EESS de donde procede la muestra, puede ser una unidad tomadora de muestra o de otros laboratorios locales.

**TIPO DE MUESTRA:** Anotar si es esputo, aspirado gástrico, ganglio, pleura, líquido pleural, líquido céfalo-raquídeo, etc.

**CALIDAD Y CANTIDAD DE MUESTRA:** Anotar la evaluación macroscópica de la muestra: muco-purulenta, purulenta, hemoptoica, salival, etc. y la cantidad en ml.

**BACILOSCOPIA:** Registrar en el tipo de baciloscopia.

- **SINTOMÁTICO RESPIRATORIO:** Anotar N° de muestra 1 y 2 y resultados: (-), (+), (++) , (+++). Anotar el resultado positivo con color rojo.

- **SEGUIMIENTO DIAGNÓSTICO:** Anotar N° de muestras 3 al 8 y resultados como en el caso anterior.

- **RX ANORMAL:** Anotar Si o No presenta radiografía de pulmones anormal.

- **EXTRAPULMONAR:** En el casillero se registrará el resultado de las muestras extrapulmonares con lapicero tinta roja si el resultado es positivo. Toda muestra extrapulmonar será derivada a cultivo.

- **CONTROL:** Control del tratamiento, anotar N° de mes de control 1, 2, 3...24 y el resultado como el caso anterior.

**PRUEBA DE SENSIBILIDAD RÁPIDA:** Anotar la fecha de envió para prueba de sensibilidad rápida a isoniacida y rifampicina, la fecha de resultado, el método de la prueba de sensibilidad rápida y el resultado R (resistente) y S (sensible) para estos dos medicamentos.

**CULTIVOS:** Anotar fecha de siembra, fecha de lectura final y resultado. Los resultados positivos se escriben con color rojo.

**OBSERVACIONES:** Anotar datos importantes que no registren previamente: envíos a prueba rápida, cantidad de la muestra (muestra insuficiente), contaminación de la muestra, entre otros.

## ANEXO 5. POSIBLES RESULTADOS DEL GENEXPERT

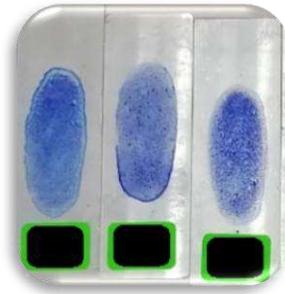
RESULTADO	INTERPRETACIÓN
<b>MTB DETECTED;</b> <b>Rif Resistance</b> <b>DETECTED (MTB</b> <b>DETECTADO;</b> <b>Resistencia a RIF</b> <b>DETECTADA)</b>	<p>La muestra contiene la secuencia diana de MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Se ha detectado una mutación en el gen rpoB que está dentro del intervalo válido para delta Ct.</li> <li>SPC: NA (no aplicable). No se requiere una señal de SPC porque la amplificación de MTB puede competir con este control.</li> <li>Comprobación de la sonda: PASS (CORRECTO). Todos los resultados de la comprobación de sonda son aceptables.</li> </ul>
<b>MTB DETECTED;</b> <b>Rif Resistance NOT</b> <b>DETECTED (MTB</b> <b>DETECTADO;</b> <b>Resistencia a RIF NO</b> <b>DETECTADA)</b>	<p>La muestra contiene la secuencia diana de MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>No se ha detectado ninguna mutación en el gen rpoB.</li> <li>SPC: NA (no aplicable). No se requiere una señal de SPC porque la amplificación de MTB puede competir con este control.</li> <li>Comprobación de la sonda: PASS (CORRECTO). Todos los resultados de la comprobación de sonda son aceptables.</li> </ul>
<b>MTB DETECTED;</b> <b>Rif Resistance</b> <b>INDETERMINATE</b> <b>(MTB DETECTADO;</b> <b>Resistencia a RIF</b> <b>INDETERMINADA)</b>	<p>La muestra contiene la secuencia diana de MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>No se pudo determinar la resistencia a RIF debido a una detección insuficiente de la señal.</li> <li>SPC: NA (no aplicable). No se requiere una señal de SPC porque la amplificación de MTB puede competir con este control.</li> <li>Comprobación de la sonda: PASS (CORRECTO). Todos los resultados de la comprobación de sonda son aceptables.</li> </ul>
<b>MTB Not Detected</b> <b>( MTB no detectado )</b>	<p>No se ha detectado la secuencia diana de MTB en la muestra:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>SPC: PASS (CORRECTO). El SPC cumplió los criterios de aceptación.</li> <li>Comprobación de la sonda: PASS (CORRECTO). Todos los resultados de la comprobación de sonda son aceptables.</li> </ul>
<b>INVALID</b> <b>( NO VÁLIDO )</b>	<p>No se puede determinar la presencia o ausencia de MTB. El SPC no cumple los criterios de aceptación, la muestra no se ha procesado correctamente o se ha inhibido la PCR. Repita la prueba. Consulte el apartado Procedimiento de repetición de la prueba de este documento.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>MTB INVALID (MTB NO VÁLIDO): No se puede determinar la presencia o ausencia de ADN de MTB.</li> <li>SPC: FAIL (INCORRECTO). El resultado para la secuencia diana de MTB diana es negativo y el Ct del SPC no está dentro del intervalo válido.</li> <li>Comprobación de la sonda: PASS (CORRECTO). Todos los resultados de la comprobación de sonda son aceptables.</li> </ul>
<b>ERROR</b>	<p>No se puede determinar la presencia o ausencia de MTB. Repita la prueba. Consulte el apartado Procedimiento de repetición de la prueba de este documento.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>MTB: NO RESULT (SIN RESULTADO)</li> <li>SPC: NO RESULT (SIN RESULTADO)</li> <li>Comprobación de la sonda: FAIL (INCORRECTO). Uno o todos los resultados de comprobación de la sonda han fallado.</li> </ul> <p>Nota: Si la comprobación de la sonda es correcta, el error se debe al fallo de un componente del sistema.</p>
<b>NO RESULT</b> <b>(SIN RESULTADO)</b>	<p>No se puede determinar la presencia o ausencia de MTB. Repita la prueba. Consulte el apartado Procedimiento de repetición de la prueba de este documento. Un resultado NO RESULT (SIN RESULTADO) indica que no se han obtenido suficientes datos. Por ejemplo, si el usuario detiene una prueba en curso.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>MTB: NO RESULT (SIN RESULTADO)</li> <li>SPC: NO RESULT (SIN RESULTADO)</li> <li>Comprobación de la sonda: NA (no aplicable)</li> </ul>







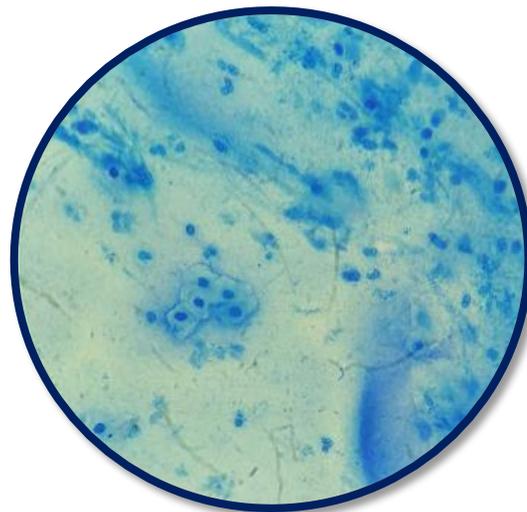
**ANEXO 9. LAMINAS COLOREADAS CON LA TÉCNICA DE ZIEHL NEELSEN**



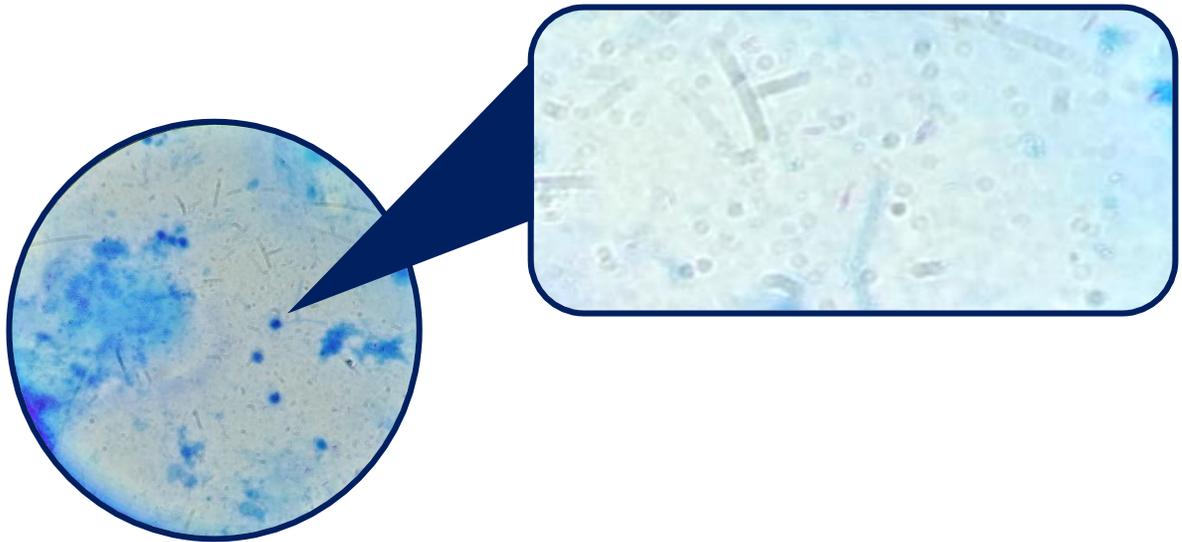
**ANEXO 10. SERVICIO DE TUBERCULOSIS**



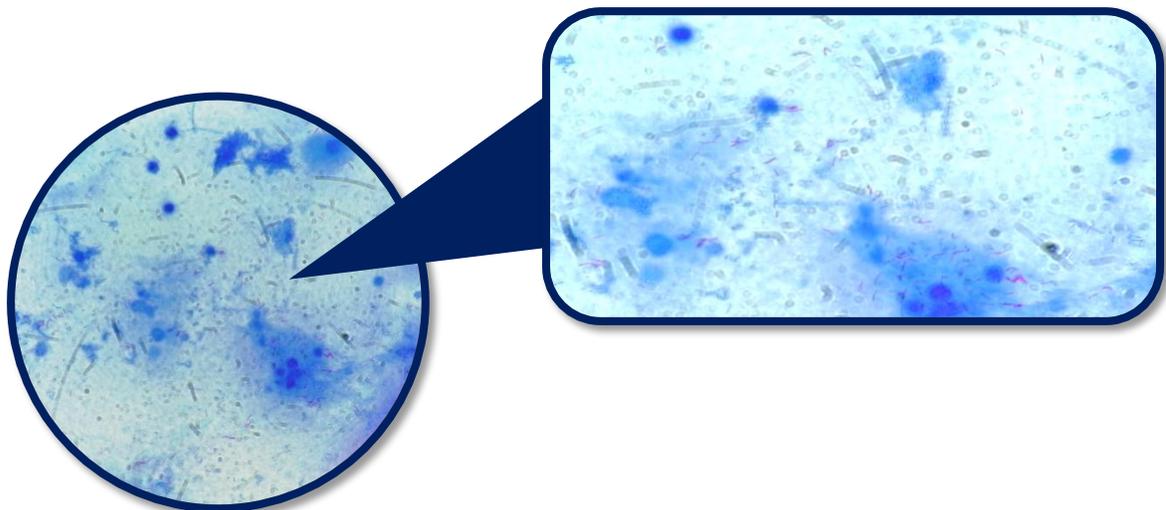
**ANEXO 11. LAMINA DE BACILOSCOPIA NEGATIVA**



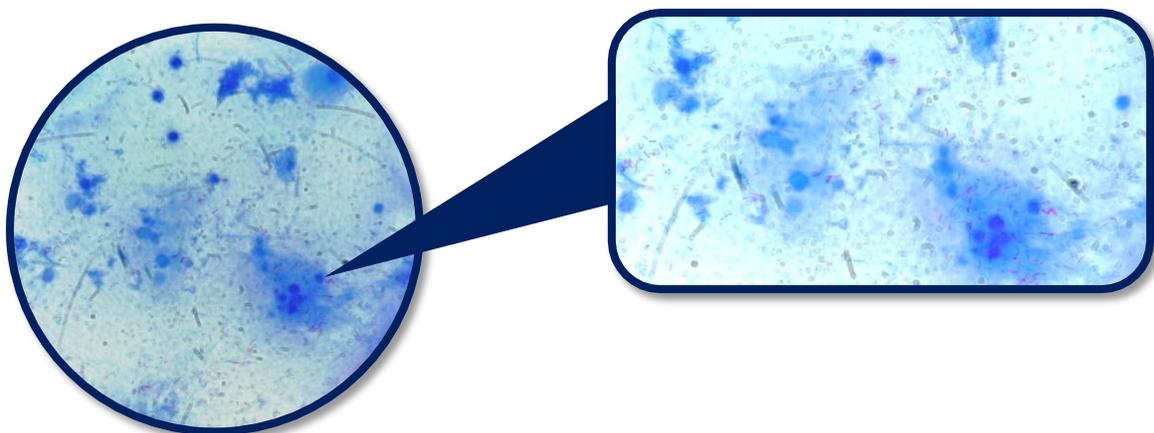
**ANEXO 12. LAMINA DE BACILOSCOPIA POSITIVA 1+**



**ANEXO 13. LAMINA DE BACILOSCOPIA POSITIVA 2++**



**ANEXO 14. LAMINA DE BACILOSCOPIA POSITIVA 3+++**



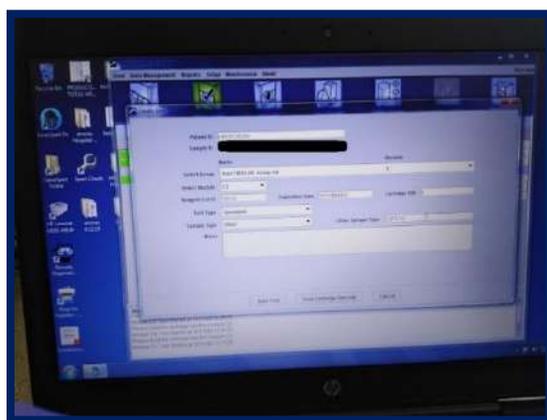
## ANEXO 15. CARTUCHOS DE GENE XPERT



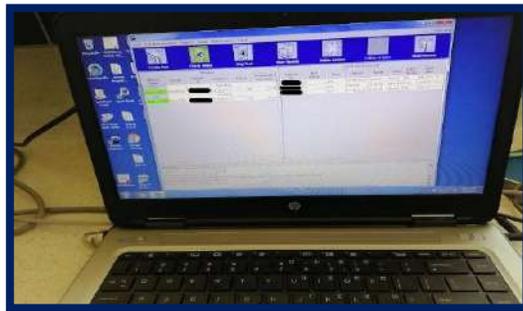
## ANEXO 16. EQUIPO CEPEHID - GENE XPERT (4 MODULOS) Y ORDENADOR



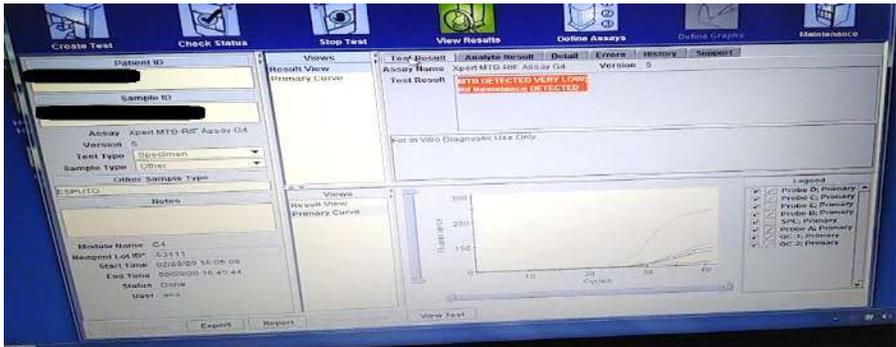
## ANEXO 17. METODO DE INGRESO (REGISTRO DE MUESTRA) A LA PLATAFORMA



**ANEXO 18. ORDENADOR CON MUESTRAS YA REGISTRADAS DENTRO DEL SISTEMA OPERATIVO**



**ANEXO 19. FORMA DE IMPRESION DE RESULTADOS**

RESULTADO	INTERPRETACIÓN						
<p><b>MTB DETECTADO; Resistencia a RIF DETECTADA</b></p>	<p>GeneXpert PC <span style="float: right;">11/25/21 07:21:14</span></p> <p style="text-align: center;"><b>Test Report</b></p> <p>Patient ID: [REDACTED]            Sample ID: [REDACTED]            Test Type: Specimen            Sample Type: ESPUTO</p> <p>Assay Information</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Assay</th> <th>Assay Version</th> <th>Assay Type</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Xpert MTB-RIF Assay G4</td> <td>5</td> <td>In Vitro Diagnostic</td> </tr> </tbody> </table> <p>Test Result: <b>MTB DETECTED MEDIUM, Rif Resistance DETECTED</b></p>	Assay	Assay Version	Assay Type	Xpert MTB-RIF Assay G4	5	In Vitro Diagnostic
Assay	Assay Version	Assay Type					
Xpert MTB-RIF Assay G4	5	In Vitro Diagnostic					
<p><b>MTB DETECTADO; Resistencia a RIF NO DETECTADA</b></p>	 <p>GeneXpert PC <span style="float: right;">11/25/21 07:21:14</span></p> <p style="text-align: center;"><b>Test Report</b></p> <p>Patient ID: [REDACTED]            Sample ID: [REDACTED]            Test Type: Specimen            Sample Type: ESPUTO</p> <p>Assay Information</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Assay</th> <th>Assay Version</th> <th>Assay Type</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Xpert MTB-RIF Assay G4</td> <td>5</td> <td>In Vitro Diagnostic</td> </tr> </tbody> </table> <p>Test Result: <b>MTB DETECTED LOW, Rif Resistance NOT DETECTED</b></p>	Assay	Assay Version	Assay Type	Xpert MTB-RIF Assay G4	5	In Vitro Diagnostic
Assay	Assay Version	Assay Type					
Xpert MTB-RIF Assay G4	5	In Vitro Diagnostic					

	<p>GeneXpert PC <span style="float: right;">11/25/21 07:21:14</span></p> <p style="text-align: center;"><b>Test Report</b></p> <p>Patient ID: [REDACTED]  Sample ID: [REDACTED]  Test Type: Specimen  Sample Type: ESPUTO</p> <p>Assay Information</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Assay</th> <th>Assay Version</th> <th>Assay Type</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Xpert MTB-RIF Assay G4</td> <td>5</td> <td>In Vitro Diagnostic</td> </tr> </tbody> </table> <p>Test Result: <b>MTB DETECTED MEDIUM;</b>  <b>Rif Resistance NOT DETECTED;</b></p>	Assay	Assay Version	Assay Type	Xpert MTB-RIF Assay G4	5	In Vitro Diagnostic
Assay	Assay Version	Assay Type					
Xpert MTB-RIF Assay G4	5	In Vitro Diagnostic					
	<p>GeneXpert PC <span style="float: right;">11/25/21 07:21:14</span></p> <p style="text-align: center;"><b>Test Report</b></p> <p>Patient ID: [REDACTED]  Sample ID: [REDACTED]  Test Type: Specimen  Sample Type: ESPUTO</p> <p>Assay Information</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Assay</th> <th>Assay Version</th> <th>Assay Type</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Xpert MTB-RIF Assay G4</td> <td>5</td> <td>In Vitro Diagnostic</td> </tr> </tbody> </table> <p>Test Result: <b>MTB DETECTED HIGH;</b>  <b>Rif Resistance NOT DETECTED;</b></p>	Assay	Assay Version	Assay Type	Xpert MTB-RIF Assay G4	5	In Vitro Diagnostic
Assay	Assay Version	Assay Type					
Xpert MTB-RIF Assay G4	5	In Vitro Diagnostic					
<p style="text-align: center;"><b>MTB Not Detected ( MTB no detectado)</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>Test Report</b></p> <p>Patient ID: [REDACTED]  Sample ID: [REDACTED]  Test Type: Specimen  Sample Type: ESPUTO</p> <p>Assay Information</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Assay</th> <th>Assay Version</th> <th>Assay Type</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Xpert MTB-RIF Assay G4</td> <td>5</td> <td>In Vitro Diagnostic</td> </tr> </tbody> </table> <p>Test Result: <b>MTB NOT DETECTED</b></p>	Assay	Assay Version	Assay Type	Xpert MTB-RIF Assay G4	5	In Vitro Diagnostic
Assay	Assay Version	Assay Type					
Xpert MTB-RIF Assay G4	5	In Vitro Diagnostic					
<p style="text-align: center;"><b>ERROR</b></p>	<p>GeneXpert PC <span style="float: right;">11/12/21 14:26:51</span></p> <p style="text-align: center;"><b>Test Report</b></p> <p>Patient ID: [REDACTED]  Sample ID: [REDACTED]  Test Type: Specimen  Sample Type: ESPUTO</p> <p>Assay Information</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Assay</th> <th>Assay Version</th> <th>Assay Type</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Xpert MTB-RIF Assay G4</td> <td>5</td> <td>In Vitro Diagnostic</td> </tr> </tbody> </table> <p>Test Result: <b>ERROR</b></p>	Assay	Assay Version	Assay Type	Xpert MTB-RIF Assay G4	5	In Vitro Diagnostic
Assay	Assay Version	Assay Type					
Xpert MTB-RIF Assay G4	5	In Vitro Diagnostic					

## ANEXO 20. PROCESANDO MUESTRAS PARA GeneXper

