



Pruebas con sondas lineales para detectar la tuberculosis farmacorresistente

Manual sobre interpretación y notificación de resultados dirigido al personal médico y de laboratorio



Pruebas con sondas lineales para detectar la tuberculosis farmacorresistente

Manual sobre interpretación y
notificación de resultados dirigido
al personal médico y de laboratorio



Versión oficial en español de la obra original

Line probe assays for detection of drug-resistant tuberculosis: interpretation and reporting manual for laboratory staff and clinicians

© Organización Mundial de la Salud, 2022

ISBN: 978-92-4-004666-5 (versión electrónica)

Pruebas con sondas lineales para detectar la tuberculosis farmacorresistente. Manual sobre interpretación y notificación de resultados dirigido al personal médico y de laboratorio

ISBN: 978-92-75-32611-4 (PDF)

ISBN: 978-92-75-12611-0 (versión impresa)

© Organización Panamericana de la Salud, 2022

Algunos derechos reservados. Esta obra está disponible en virtud de la licencia Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 3.0 Organizaciones intergubernamentales de Creative Commons (CC BY-NC-SA 3.0 IGO).



Con arreglo a las condiciones de la licencia, se permite copiar, redistribuir y adaptar la obra con fines no comerciales, siempre que se utilice la misma licencia o una licencia equivalente de Creative Commons y se cite correctamente, como se indica más abajo. En ningún uso que se haga de esta obra debe darse a entender que la Organización Panamericana de la Salud (OPS) respalda una organización, producto o servicio específicos. No está permitido utilizar el logotipo de la OPS.

Adaptaciones: si se hace una adaptación de la obra, debe añadirse, junto con la forma de cita propuesta, la siguiente nota de descargo: “Esta publicación es una adaptación de una obra original de la Organización Panamericana de la Salud (OPS). Las opiniones expresadas en esta adaptación son responsabilidad exclusiva de los autores y no representan necesariamente los criterios de la OPS”.

Traducciones: si se hace una traducción de la obra, debe añadirse, junto con la forma de cita propuesta, la siguiente nota de descargo: “La presente traducción no es obra de la Organización Panamericana de la Salud (OPS). La OPS no se hace responsable del contenido ni de la exactitud de la traducción”.

Cita propuesta: Organización Panamericana de la Salud. Pruebas con sondas lineales para detectar la tuberculosis farmacorresistente. Manual sobre interpretación y notificación de resultados dirigido al personal médico y de laboratorio. Washington, DC: OPS; 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.37774/9789275326114>.

Datos de catalogación: pueden consultarse en <http://iris.paho.org>.

Ventas, derechos y licencias: para adquirir publicaciones de la OPS, diríjase a sales@paho.org. Para presentar solicitudes de uso comercial y consultas sobre derechos y licencias, véase www.paho.org/es/publicaciones/permisos-licencias.

Materiales de terceros: si se desea reutilizar material contenido en esta obra que sea propiedad de terceros —como cuadros, figuras o imágenes—, corresponde al usuario determinar si se necesita autorización para tal reutilización y obtener la autorización del titular del derecho de autor. Recae exclusivamente sobre el usuario el riesgo de que se deriven reclamaciones de la infracción de los derechos de uso de un elemento que sea propiedad de terceros.

Notas de descargo generales: las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la OPS, juicio alguno sobre la condición jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites. Las líneas discontinuas en los mapas representan de manera aproximada fronteras respecto de las cuales puede que no haya pleno acuerdo.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o de nombres comerciales de ciertos productos no implica que la OPS los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las denominaciones de productos patentados llevan letra inicial mayúscula.

La OPS ha adoptado todas las precauciones razonables para verificar la información que figura en la presente publicación. No obstante, el material publicado se distribuye sin garantía de ningún tipo, ni explícita ni implícita. El lector es responsable de la interpretación y el uso que haga de ese material, y en ningún caso la OPS podrá ser considerada responsable de daño alguno causado por su utilización.

CDE/HT/2022

Índice

Agradecimientos	v
Acrónimos y abreviaturas	vi
Glosario	vii
Prólogo	viii
Introducción	1
Principio de las pruebas con sondas lineales	2
GenoType MTBDRplus versión 2	3
GenoType MTBDRsl versión 2	3
Interpretación y notificación de resultados	4
Modificaciones introducidas a las interpretaciones de los fabricantes (2, 15)	6
Definición de medidas diagnósticas complementarias para orientar el inicio de un tratamiento adecuado	8
Interpretación de los resultados de pruebas con sondas lineales para fármacos de primera línea	11
Rifampicina	11
Isoniacida	13
Interpretación de los resultados de pruebas con sondas lineales para fármacos de segunda línea	15
Fluoroquinolonas	15
Amikacina	18
Evaluación de los casos de TB farmacorresistente a partir de los resultados de las pruebas con sondas lineales para fármacos de segunda línea	20
Caso 1. No hubo mutaciones de resistencia detectadas ni inferidas en ninguna de las regiones genómicas incluidas en la prueba con sondas lineales para fármacos de segunda línea	20
Caso 2. Detección de mutaciones de resistencia asociadas con resistencia de alto nivel a la moxifloxacina	21
Caso 3. Detección de mutaciones de resistencia asociadas con al menos resistencia de bajo nivel a la moxifloxacina	22
Caso 4. Mutación precisa desconocida, solo inferida para fluoroquinolonas (es decir, <i>gyrA</i> y <i>gyrB</i>)	23
Caso 5. Detección de mutaciones que causan resistencia a la amikacina	24

Caso 6. Mutación precisa desconocida, solo inferida, en la región de <i>rrs</i>	25
Caso 7. Mutación precisa desconocida, solo inferida, en la región de <i>eis</i>	26
Referencias	27
Anexo 1: Modelo de informe de los resultados de la prueba con sondas lineales para fármacos de primera línea y ejemplos prácticos	29
Anexo 2: Modelo de informe de los resultados de la prueba con sondas lineales para fármacos de segunda línea y ejemplos prácticos	30
Anexo 3: Cambios de nucleótidos específicos detectados con las sondas de mutación	32

Agradecimientos

El presente manual es una versión actualizada de la guía de interpretación y notificación de resultados de las pruebas con sondas lineales, elaborada en su origen como un producto del grupo central de la Iniciativa Mundial de Laboratorios por Elisa Tagliani (Instituto Científico San Raffaele, Milán, Italia), con contribuciones de Daniela Cirillo (Instituto Científico San Raffaele), Elisa Ardizzoni, Bouke de Jong y Leen Rigouts (Instituto de Medicina Tropical, Amberes, Bélgica).

Dennis Falzon, Christopher Gilpin, Lice González-Angulo, Alexei Korobitsyn, Fuad Mirzayev y Karin Weyer, del Programa Mundial sobre Tuberculosis de la Organización Mundial de la Salud (OMS), proporcionaron coordinación y aportes técnicos fundamentales durante la ultimación del documento. Se agradece a los miembros antiguos y actuales del grupo central de la Iniciativa Mundial de Laboratorios por su amplia contribución: Olajumoke Tubi Abiola, Maka Akhalaia, Heidi Albert, Heather Alexander, Uladzimir Antonenka, Martina Casenghi, Fernanda Dockhorn, Kathleen England, Lucilaine Ferrazoli, Christopher Gilpin, Petra de Haas, Patricia Hall, Sarder Tanzir Hossain, Marguerite Massinga Loembe, Alaine Umubyeyi Nyaruhirira, Daniel Orozco, Kaiser Shen, Thomas Shinnick, Alena Skrahina, Sabira Tahseen y Hung van Nguyen.

La OMS agradece los comentarios recibidos de los siguientes asociados y partes interesadas: Ignacio Monedero-Recuero de la Iniciativa Mundial para la Tuberculosis Farmacorresistente, Paolo Miotto (Instituto Científico San Raffaele), Claudio Köser (Universidad de Cambridge, Reino Unido), Natalia Shubladze (grupo central de la Iniciativa Mundial de Laboratorios) y Soudeh Ehsani de la Oficina Regional de la OMS para Europa.

La Iniciativa Mundial de Laboratorios es un grupo de trabajo de la Alianza Alto a la Tuberculosis. La elaboración y la publicación de este documento han sido posibles gracias al financiamiento de la Agencia de Estados Unidos para el Desarrollo Internacional.

Acrónimos y abreviaturas

7H10	medio Middlebrook 7H10
Am	amikacina
CC	concentración crítica
CIM	concentración inhibitoria mínima
complejo	
<i>M. tuberculosis</i>	complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Eto	etionamida
FQ	fluoroquinolona
H	isoniacida
Lfx	levofloxacin
LPA	pruebas con sondas lineales
LPA-SL	prueba con sondas lineales para fármacos de segunda línea
Mfx	moxifloxacin
MGIT	tubo indicador de crecimiento micobacteriano 960 BACTEC (por su sigla en inglés)
PSF	pruebas de sensibilidad a fármacos
Pto	protionamida
PZA	pirazinamida
QRDR	región determinante de resistencia a las quinolonas (por su sigla en inglés)
R	rifampicina
RR	resistente a la rifampicina
Sonda MUT	sonda que contiene una mutación que confiere resistencia
TB	tuberculosis
TB-MDR	tuberculosis multirresistente
UC	umbral clínico
WT	cepa natural (por su sigla en inglés)

Glosario

Concentración crítica (CC). Concentración más baja de un fármaco contra la TB que inhibirá in vitro el crecimiento de 99% de los aislamientos de fenotipo natural del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (complejo *M. tuberculosis*).

Concentración inhibitoria mínima (CIM). Concentración más baja de un agente antimicrobiano que impide el crecimiento de más de 99% de un microorganismo, en una prueba de sensibilidad por dilución en medio sólido o en caldo. Por lo general, cuando se agregan las CIM examinadas con un método estandarizado para una especie, se observa una distribución de Gauss normal de la CIM, que corresponde a la distribución de una cepa de fenotipo natural de esta especie (es decir, la distribución de organismos que carecen de mecanismos de resistencia detectable por métodos fenotípicos). Se pueden encontrar otras distribuciones con CIM generales más altas, que corresponden a organismos resistentes de manera intrínseca o natural (es decir, una distribución fenotípica diferente de la cepa natural).

Umbral clínico (UC). Concentración de un agente antimicrobiano que define una concentración inhibitoria mínima (CIM) por encima de la concentración crítica que separa las cepas con probabilidad de responder al tratamiento de las cepas que probablemente no responderán. Esta concentración se determina mediante la correlación de los datos de resultados clínicos, la distribución de las CIM, los marcadores genéticos y los datos sobre farmacocinética y farmacodinámica, incluida la dosis del fármaco. Se puede usar una dosis más alta con el fin de superar la resistencia observada con dosis más bajas, hasta la dosis máxima tolerada, es decir, el UC por encima del cual no se recomienda usar el fármaco. El UC se utiliza con el fin de orientar las decisiones clínicas en el tratamiento de un paciente individual. El UC no es pertinente para la vigilancia de la farmacorresistencia.

Prólogo

El presente documento fue elaborado con el fin de proporcionar orientación práctica sobre la interpretación de las pruebas con sondas lineales (LPA) más utilizadas de primera y segunda línea (es decir, los ensayos GenoType MTBDR*plus* V2.0 y GenoType MTBDR*sl* V2.0; Bruker-Hain). En este manual actualizado, se ha revisado la interpretación de las mutaciones detectadas por ambas pruebas, con el propósito de armonizarlas con el catálogo más reciente de la OMS sobre las mutaciones del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (complejo *M. tuberculosis*) y su asociación con la farmacorresistencia (1), y de presentar las modificaciones más recientes de las instrucciones de uso de los ensayos (2).

El manual se dirige tanto al personal de laboratorio como al personal médico. Proporciona información sobre:

- la asociación de las mutaciones específicas detectadas mediante las pruebas con sondas lineales (LPA) más utilizadas con la farmacorresistencia fenotípica;
- los casos en los cuales no se detectan mutaciones específicas que confieren resistencia y la resistencia solo se puede inferir;
- las medidas que deben adoptarse cuando se detectan determinadas mutaciones en las pruebas; y
- las consecuencias clínicas de mutaciones específicas detectadas mediante LPA en la selección de esquemas de tratamiento adecuados para la tuberculosis (TB).

Además, este documento brinda apoyo al personal de los laboratorios de referencia de TB nacionales y regionales para comprender y actuar frente a cualquier discrepancia entre las pruebas de sensibilidad a los fármacos (PSF) fenotípicas y genotípicas.

En este manual se describen las mutaciones detectadas mediante tiras reactivas en LPA tanto de primera como de segunda línea, y se brinda información sobre su asociación con la farmacorresistencia fenotípica, con base en el catálogo de la OMS de mutaciones del complejo *M. tuberculosis* y su relación con la resistencia a los fármacos (1) y las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) de los fármacos de primera y segunda línea informadas por la OMS (3, 4). Asimismo, se describe la interpretación de las pruebas, las pruebas diagnósticas complementarias y las consecuencias clínicas de la presencia de mutaciones específicas y de la resistencia inferida.

En la guía también se presentan estudios de casos con ejemplos de resultados de LPA y se describe la forma como se deben informar los resultados al personal médico, con modelos recomendados de informes adaptables (anexos 1 y 2).

Introducción

En los últimos veinte años, la mejor comprensión de las bases moleculares de la resistencia a los fármacos contra la tuberculosis (TB) ha dado lugar al desarrollo de varios ensayos genotípicos de determinación rápida de la resistencia a estos fármacos. Las pruebas moleculares ofrecen varias ventajas además de la rapidez del diagnóstico, entre ellas el uso directo de las muestras clínicas (sin cultivo en medio sólido o líquido que requiere mucho tiempo para aislar el complejo *Mycobacterium tuberculosis* de una muestra del paciente) y de muestras que contienen bacterias no viables (p. ej., bacterias que se han inactivado por medios térmicos o químicos), una mayor posibilidad de aumentar la productividad en la realización de pruebas y menos requisitos de bioseguridad de laboratorio en los procedimientos (es decir, pruebas de amplificación de ácidos nucleicos de baja complejidad).

En el 2008, la OMS avaló el uso de la primera prueba con sondas lineales (LPA), GenoType MTBDR*plus* versión 1 (conocida como GenoType MTBDR*plus* V1) para la detección rápida de la TB multirresistente (TB-MDR) (5). En el 2011, aparecieron nuevas versiones que utilizan la tecnología LPA como GenoType MTBDR*plus* versión 2 (conocida como GenoType MTBDR*plus* V2) y el estuche 2 de detección para micobacterias no tuberculosas y el complejo M. tuberculosis, NTM+MTBDR de Nipro (Tokio, Japón) (conocida como “Nipro”). El objetivo de estas nuevas LPA era mejorar la sensibilidad de detección del complejo M. tuberculosis y detectar de manera simultánea la resistencia a la rifampicina (R) y la isoniacida (H). En el 2015, la Fundación para la Obtención de Medios de Diagnóstico Innovadores (FIND por su sigla en inglés) comparó las LPA Nipro y GenoType MTBDR*plus* V2 con GenoType MTBDR*plus* V1, y encontró equivalencia entre las tres LPA disponibles en el mercado para detectar el complejo M. tuberculosis y la resistencia a la R y la H (6).

La primera LPA comercial de detección de resistencia a fármacos de segunda línea para la TB fue la prueba GenoType MTBDR*sl* versión 1.0 (conocida como GenoType MTBDR*sl* V1), desarrollada por Hain Lifescience hace más de una década. En el 2015, apareció una versión actualizada de esta prueba (GenoType MTBDR*sl* V2) que detecta tanto la mutación asociada con la resistencia a la fluoroquinolona (FQ) como a los fármacos inyectables de segunda línea detectados con la versión 1.0, además de otras mutaciones (que se describen a continuación).

Al año siguiente, la OMS recomendó el uso de las LPA de primera línea disponibles comercialmente (es decir, GenoType MTBDR*plus* V1, GenoType MTBDR*plus* V2 y Nipro) como pruebas iniciales, en lugar de las pruebas de sensibilidad a los fármacos (PSF) fenotípicas, con el fin de detectar la resistencia a la R y la H (7). La OMS también recomendó el uso de GenoType MTBDR*sl* (V1 y V2) para detectar la resistencia a la FQ y la amikacina (Am) en pacientes con TB resistente a R (TB-RR) o MDR, y para orientar el inicio de un esquema de tratamiento apropiado de la TB-MDR (8). De manera más reciente, en el 2021, la OMS recomendó el uso de la LPA Genoscholar PZA TB II (Nipro) para detectar la resistencia a la pirazinamida (PZA) en aislamientos provenientes de cultivos de pacientes con TB pulmonar confirmada bacteriológicamente (9). Para obtener una descripción más detallada sobre la utilidad de las LPA para los fármacos de primera y segunda línea en los algoritmos de

diagnóstico de la TB, véase el módulo 3 del *Manual operativo de la OMS sobre la tuberculosis del 2021 (10)*.

El presente documento se centra en las dos LPA más utilizadas en la actualidad (GenoType MTBDR*plus* V2 y GenoType MTBDR*sl* V2), y proporciona orientación al personal médico y de laboratorio sobre la interpretación y la comunicación de los resultados de las LPA de primera y segunda línea para una mejor comprensión y gestión de las posibles discrepancias entre las PSF fenotípicas y genotípicas y la repercusión de los resultados de las LPA en las decisiones sobre la realización de pruebas complementarias para la TB y el tratamiento.

Principio de las pruebas con sondas lineales

Las LPA son una familia de pruebas basadas en tiras de ADN que permiten a los usuarios determinar el perfil de farmacorresistencia de una cepa del complejo *M. tuberculosis*, mediante la interpretación de un patrón de bandas que representan las líneas de sondas inmovilizadas, que fijan (o hibridan) los productos específicos de amplificación del ADN (amplicones) del complejo *M. tuberculosis*. Las sondas de las LPA están diseñadas para detectar las mutaciones más frecuentes asociadas con la resistencia a los fármacos de primera y segunda línea contra la TB, y las secuencias específicas de ADN del complejo *M. tuberculosis* de tipo natural (WT, por su sigla en inglés).

La OMS ha aprobado las LPA para la detección rápida de la resistencia a los fármacos de primera y segunda línea contra la TB, incluida la PZA. Se pueden utilizar para examinar aislamientos obtenidos en cultivo (pruebas indirectas, p. ej., Genoshcolar PZA-TB II) y en pruebas directas de las muestras con baciloscopia positiva (LPA de primera línea) y muestras de esputo con baciloscopia tanto positiva como negativa (LPA de segunda línea o LPA SL) (7, 8).

Las mutaciones se detectan tras la fijación de los amplicones a las sondas dirigidas a las mutaciones más frecuentes (sondas MUT) (p. ej., con LPA de primera y segunda línea) o por la falta de fijación de los amplicones (es decir, la falta de hibridación) a las sondas que contienen secuencias de las cepas naturales (sondas WT) correspondientes (p. ej., LPA-PZA), la cual se define como “resistencia inferida”. La reacción posterior a la hibridación da lugar a la presencia de bandas de colores en la tira, en el punto de fijación de la sonda.

Es importante tener en cuenta que, al igual que en el caso de otras pruebas moleculares actualmente avaladas por la OMS, las LPA tienen algunas limitaciones:

- Si bien las LPA pueden detectar las mutaciones que se encuentran con mayor frecuencia en las cepas resistentes, algunas mutaciones que confieren resistencia están por fuera de las regiones que se analizan en la prueba y no es posible excluir por completo la resistencia, incluso ante la presencia de todas las sondas que corresponden a la secuencia natural. Por lo tanto, en algunos casos puede ser necesario realizar una PSF fenotípica adicional, para una valoración completa de la presencia de una cepa resistente.
- Algunas mutaciones se detectan de manera específica mediante sondas MUT, pero otras solo se infieren, ante la falta de fijación de los amplicones a las sondas WT. La falta de fijación a una sonda WT, sin fijación simultánea a una sonda MUT, se debe probablemente a la presencia de una mutación que confiere resistencia. Pueden ocurrir errores sistemáticos si hay mutaciones sinónimas (o imperceptibles) y mutaciones no sinónimas

(p. ej., mutaciones filogenéticas) (11). Esto es raro (menos de 1% de los aislamientos), aunque la frecuencia de estos aislamientos puede ser mayor en determinados entornos (12).

- La LPA es menos eficiente que la PSF clásica que se basa en el cultivo para la detección de resistencia en muestras que albergan bacterias farmacosensibles y también farmacorresistentes (es decir, heterorresistentes). En concreto, la LPA se puede utilizar para reconocer bacterias resistentes con mutaciones detectadas por las sondas MUT, si las bacterias resistentes representan al menos 5% de la población total; sin embargo, es posible que se pasen por alto bacterias resistentes con mutaciones inferidas ante la falta de fijación a las sondas WT, si la población resistente representa menos de 95% de la población total de bacterias (13, 14).

La sensibilidad y la especificidad general de las LPA para diferentes fármacos se describen en detalle en otro documento (9). En resumen, la LPA de primera línea mostró una sensibilidad de 95,8% y una especificidad de 98,4% en la detección de resistencia a la R en pruebas directas y una sensibilidad de 94,5% y una especificidad de 99,3% en la detección de resistencia a la H. Las LPA de segunda línea (LPA SL) (GenoType MTBDRsl) mostraron por combinación de datos una sensibilidad de 86,2% y una especificidad de 98,6% en la detección de resistencia a la FQ en pruebas directas, y una sensibilidad de 87,0% y una especificidad de 99,5% en la detección de resistencia a los fármacos inyectables de segunda línea. La LPA PZA (Genoscholar PZA-TB II) mostró por combinación de datos una sensibilidad de 81,2% y una especificidad de 97,8% en la detección de resistencia a la PZA en aislamientos del complejo *M. tuberculosis* (9). Se puede encontrar información adicional sobre la LPA PZA en la hoja informativa del anexo del módulo 3 del Manual operativo de la OMS sobre la tuberculosis del 2021 (10).

GenoType MTBDRplus versión 2

La prueba GenoType MTBDRplus (figura 1a) se dirige a mutaciones específicas en la región que determina la resistencia a la R en el gen *rpoB* (del codón 505 al 533) (figura 2) para detectar la resistencia a la R y a mutaciones en el promotor *inhA* (del nucleótido -16 al -8 en dirección 5') a regiones genómicas de *katG* (codón 315) para determinar la resistencia a la H (2). Los cambios de nucleótidos específicos detectados por la prueba se indican en el anexo 3.

GenoType MTBDRsl versión 2

La segunda versión de la prueba GenoType MTBDRsl (figura 1b) cubre la región que determina la resistencia a las quinolonas (QRDR) de los genes *gyrA* (del codón 85 al 96) (figura 3) y de *gyrB* (del codón 536 al 541), para detectar la resistencia a las FQ y la región del promotor de *rrs* (posiciones en el ácido nucleico 1401, 1402 y 1484) y de *eis* (de los nucleótidos -37 a -2, en dirección 5') para detectar la resistencia a la Am (15). Las regiones precisas cubiertas por todas las sondas MUT no han sido reveladas y solo se conocen algunas de las regiones que abarcan las sondas WT (véase la figura 2 y 3). Los cambios de nucleótidos específicos detectados por las sondas MUT se indican en el anexo 3.

Figura 1. Configuración de las tiras de GenoType MTBDRplus V2 (a) y GenoType MTBDRsl V2 (b)

a (2)		b (15)	
Línea		Línea	
1	Control de conjugado	1	Control de conjugado
2	Control de amplificación	2	Control de amplificación
3	Complejo <i>M. tuberculosis</i> TUB	3	Complejo <i>M. tuberculosis</i> TUB
4	Control de locus <i>rpoB rpoB</i>	4	Control del locus <i>gyrA gyrA</i>
5	Sonda de tipo natural <i>rpoB</i> 1 <i>rpoB</i> WT1	5	Sonda de tipo natural <i>gyrA</i> 1 <i>gyrA</i> WT1
6	Sonda de tipo natural <i>rpoB</i> 2 <i>rpoB</i> WT2	6	Sonda de tipo natural <i>gyrA</i> 2 <i>gyrA</i> WT2
7	Sonda de tipo natural <i>rpoB</i> 3 <i>rpoB</i> WT3	7	Sonda de tipo natural <i>gyrA</i> 3 <i>gyrA</i> WT3
8	Sonda de tipo natural <i>rpoB</i> 4 <i>rpoB</i> WT4	8	Sonda de mutación <i>gyrA</i> 1 <i>gyrA</i> MUT1
9	Sonda de tipo natural <i>rpoB</i> 5 <i>rpoB</i> WT5	9	Sonda de mutación <i>gyrA</i> 2 <i>gyrA</i> MUT2
10	Sonda de tipo natural <i>rpoB</i> 6 <i>rpoB</i> WT6	10	Sonda de mutación <i>gyrA</i> 3A <i>gyrA</i> MUT3A
11	Sonda de tipo natural <i>rpoB</i> 7 <i>rpoB</i> WT7	11	Sonda de mutación <i>gyrA</i> 3B <i>gyrA</i> MUT3B
12	Sonda de tipo natural <i>rpoB</i> 8 <i>rpoB</i> WT8	12	Sonda de mutación <i>gyrA</i> 3C <i>gyrA</i> MUT3C
13	Sonda de mutación <i>rpoB</i> 1 <i>rpoB</i> MUT1	13	Sonda de mutación <i>gyrA</i> 3D <i>gyrA</i> MUT3D
14	Sonda de mutación <i>rpoB</i> 2A <i>rpoB</i> MUT2A	14	Control de locus <i>gyrB gyrB</i>
15	Sonda de mutación <i>rpoB</i> 2B <i>rpoB</i> MUT2B	15	Sonda de tipo natural <i>gyrB gyrB</i> WT
16	Sonda de mutación <i>rpoB</i> 3 <i>rpoB</i> MUT3	16	Sonda de mutación <i>gyrB</i> 1 <i>gyrB</i> MUT1
17	Control de locus <i>katG katG</i>	17	Sonda de mutación <i>gyrB</i> 2 <i>gyrB</i> MUT2
18	Sonda de tipo natural <i>katG katG</i> WT	18	Control de locus <i>rrs rrs</i>
19	Sonda de mutación <i>katG</i> 1 <i>katG</i> MUT1	19	Sonda de tipo natural <i>rrs</i> 1 <i>rrs</i> WT1
20	Sonda de mutación <i>katG</i> 2 <i>katG</i> MUT2	20	Sonda de tipo natural <i>rrs</i> 2 <i>rrs</i> WT2
21	Control de locus <i>inhA inhA</i>	21	Sonda de mutación <i>rrs</i> 1 <i>rrs</i> MUT1
22	Sonda de tipo natural <i>inhA</i> 1 <i>inhA</i> WT1	22	Sonda de mutación <i>rrs</i> 2 <i>rrs</i> MUT2
23	Sonda de tipo natural <i>inhA</i> 2 <i>inhA</i> WT2	23	Control de locus <i>eis eis</i>
24	Sonda de mutación <i>inhA</i> 1 <i>inhA</i> MUT1	24	Sonda de tipo natural <i>eis</i> 1 <i>eis</i> WT1
25	Sonda de mutación <i>inhA</i> 2 <i>inhA</i> MUT2	25	Sonda de tipo natural <i>eis</i> 2 <i>eis</i> WT2
26	Sonda de mutación <i>inhA</i> 3A <i>inhA</i> MUT3A	26	Sonda de tipo natural <i>eis</i> 3 <i>eis</i> WT3
27	Sonda de mutación <i>inhA</i> 3B <i>inhA</i> MUT3B	27	Sonda de mutación <i>eis</i> 1 <i>eis</i> MUT1
	Marcador teñido		Marcador teñido

Interpretación y notificación de resultados

La LPA posee dos controles internos en la tira: “control de conjugado” (línea 1) y “control de amplificación” (línea 2) (figura 1). La banda del control de conjugado siempre debe estar presente a fin de demostrar la eficacia de la fijación del conjugado y la reacción del sustrato. La banda del control de amplificación sirve como referencia para la interpretación de las sondas WT y MUT: solo se deben tener en cuenta las bandas cuya intensidad sea tan fuerte o más fuerte que la banda del control de amplificación. En el caso de un resultado positivo de la prueba (es decir, una banda positiva del control de *M. tuberculosis*), la señal de la zona del control de amplificación puede ser débil o incluso desaparecer. Esto puede ocurrir con mayor frecuencia en las pruebas indirectas. La ausencia de control de amplificación puede deberse a una competencia entre reacciones individuales durante la amplificación. Esto indica que la prueba se ha realizado correctamente y no es necesario repetirla con la misma muestra.

En la LPA de primera línea, cuando hay señales fuertes de las bandas WT, pero débiles o ninguna tinción de la banda de control de amplificación, una banda WT única que es notoriamente más débil que las bandas WT restantes del mismo locus (o el control de locus para *katG*) debe considerarse negativa (2). En el caso de un resultado negativo de la prueba, tanto la banda de control de conjugado como la de la amplificación siempre deben estar presentes para garantizar que un resultado negativo sea válido. La ausencia de una banda de control de amplificación en una prueba negativa indica errores durante la preparación, la realización de la reacción de amplificación o ambas, o la presencia de inhibidores de la amplificación. En este caso, el resultado de la prueba no es válido y es necesario repetirla.

La banda de control del complejo M. tuberculosis (TUB) (línea 3) está presente solo si el ADN amplificado proviene de miembros del complejo *M. tuberculosis*. En casos raros, la banda de control TUB está ausente debido a una competencia entre las reacciones individuales durante la amplificación en la reacción en cadena de la polimerasa. Sin embargo, cuando aparece un perfil de resistencia que puede evaluarse, se debe sospechar la presencia de una cepa del complejo *M. tuberculosis* y debe repetirse la prueba. En casos raros al realizar pruebas directas, pueden estar presentes solo las bandas de control de conjugado, control de amplificación y la banda de control de *M. tuberculosis*, sin un perfil de resistencia que pueda evaluarse. Esto puede indicar la existencia de una cepa del complejo *M. tuberculosis* en una concentración muy baja, que es inferior al límite de detección. En estos casos, la prueba debe repetirse en el aislamiento obtenido por cultivo correspondiente (es decir, realizar una prueba indirecta). La presencia de micobacterias no tuberculosas en la muestra puede dar lugar a perfiles de bandas aleatorios, en los cuales varias especies dan positivo en algunas bandas *rpoB* WT debido a la similitud genética entre las especies. Cuando se está en presencia de bacterias no tuberculosas en lugar del complejo *M. tuberculosis*, la banda de control de *M. tuberculosis* siempre estará ausente y el resultado debe notificarse como “complejo *M. tuberculosis* no detectado”.

Las bandas de **control de locus** del gen para las diferentes regiones diana analizadas en la tira de ADN se encuentran justo antes de sus respectivas bandas de sondas WT y MUT. Las bandas de control de locus siempre tienen que estar presentes a fin de considerar válida la prueba para la diana correspondiente. En casos raros, pueden faltar todas las bandas del locus de un gen (incluso la banda de control del locus). En las pruebas directas, este perfil de bandas no se puede evaluar y es necesario repetir la prueba. En las pruebas indirectas, no obstante, la ausencia completa del locus *katG* indica resistencia a la H de la cepa analizada, debida a mutaciones o deleciones en la región de control del locus o a la deleción completa o parcial del gen (2). Las **zonas de reacción de las sondas WT** comprenden regiones del genoma que contienen mutaciones de resistencia conocidas. Las **zonas de reacción de las sondas MUT** corresponden a sondas que detectan las mutaciones de resistencia más comunes del gen que se está examinando.

Se habla de resistencia detectada cuando están presentes bandas de sondas MUT, pero ante la ausencia de sondas WT, la resistencia es solo inferida (véase abajo para obtener más detalles). La detección concomitante de todas las sondas WT y alguna de las sondas MUT en la región diana correspondiente indica la presencia de heterorresistencia (es decir, bacterias sensibles y resistentes en la misma muestra). En este caso, el resultado debe ser notificado como “resistente”.

Modificaciones introducidas a las interpretaciones de los fabricantes (2, 15)

Utilización del término “resistencia no detectada” en lugar de “sensible” para definir el perfil de resistencia de las bacterias

Dadas las limitaciones de las LPA y, en especial, el hecho de que la resistencia no puede excluirse totalmente incluso en presencia de todas las sondas WT (ya que no todas las mutaciones que confieren resistencia están cubiertas por estas pruebas y las mutaciones cubiertas pueden encontrarse por debajo del límite de detección), es más apropiado notificar el resultado como “resistencia detectada” o “resistencia no detectada”.

Diferenciación de la resistencia en “resistencia inferida” y “resistencia detectada”

El término “resistencia inferida” se utiliza cuando una o más sondas WT están ausentes en las regiones del gen conocidas por conferir resistencia al fármaco y no está presente ninguna de las sondas MUT en la región correspondiente. En este caso, solo se puede notificar la región en la cual se encuentra la mutación y no la mutación precisa.

El término “resistencia detectada” se utiliza cuando están presentes una o varias sondas MUT que detectan mutaciones específicas que confieren farmacorresistencia (ya sea que las sondas WT estén presentes o ausentes).

Estratificación de las mutaciones de resistencia para H y moxifloxacina (Mfx) en mutaciones asociadas con “resistencia de bajo nivel” y “resistencia de alto nivel”

Las mutaciones que confieren resistencia a la H y la Mfx se estratifican en mutaciones asociadas con resistencia de bajo nivel y con resistencia de alto nivel, en función de la distribución de sus CIM correspondientes, con un aumento leve o fuerte de la CIM, respectivamente. Esta estratificación tiene consecuencias importantes para la inclusión de la H y la Mfx en el esquema de tratamiento, dado que la resistencia debida a mutaciones asociadas con resistencia de bajo nivel para H o Mfx puede superarse aumentando la dosis del fármaco.

Para H, la evidencia *in vitro* indica que cuando se detectan mutaciones específicas del promotor *inhA*, que suelen asociarse con resistencia de bajo nivel (y en ausencia de mutaciones de *katG*), el aumento de la dosis del fármaco podría ser eficaz; por lo tanto, se podría considerar la administración de H en una dosis máxima de 15 mg/kg por día. En el caso de las mutaciones *katG*, que con mayor frecuencia se asocian con resistencia de alto nivel, la administración de H en una dosis aún más alta tiene menos probabilidad de ser eficaz. La presencia de mutaciones combinadas en el promotor *inhA* y el gen *katG* da lugar a aumentos fuertes de la CIM (es decir, resistencia de alto nivel), y es poco probable que se puedan superar aumentando la dosis (17).

Para Mfx, si las mutaciones asociadas con un aumento de la CIM superan la concentración crítica (CC), pero están por debajo del umbral clínico (UC), que se define como mutaciones asociadas con resistencia de bajo nivel, una dosis alta de Mfx (hasta 800 mg diarios en los adultos) podría ser eficaz. Cuando la resistencia a la Mfx es inferida (es decir, que se desconoce la mutación específica), se supone la presencia de mutaciones asociadas al menos con resistencia de bajo nivel y, por lo tanto, una dosis alta de Mfx aún podría ser

eficaz. En este caso, sin embargo, se recomienda que se realice la PSF para Mfx en el UC y, si está disponible, que se lleve a cabo la secuenciación con el fin de determinar la mutación específica. Si la cepa del complejo *M. tuberculosis* es resistente a la Mfx en el UC debido a la presencia de mutaciones asociadas con resistencia de alto nivel, el fármaco no se puede considerar eficaz.

Cuando más de una sonda por fármaco aportan información (p. ej., la detección concomitante de mutaciones asociadas con diferentes niveles de resistencia), el criterio de interpretación es que las mutaciones asociadas con la resistencia de alto nivel priman sobre las mutaciones asociadas con la resistencia de bajo nivel. Del mismo modo, las mutaciones detectadas por las sondas MUT priman sobre las mutaciones solo inferidas, ante la ausencia de sondas WT.

En resumen, los resultados deben notificarse según la siguiente jerarquía (donde el signo ">" significa "prima sobre"):

- *Para H*: Mutación asociada con resistencia de alto nivel detectada > Mutación inferida, asociada con resistencia de alto nivel > Mutación asociada con al menos resistencia de bajo nivel detectada > Mutación asociada con al menos resistencia de bajo nivel inferida > Resistencia no detectada.
- *Para Mfx*: Mutación asociada con resistencia de alto nivel detectada > Mutación asociada con al menos resistencia de bajo nivel detectada > Mutación asociada con al menos resistencia de bajo nivel inferida > Resistencia no detectada.
- *Para R, levofloxacina (Lfx), Am, kanamicina y capreomicina*: Resistencia detectada > Resistencia inferida > Resistencia no detectada.

En resumen, dependiendo si las sondas WT y MUT están presentes, pueden ocurrir los siguientes cuatro casos:

Caso	Zonas de reacción WT	Zonas de reacción MUT	Interpretación
1	Todas las sondas WT están presentes.	Todas las sondas MUT están ausentes.	Resistencia no detectada
2	Una o varias sondas WT están ausentes.	Una o varias sondas MUT en la región correspondiente están presentes.	En función del fármaco: <ul style="list-style-type: none"> • Resistencia detectada (R, Am) • Mutaciones detectadas, asociadas con resistencia de alto nivel (H y Mfx) • Mutaciones asociadas con al menos resistencia de bajo nivel detectadas (H y Mfx)
3	Una o varias sondas WT están ausentes.	Ninguna sonda WT está presente.	En función del fármaco: <ul style="list-style-type: none"> • Resistencia inferida (R, Am) • Mutaciones inferidas, asociadas con resistencia de alto nivel (H y Mfx) • Mutaciones inferidas, asociadas con al menos resistencia de bajo nivel (H y Mfx)
4	Todas las sondas WT están presentes.	Una sonda MUT está presente.	Resistencia detectada (por causa de heterorresistencia); interpretar como en el caso 2.

Interpretación del perfil de resistencia para amikacina

En el catálogo de la OMS de mutaciones del complejo *M. tuberculosis* (1) se definen dos marcadores adicionales para la resistencia a la Am: a) la mutación *eis* c 14t, detectada por la sonda *eis* MUT1, se clasifica como un marcador definitivo de resistencia (grupo 1); y b) la *rrs* c1402t, inferida ante la ausencia de *rrs* WT1, se reconoce como una mutación del grupo 2 (es decir, una mutación asociada con resistencia-interina). Por lo tanto, la interpretación de la LPA SL para Am se ha revisado en consecuencia.

*Exclusión de la sonda *eis* WT3*

Hasta la fecha, no hay evidencia clara de que la mutación c-2a en la región promotora de *eis* sea por sí misma un marcador válido de resistencia (16). Por lo tanto, si la sonda *eis* WT3 está ausente, la interpretación de la prueba para kanamicina se ha modificado y se denomina "resistencia no detectada".

Interpretación de los perfiles de resistencia para etionamida y protionamida

Las mutaciones que generan una sobreexpresión del gen *inhA*, como las que detecta la LPA de primera línea, se asocian con resistencia a la etionamida (Eto) (1) y la protionamida (Pto). En consecuencia, si se detectan estas mutaciones se debe informar la resistencia a ambos fármacos y deben excluirse del esquema de tratamiento. Sin embargo, incluso en ausencia de mutaciones en la región promotora de *inhA*, no se puede descartar la resistencia a la Eto y la Pto. De hecho, las mutaciones que confieren resistencia a estos fármacos pueden estar presentes en regiones genómicas que no cubre la LPA (p. ej., *ethA*, *ethR*) (1).

Notificación de los resultados para kanamicina y capreomicina

En la actualidad, la OMS recomienda como una prioridad que los fármacos inyectables se eliminen de manera gradual de todos los esquemas de tratamiento y se reemplacen por bedaquilina, con lo cual se hace innecesario realizar PSF rápidas para los fármacos inyectables de segunda línea (17). Además, desde el 2018, la OMS ya no recomienda el uso de kanamicina ni capreomicina debido al aumento del riesgo de fracaso del tratamiento y recaída, que se asocian con su uso en esquemas alargados para la TB-MDR (18). La Am es el único agente inyectable de segunda línea cuyo uso todavía se recomienda en esquemas para la TB-MDR, cuando las opciones de composición del esquema de tratamiento son limitadas (17). Por lo tanto, en este manual no se aborda la interpretación de LPA-SL para kanamicina y capreomicina.

Definición de medidas diagnósticas complementarias para orientar el inicio de un tratamiento adecuado

En función de la región específica examinada por la LPA y la LPA-SL, se recomiendan o sugieren una o varias medidas de diagnóstico complementarias, destinadas a orientar la composición de los esquemas de tratamiento. La decisión de llevar a cabo medidas diagnósticas complementarias opcionales debe guiarse por consideraciones sobre el grupo de riesgo de resistencia de cada paciente y la prevalencia de resistencia en el entorno, dado que estos factores afectan el valor predictivo positivo de la prueba.

Las medidas diagnósticas complementarias que se recomiendan o proponen dependen del fármaco. Estas medidas se resumen brevemente a continuación.

Rifampicina (R):

- Si la resistencia es inferida, debido a la falta de fijación de los amplicones a las sondas WT (es decir, una o varias sondas WT están ausentes), se propone la secuenciación del gen *rpoB* con el fin de detectar la mutación específica. Para la interpretación de las mutaciones *rpoB*, véase el catálogo de la OMS (1).

Isoniacida (H):

- Si la resistencia es inferida, debido a la falta de fijación de los amplicones a las sondas WT en la región del gen *katG* (es decir, una o varias sondas WT están ausentes), se propone la secuenciación del gen *katG* con el fin de detectar la mutación específica. Para la interpretación de las mutaciones *katG*, véase el catálogo de la OMS (1).
- Si se detectan mutaciones asociadas con resistencia de bajo nivel (es decir, sondas MUT presentes en la región promotora de *inhA* sin mutaciones en la región diana de *katG*), se propone la secuenciación de la región codificante de *inhA* y del gen *katG*, porque la presencia concomitante de mutaciones adicionales en la región codificante de *inhA* o en posiciones diferentes de 315 en el gen *katG* (mutaciones no detectadas por GenoType MTBDRplus) (19, 20), que en general son raras pero podrían ser más frecuentes en algunos entornos, pueden generar un aumento considerable de la CIM, que sería entonces demasiado alta para compensarla con un aumento de la dosis del fármaco.
- Si las mutaciones asociadas con resistencia de bajo nivel son inferidas debido a la falta de fijación de los amplicones a las sondas WT en la región promotora de *inhA* (y no hay ninguna mutación detectada en la región diana de *katG*), se recomienda repetir la prueba para confirmar el resultado. Las medidas diagnósticas complementarias y opcionales consisten en la secuenciación del promotor *inhA* para detectar la mutación específica o la realización de la PSF fenotípica para H.

Moxifloxacin (Mfx):

- Si se detectan mutaciones asociadas con resistencia de bajo nivel (es decir, sondas MUT1, MUT2, MUT3A presentes en la región de *gyrA*, sondas MUT1, MUT2 presentes en la región de *gyrB* o ambos tipos), se recomienda realizar la PSF fenotípica para Mfx, con el fin de descartar la resistencia en el UC.
- Si las mutaciones asociadas con resistencia de bajo nivel son inferidas debido a la falta de fijación de los amplicones a las sondas WT en la región de *gyrA* o *gyrB* (es decir, las sondas WT están ausentes), se recomienda realizar la PSF fenotípica para Mfx con el fin de descartar la resistencia en el UC. Las medidas complementarias opcionales consisten en la secuenciación de la QRDR de *gyrA*, *gyrB* o ambas, con el fin de detectar la mutación específica, la realización de la PSF fenotípica para Mfx (Lfx, o ambas) en el UC o ambas medidas (en función de la capacidad del laboratorio).

Amikacina (Am):

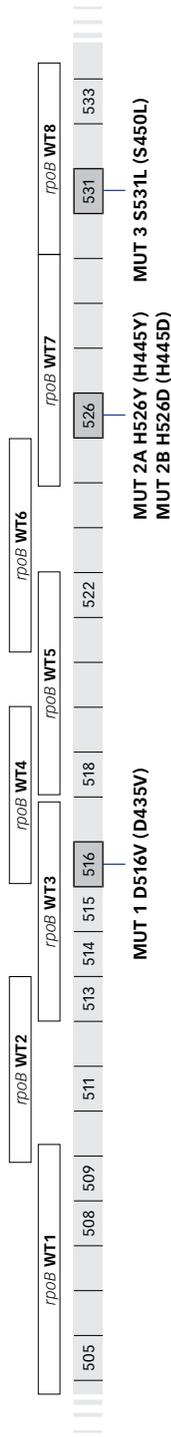
- Si la resistencia es inferida, debido a la falta de fijación de los amplicones a las sondas WT en la región *rrs* (es decir, que una o varias sondas WT están ausentes), se recomienda repetir la prueba para confirmar el resultado. Se propone la secuenciación del gen *rrs* con el fin de detectar la mutación específica.
- Si la resistencia es inferida, debido a la falta de fijación de los amplicones a la sonda WT2 en la región *eis* y ninguna sonda MUT1 está presente, se recomienda repetir la prueba para confirmar el resultado. Se propone la secuenciación del gen *eis*, incluida la región promotora, con el fin de detectar la mutación específica.

Interpretación de los resultados de pruebas con sondas lineales para fármacos de primera línea

Rifampicina

En la figura 2 se presenta la región del gen *rpoB* que determina la resistencia a la R, los codones cubiertos por las sondas WT y las mutaciones específicas reconocidas por las sondas MUT de la prueba MTBDRplus ver 2.0 (2) con numeración de los codones y nomenclatura de los aminoácidos en el sistema de clasificación de *E. coli* comparado y de *M. tuberculosis*. En general, la especificidad de MTBDRplus ver 2.0 para la resistencia a la R es muy buena. Si la validez de un resultado de resistencia a la R es dudosa, se solicita la secuenciación de *rpoB* como criterio de referencia.

Figura 2. Región que determina la resistencia a la rifampicina examinada con GenoType MTBDRplus



Región diana	Sonda MTBDRplus	Mutación o región examinada	Interpretación	Medida diagnóstica complementaria ^a	Consecuencias clínicas
<i>rpoB</i> WT1	<i>rpoB</i> WT1 ausente	Mutación(es) en codones 505–509 (424–428) ^b	Resistencia a la rifampicina (R) inferida	Opcional: realizar la secuenciación de <i>rpoB</i> con el fin de detectar la mutación específica.	La R no es eficaz ^c
<i>rpoB</i> WT2	<i>rpoB</i> WT2 ausente	Mutación(es) en codones 510–513 (429–432) ^b	Resistencia a la R inferida	Opcional: realizar la secuenciación de <i>rpoB</i> con el fin de detectar la mutación específica.	La R no es eficaz ^c
<i>rpoB</i> WT2/3	<i>rpoB</i> WT2 y WT3 ausentes	Mutación(es) en codones 510–517 (429–436) ^b	Resistencia a la R inferida	Opcional: realizar la secuenciación de <i>rpoB</i> con el fin de detectar la mutación específica.	La R no es eficaz ^c

Región diana	Sonda MTBDRplus	Mutación o región examinada	Interpretación	Medida diagnóstica complementaria ^a	Consecuencias clínicas
<i>rpoB</i> WT3/4	<i>rpoB</i> MUT1 presente <i>rpoB</i> WT3, WT4 y MUT1 ausentes	D516V (D435V) ^b Mutación(es) en codones 513–519 (432–438) ^b	Resistencia a la R detectada Resistencia a la R inferida	No se requiere ninguna medida diagnóstica complementaria. Opcional: realizar la secuenciación de <i>rpoB</i> con el fin de detectar la mutación específica.	La R no es eficaz La R no es eficaz ^c
<i>rpoB</i> WT4/5	<i>rpoB</i> WT4 y WT5 ausentes	Mutación(es) en codones 516–522 (435–441) ^b	Resistencia a la R inferida	Opcional: realizar la secuenciación de <i>rpoB</i> con el fin de detectar la mutación específica.	La R no es eficaz ^c
<i>rpoB</i> WT5/6	<i>rpoB</i> WT5 y WT6 ausentes	Mutación(es) en codones 518–525 (437–444) ^b	Resistencia a la R inferida	Opcional: realizar la secuenciación de <i>rpoB</i> con el fin de detectar la mutación específica.	La R no es eficaz ^c
<i>rpoB</i> WT7	<i>rpoB</i> MUT2A presente	H526Y (H445Y) ^b	Resistencia a la R detectada	No se requiere ninguna medida diagnóstica complementaria	La R no es eficaz
	<i>rpoB</i> MUT2B presente	H526D (H445D) ^b	Resistencia a la R detectada	No se requiere ninguna medida diagnóstica complementaria	La R no es eficaz
<i>rpoB</i> WT8	<i>rpoB</i> WT7, MUT2A y MUT2B ausentes	Mutación(es) en codones 526–529 (445–448) ^b	Resistencia a la R inferida	Opcional: realizar la secuenciación de <i>rpoB</i> con el fin de detectar la mutación específica.	La R no es eficaz ^c
	<i>rpoB</i> MUT3 presente	S531L (S450L) ^b	Resistencia a la R detectada	No se requiere ninguna medida diagnóstica complementaria.	La R no es eficaz
	<i>rpoB</i> WT8 y MUT3 ausentes	Mutación(es) en codones 530–533 (449–452) ^b	Resistencia a la R inferida	Opcional: realizar la secuenciación de <i>rpoB</i> con el fin de detectar la mutación específica.	La R no es eficaz ^c

^a La decisión de recurrir a medidas diagnósticas complementarias opcionales debe guiarse por consideraciones sobre el grupo de riesgo de resistencia del paciente y la prevalencia de resistencia en el entorno, dado que estos factores afectan el valor predictivo positivo de la prueba. En los entornos de baja resistencia, las mutaciones silenciosas (o sinónimas) pueden ser fuente de mayor inquietud.

^b Sistema de numeración de los codones en *M. tuberculosis* según Andre et al. (21) entre paréntesis.

^c Esta recomendación no se aplica si la secuenciación detecta una mutación silenciosa).

Isoniacida

Región diana	Sonda MTBDRplus	Mutación o región examinada	Interpretación	Medida diagnóstica complementaria ^a	Consecuencias clínicas
<i>katG</i> WT	<i>katG</i> MUT1 o MUT2 presentes	S315T1/S315T2	Mutación detectada, asociada con resistencia de alto nivel.	No se requiere ninguna medida diagnóstica complementaria	La H probablemente no es eficaz, incluso en dosis altas (17).
<i>inhA</i> WT1	<i>katG</i> WT, MUT1 y MUT2 ausentes ^b	Mutación(es) en la región del codón 315	Mutación inferida, asociada con resistencia de alto nivel.	Opcional: realizar la secuenciación de <i>katG</i> con el fin de detectar la mutación específica.	La H probablemente no es eficaz, incluso en dosis altas (17).
	<i>inhA</i> MUT1 presente	c-15t	Mutación detectada, asociada con al menos resistencia de bajo nivel. Resistencia a la Eto y la Pto detectada.	Opcional: realizar la secuenciación de la región que codifica <i>inhA</i> y el gen <i>katG</i> . Ninguna medida diagnóstica complementaria para Eto y Pto	La H en dosis altas es probablemente eficaz (17). La Eto y la Pto no son eficaces.
	<i>inhA</i> MUT2 presente	a-16g ^d	Mutación detectada, probablemente asociada con al menos resistencia de bajo nivel. Resistencia a la Eto y la Pto detectada.	Opcional: realizar la secuenciación de la región que codifica <i>inhA</i> y el gen <i>katG</i> . Ninguna medida diagnóstica complementaria para Eto y Pto	La H en dosis altas es probablemente eficaz. La Eto y la Pto no son eficaces.
	<i>inhA</i> WT1, MUT1 y MUT2 ausentes	Mutación(es) en la región -15 ^d	Mutación probablemente asociada con al menos resistencia de bajo nivel (inferida). Resistencia a la Eto y la Pto inferida.	Se recomienda repetir la LPA SL para confirmar el resultado. Opcional: realizar la secuenciación con el fin de detectar la mutación específica.	La H en dosis altas es probablemente eficaz (17). La Eto y la Pto probablemente no son eficaces.

Región diana	Sonda MTBDRplus	Mutación o región examinada	Interpretación	Medida diagnóstica complementaria ^a	Consecuencias clínicas
<i>inhA</i> WT2	<i>inhA</i> MUT3A presente	t-8c ^d	Mutación detectada, asociada con al menos resistencia de bajo nivel. Resistencia a la Eto y la Pto detectada.	Opcional: realizar la secuenciación de la región que codifica <i>inhA</i> y el gen <i>katG</i> . Ninguna medida diagnóstica complementaria para Eto y Pto	La H en dosis altas es probablemente eficaz (17). Eto y Pto no son eficaces.
	<i>inhA</i> MUT3B presente	t-8a ^d	Mutación detectada, asociada con al menos resistencia de bajo nivel. Resistencia a Eto y Pto detectada	Opcional: realizar la secuenciación de la región que codifica <i>inhA</i> y el gen <i>katG</i> . Ninguna medida diagnóstica complementaria para Eto y Pto	La H en dosis altas es probablemente eficaz (17). La Eto y la Pto no son eficaces.
	<i>inhA</i> WT2, MUT3A y MUT3B ausentes	Mutación(es) en la región -8 ^d	Mutación inferida, asociada con al menos resistencia de bajo nivel. Resistencia a Eto y Pto inferida	Se recomienda repetir la LPA de primera línea para confirmar el resultado. Opcional: Realizar la secuenciación con el fin de detectar la mutación específica.	La H en dosis altas es probablemente eficaz (17). La Eto y la Pto probablemente no son eficaces.

^a La decisión de llevar a cabo medidas diagnósticas complementarias debe guiarse por consideraciones sobre el grupo de resistencia de cada paciente y la prevalencia de resistencia en el entorno, dado que estos factores afectan el valor predictivo positivo de la prueba.

^b La delección parcial o completa del gen *katG*, que se asocia con resistencia de alto nivel, produce una ausencia total de las bandas del locus *katG* (es decir, que las sondas de control de locus *katG*, *katG* WT y *katG* MUT están ausentes).

^c La presencia concomitante de mutaciones adicionales en la región que codifica *inhA* o en posiciones distintas de 315 en el gen *katG* (mutaciones no detectadas por GenoType MTBDRplus) (19, 20), que por lo general son raras pero podrían ser más frecuentes en algunos entornos, pueden aumentar de manera considerable la CIM a un nivel demasiado alto para compensarla con un aumento de la dosis del fármaco.

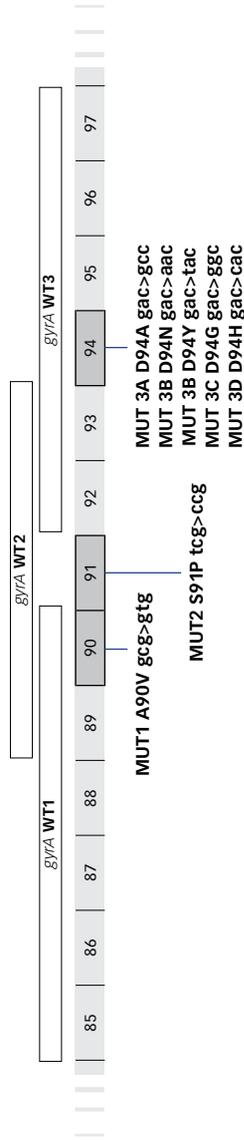
^d Se necesitan datos adicionales que correlacionen estas mutaciones con la PSF fenotípica para la isoniacida, con el fin de reforzar la confianza en la asociación de estas mutaciones con farmacorresistencia

Interpretación de los resultados de pruebas con sondas lineales para fármacos de segunda línea

Fluoroquinolonas

En la figura 3 se presenta la QRDR del gen *gyrA*, los codones cubiertos por las sondas WT y las mutaciones específicas (cambios tanto de aminoácidos como de nucleótidos) reconocidos por las sondas MUT en la prueba Genotype MTBDRsl Ver 2.0.

Figura 3. Región del gen *gyrA* que determina la resistencia a las quinolonas, examinada con Genotype MTBDRsl



Región diana	Sonda MTBDRplus	Mutación o región examinada	Interpretación	Medida diagnóstica complementaria ^a	Consecuencias clínicas
<i>gyrA</i> WT 1	<i>gyrA</i> WT1 ausente	Mutación(es) en codones 85-89	Resistencia a la Lfx inferida. Mutación inferida, asociada con al menos resistencia de bajo nivel para Mfx.	Se recomienda realizar la PSF fenotípica para Mfx en el UC, con el fin de descartar la resistencia. Opcional: <ul style="list-style-type: none"> realizar la secuenciación de la QRDR de <i>gyrA</i> con el fin de detectar la mutación específica; realizar la PSF fenotípica para Lfx y Mfx en la CC. 	La Lfx no es eficaz. La Mfx podría usarse en una dosis más alta. Se debe reevaluar el esquema, en función de los resultados de la PSF fenotípica en el UC. Nota. Estas recomendaciones no se aplican si en la secuenciación, disponible antes del inicio del tratamiento, se detectan mutaciones no asociadas con resistencia a las FQ o si la PSF fenotípica muestra sensibilidad en la CC.

Región diana	Sonda MTBDRplus	Mutación o región examinada	Interpretación	Medida diagnóstica complementaria ^a	Consecuencias clínicas
gyrA WT2	gyrA MUT1 presente	A90V	Resistencia a la Lfx detectada. Mutación detectada, asociada con al menos resistencia de bajo nivel a la Mfx.	Se recomienda realizar la PSF fenotípica para Mfx en el UC, con el fin de descartar la resistencia.	La Lfx no es eficaz. La Mfx podría usarse en una dosis más alta. Se debe reevaluar el esquema, en función de los resultados de la PSF fenotípica en el UC.
	gyrA MUT2 presente	S91P	Resistencia a la Lfx detectada. Mutación detectada, asociada con al menos resistencia de bajo nivel a la Mfx.	Se recomienda realizar la PSF fenotípica para Mfx en el UC, con el fin de descartar la resistencia.	La Lfx no es eficaz. La Mfx podría usarse en una dosis más alta. Se debe reevaluar el esquema, en función de los resultados de la PSF fenotípica en el UC.
gyrA WT3	gyrA WT2, MUT1 y MUT2 ausentes	Mutación(es) en codones 89–93	Resistencia a la Lfx inferida. Mutación inferida, asociada con al menos resistencia de bajo nivel a la Mfx.	Se recomienda realizar la PSF fenotípica para Mfx en el UC, con el fin de descartar la resistencia. Opcional: • realizar la secuenciación de la QRDR de <i>gyrA</i> con el fin de detectar la mutación específica; • realizar la PSF fenotípica para Lfx y Mfx en la CC.	La Lfx no es eficaz. La Mfx podría usarse en una dosis más alta. Se debe reevaluar el esquema, en función de los resultados de la PSF fenotípica en el UC. Nota. Estas recomendaciones no se aplican si en la secuenciación, disponible antes del inicio del tratamiento, se detectan mutaciones no asociadas con resistencia a las FQ o si la PSF fenotípica muestra sensibilidad en la CC.
	gyrA MUT3A presente	D94A	Resistencia a la Lfx detectada. Mutación detectada, asociada con al menos resistencia de bajo nivel a la Mfx.	Se recomienda realizar la PSF fenotípica para Mfx en el UC, con el fin de descartar la resistencia.	La Lfx no es eficaz. La Mfx podría usarse en una dosis más alta. Se debe reevaluar el esquema, en función de los resultados de la PSF fenotípica en el UC.
	gyrA MUT3B presente	D94N o D94Y	Resistencia a la Lfx detectada. Mutación detectada, asociada con resistencia de alto nivel a la Mfx.	No se requiere ninguna medida diagnóstica complementaria.	La Lfx no es eficaz. La Mfx no es eficaz.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE PRUEBAS CON SONDAS LINEALES PARA FÁRMACOS DE SEGUNDA LÍNEA

Región diana	Sonda MTBDRplus	Mutación o región examinada	Interpretación	Medida diagnóstica complementaria ^a	Consecuencias clínicas
	<i>gyrA</i> MUT3C presente	D94G	Resistencia a la Lfx detectada. Mutación detectada, asociada con resistencia de alto nivel a la Mfx.	No se requiere ninguna medida diagnóstica complementaria.	La Lfx no es eficaz. La Mfx no es eficaz.
			Resistencia a la Lfx detectada. Mutación detectada, asociada con resistencia de alto nivel a la Mfx.	No se requiere ninguna medida diagnóstica complementaria.	La Lfx no es eficaz. La Mfx no es eficaz.
	<i>gyrA</i> WT3, MUT3A, MUT3B, MUT3C y MUT3D ausentes	Mutación(es) en codones 92-96	Resistencia a la Lfx inferida. Mutación inferida, asociada con al menos resistencia de bajo nivel a la Mfx.	Se recomienda realizar la PSF fenotípica para Mfx en el UC, con el fin de descartar la resistencia. Opcional: <ul style="list-style-type: none"> realizar la secuenciación de la QRDR de <i>gyrA</i> con el fin de detectar la mutación específica; realizar la PSF fenotípica para Lfx y Mfx en la CC. 	La Lfx no es eficaz. La Mfx podría usarse en una dosis más alta. Se debe reevaluar el esquema, en función de los resultados de la PSF fenotípica en el UC. Nota. Estas recomendaciones no se aplican si en la secuenciación, disponible antes del inicio del tratamiento, se detectan mutaciones no asociadas con resistencia a las FQ o si la PSF fenotípica muestra sensibilidad en la CC.
<i>gyrB</i> WT	<i>gyrB</i> MUT1 presente	N538D (N499D) ^b	Resistencia a la Lfx detectada. Mutación detectada, asociada con al menos resistencia de bajo nivel a la Mfx.	Se recomienda realizar la PSF fenotípica para Mfx en el UC, con el fin de descartar la resistencia.	La Lfx no es eficaz. La Mfx podría usarse en una dosis más alta. Se debe reevaluar el esquema, en función de los resultados de la PSF fenotípica en el UC.
<i>gyrB</i> MUT2 presente			E540V (E501V) ^b	Resistencia a la Lfx detectada. Mutación detectada, asociada con al menos resistencia de bajo nivel a la Mfx.	Se recomienda realizar la PSF fenotípica para Mfx con el fin de descartar la resistencia en el UC.

Región diana	Sonda MTBDRplus	Mutación o región examinada	Interpretación	Medida diagnóstica complementaria ^a	Consecuencias clínicas
	<i>gyrB</i> WT, MUT1 y MUT2 ausentes	Mutación(es) en codones 536 541 (497 502) ^b	Resistencia a la Lfx inferida. Mutación inferida, asociada con al menos resistencia de bajo nivel a la Mfx.	Se recomienda realizar la PSF fenotípica para Mfx en el UC, con el fin de descartar la resistencia. Opcional: <ul style="list-style-type: none"> realizar la secuenciación de la QRDR de <i>gyrA</i> para detectar la mutación específica; realizar la PSF fenotípica para Lfx y Mfx en la CC. 	La Lfx no es eficaz. La Mfx podría usarse en una dosis más alta. Se debe reevaluar el esquema, en función de los resultados de la PSF fenotípica en el UC. Nota. Estas recomendaciones no se aplican si en la secuenciación, disponible antes del inicio del tratamiento, se detectan mutaciones no asociadas con resistencia a las FQ o si la PSF fenotípica muestra sensibilidad en la CC.

^a La La decisión de llevar a cabo medidas diagnósticas complementarias opcionales debe guiarse por consideraciones sobre el grupo de resistencia de cada paciente y la prevalencia de resistencia en el entorno, dado que estos factores afectan el valor predictivo positivo de la prueba.

^b Sistema de numeración de los codones en *M. tuberculosis* según Carnus et al. (22) entre paréntesis.

Amikacina^a

Región diana	Sonda MTBDRplus	Mutación o región examinada	Interpretación	Medida diagnóstica complementaria ^a	Consecuencias clínicas
<i>rrs</i> WT1	<i>rrs</i> MUT1 presente	a1401g	Resistencia a la Am detectada	No se requiere ninguna medida diagnóstica complementaria.	La Am no es eficaz.
	<i>rrs</i> WT1 y MUT1 ausentes	Mutación(es) en la región 1400	Resistencia a la Am inferida	Opcional: realizar la secuenciación con el fin de detectar la mutación específica.	La Am probablemente no es eficaz.
<i>rrs</i> WT2	<i>rrs</i> MUT2 presente	g1484t	Resistencia a la Am detectada	No se requiere ninguna medida diagnóstica complementaria.	La Am no es eficaz.
	<i>rrs</i> WT2 y MUT2 ausentes	Mutación en la región 1484	Resistencia a la Am inferida	Se recomienda repetir la LPA-SL para confirmar el resultado. Opcional: realizar la secuenciación con el fin de detectar la mutación específica.	La Am probablemente no es eficaz.

Región diana	Sonda MTBDRplus	Mutación o región examinada	Interpretación	Medida diagnóstica complementaria ^a	Consecuencias clínicas
eis WT1	eis WT1 ausente	Mutación(es) en la región -37	Resistencia a la Am no detectada	No se requiere ninguna medida diagnóstica complementaria.	La Am probablemente es eficaz.
eis WT2	eis MUT1 presente	c-14t	Resistencia a la Am detectada	No se requiere ninguna medida diagnóstica complementaria.	La Am no es eficaz.
	eis WT2 y MUT1 ausentes	Mutación(es) en la región -10 a -14	Resistencia a la Am no detectada	Se recomienda repetir la LPA-SL para confirmar el resultado. Opcional: realizar la secuenciación con el fin de detectar la mutación específica.c	La Am probablemente es eficaz.
eis WT3	eis WT3 está	Mutación(es) en la región -2 Nota. No hay evidencia de que las mutaciones en esta región se asocien con resistencia. ^d	Resistencia a la Am no detectada	No se requiere ninguna medida diagnóstica complementaria.	La Am probablemente es eficaz.

^a La OMS ya no recomienda el uso de kanamicina ni capreomicina debido al mayor riesgo de fracaso del tratamiento y recada, que se asocia con su uso en esquemas alagados para la TB-MDR (18). Por consiguiente, en este manual no se aborda la interpretación de LPA-SL para kanamicina y capreomicina.

^b La decisión de realizar otras medidas diagnósticas complementarias indicadas como opcionales debe guiarse por consideraciones sobre el grupo de riesgo de resistencia de cada paciente y la prevalencia de resistencia en el entorno, dado que estos factores afectan el valor predictivo positivo de la prueba.

^c Si la secuenciación revela la presencia de la mutación c-14t de eis, que por alguna razón no se detectó con la sonda eis MUT1, la Am no es eficaz.

^d Miotto P, et al. A standardized method for interpreting the association between mutations and phenotypic drug resistance in *M. tuberculosis*. Eur Respir J. 2017;50(6):1701354.

Evaluación de los casos de TB farmacorresistente a partir de los resultados de las pruebas con sondas lineales para fármacos de segunda línea

Caso 1. No hubo mutaciones de resistencia detectadas ni inferidas en ninguna de las regiones genómicas incluidas en la prueba con sondas lineales para fármacos de segunda línea

Todas las bandas WT están presentes y no se observó ninguna banda de la sonda MUT en la LPA-SL.



Informe genotípico

Resistencia no detectada

Medida diagnóstica complementaria

Opcional

- Realizar PSF fenotípica para Lfx en la CC (p. ej., CC: 1,0 mg/l en MGIT y 7H10) y para Mfx en la CC y el UC (p. ej., CC: 0,25 mg/l en MGIT y 0,5 mg/l en 7H10; UC: 1,0 mg/l en MGIT y 2,0 mg/l en 7H10).
- Realizar la PSF fenotípica para Am si está indicada.

La decisión de realizar estas medidas complementarias opcionales debe guiarse por la consideración del grupo de riesgo de resistencia de cada paciente (p. ej., exposición previa

a fármacos de segunda línea, presunción de fracaso del tratamiento) y la prevalencia de resistencia en el entorno, dado que estos factores afectan el valor predictivo de la prueba.

Consecuencias clínicas

Comenzar tratamiento para TB-MDR. Revisar el esquema de tratamiento en función de los resultados de la PSF fenotípica.

Caso 2. Detección de mutaciones de resistencia asociadas con resistencia de alto nivel a la moxifloxacin



Si una de las siguientes bandas MUT está presente:

- *gyrA* MUT3C (es decir, *gyrA* D94G) (véase la imagen de arriba como ejemplo),
- *gyrA* MUT3D (es decir, *gyrA* D94H)
- *gyrA* MUT3B (es decir, *gyrA* D94N/Y)

Informe genotípico

Lfx: Resistencia detectada

Mfx: Mutación detectada, asociada con resistencia de alto nivel a la Mfx.

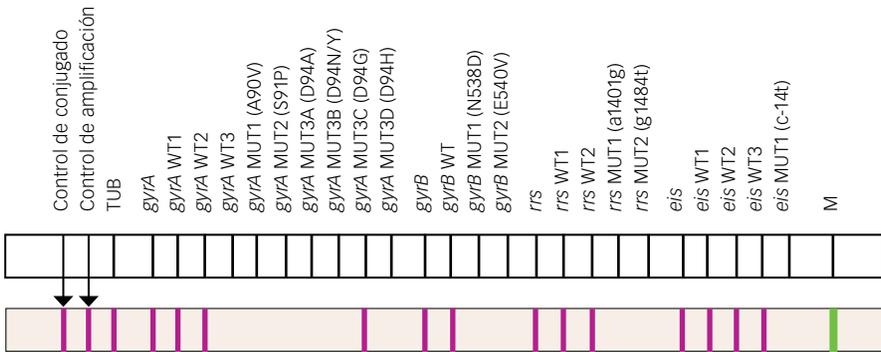
Medida diagnóstica complementaria

Realizar la PSF fenotípica para Am si está indicada.

Consecuencias clínicas

La Mfx no puede considerarse como un fármaco eficaz, ni siquiera en una dosis alta.

Caso 3. Detección de mutaciones de resistencia asociadas con al menos resistencia de bajo nivel a la moxifloxacin



Si una de las siguientes bandas MUT está presente:

- *gyrA* MUT1 (es decir, *gyrA* A90V) (véase la imagen de arriba como ejemplo),
- *gyrA* MUT2 (es decir, *gyrA* S91P),
- *gyrA* MUT3A (es decir, *gyrA* D94A),
- *gyrB* MUT1 (es decir, *gyrB* N538D),
- *gyrB* MUT2 (es decir, *gyrB* E540D).

Informe genotípico

Lfx: Resistencia detectada

Mfx: Mutación detectada, asociada con al menos resistencia de bajo nivel a la Mfx.

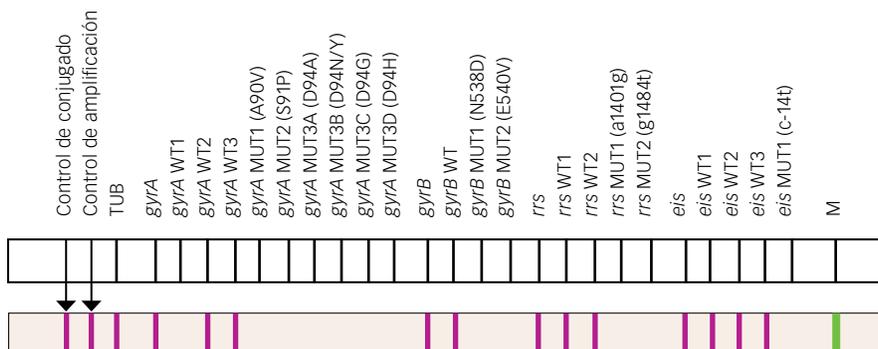
Medida diagnóstica complementaria

Se **recomienda** realizar la PSF fenotípica para Mfx en el UC como en el caso 1. Realizar la PSF fenotípica para Am si está indicada.

Consecuencias clínicas

La Mfx podría usarse en una dosis más alta. Se debe reevaluar el esquema, en función de los resultados de la PSF fenotípica en el UC.

Caso 4. Mutación precisa desconocida, solo inferida para fluoroquinolonas (es decir, *gyrA* y *gyrB*)



Si una de las siguientes bandas MUT está ausente:

- *gyrA* WT1 (es decir, falta la banda *gyrA* WT1) (véase la imagen de arriba como ejemplo),
- *gyrA* WT2 (es decir, falta la banda *gyrA* WT2),
- *gyrA* WT3 (es decir, falta la banda *gyrA* WT3),
- *gyrB* WT (es decir, falta la banda *gyrB* WT)

y ninguna de las bandas MUT está presente en las regiones de *gyrA* y *gyrB*.

Informe genotípico

Lfx: Resistencia inferida

Mfx: Mutación inferida, asociada con al menos resistencia de bajo nivel a la Mfx.

Medida diagnóstica complementaria

Se **recomienda** realizar la PSF fenotípica para Mfx en el UC como en el caso 1.

Opcional pero recomendada en algunos entornos:¹ secuenciación de la QRDR de *gyrA* y *gyrB* con el fin de identificar la mutación de resistencia y descartar mutaciones sinónimas o no sinónimas que no causan resistencia (resultados positivos falsos sistemáticos) (interpretar como en los casos 2 a 4 y seguir las recomendaciones respectivas para la PSF fenotípica). Si la secuenciación no está disponible, realizar PSF fenotípica en la CC para Lfx, Mfx o ambas, como en el caso 1.

Opcional realizar la PSF fenotípica para Am si está indicada.

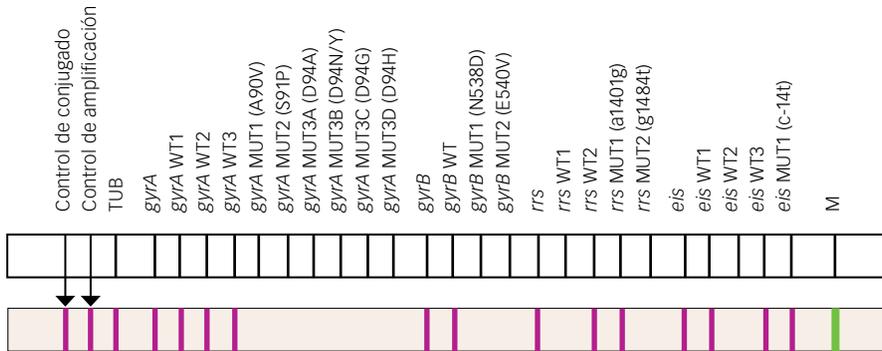
Consecuencias clínicas

La Lfx no es eficaz. La Mfx podría usarse en una dosis más alta. Se debe reevaluar el esquema, en función de los resultados de la PSF fenotípica en el UC.

¹ La falta de fijación de una sonda WT sin fijación simultánea de una sonda MUT se debe a la presencia de una mutación que confiere resistencia (p. ej., *gyrA* G88A). Puede haber errores sistemáticos debidos a mutaciones sinónimas o no sinónimas, aunque el fenómeno es raro (<1% de los aislamientos), estos aislamientos de cultivo pueden ser frecuentes localmente. Desafortunadamente, no es posible predecir los entornos en los cuales estos casos son frecuentes. Por lo tanto, es necesario que cada laboratorio decida con base en las características epidemiológicas locales si es necesario secuenciar la región QRDR. Por ejemplo, la mutación *gyrA* A90G, que impide la fijación de *gyrA* WT2, es frecuente en Congo y República Democrática del Congo y un codón de mutación sinónima en la posición 96 de *gyrA*, que impide la fijación de *gyrA* WT3, es frecuente en Medellín (Colombia) (12). Por lo tanto, en ambos entornos se recomendaría la secuenciación.

Nota. Estas recomendaciones no se aplican si en la secuenciación, disponible antes del inicio del tratamiento, se detectan mutaciones no asociadas con resistencia a las FQ o si la PSF fenotípica muestra sensibilidad en la CC.

Caso 5. Detección de mutaciones que causan resistencia a la amikacina



Si una de las siguientes bandas MUT está presente:

- *rrs* MUT1 (es decir, *rrs* a1401g) (véase la imagen de arriba como ejemplo),
- *rrs* MUT2 (es decir, *rrs* g1484t),
- *eis* MUT1 (es decir, *eis* c-14t) (véase la imagen de arriba como ejemplo),

Informe genotípico

Resistencia a la Am detectada.

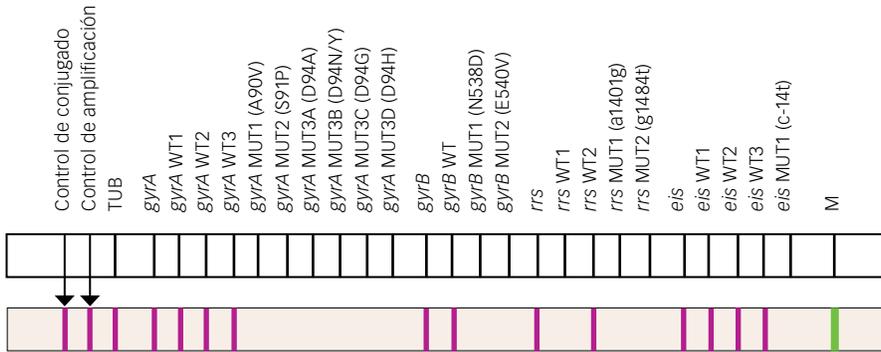
Medida diagnóstica complementaria

Realizar la PSF fenotípica para FQ en el UC como en el caso 1.

Consecuencias clínicas

La Am no es eficaz.

Caso 6. Mutación precisa desconocida, solo inferida, en la región de *rrs*



Si una de las siguientes bandas MUT está ausente:

- *rrs* WT1 (falta la banda *rrs* WT1) (véase la imagen de arriba como ejemplo),
- *rrs* WT2 (falta la banda *rrs* WT2)

y ninguna de las bandas MUT está presente en la región *rrs*.

Informe genotípico

Resistencia a la Am inferida

Medida diagnóstica complementaria

Se **recomienda** repetir la prueba para confirmar el resultado, si solo se detecta la sonda *rrs* WT2 o se detectan tanto *rrs* WT1 como WT 2 (y no se detecta ninguna sonda MUT).

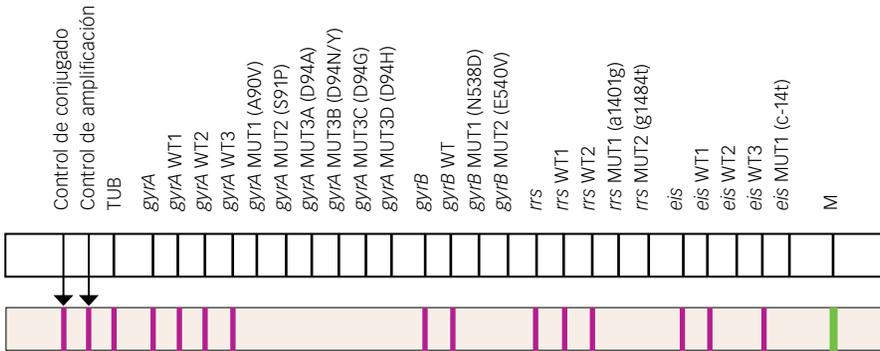
Opcional realizar la secuenciación con el fin de detectar la mutación específica.

Realizar la PSF fenotípica para FQ en el UC como en el caso 1.

Consecuencias clínicas

La Am probablemente no es eficaz.

Caso 7. Mutación precisa desconocida, solo inferida, en la región de *eis*



Si una de las siguientes bandas MUT está ausente:

- *eis* WT1 (falta la banda *eis* WT1) (por ejemplo, *eis* g-37t),
- *eis* WT2 (falta la banda *eis* WT2) (p. ej., *eis* c-12t o g-10a) (véase la imagen de arriba como ejemplo)

y ninguna de las bandas MUT se observa en la región de *eis*.

Informe genotípico

Resistencia a Am no detectada (si no hay mutaciones adicionales en la región *rrs*)

Medida diagnóstica complementaria

Se **recomienda** repetir la prueba para confirmar el resultado.

Opcional realizar la PSF fenotípica para FQ como en el caso 1.

Consecuencias clínicas

La Am probablemente es eficaz.

Referencias

1. Catalogue of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex and their association with drug resistance. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2021. (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/341981>, consultado en enero del 2022).
2. GenoType MTBDRplus VER 2.0 Molecular Genetic Assay for Identification of the *M. tuberculosis* complex and its resistance to rifampicin and isoniazid from clinical specimens and cultivated samples. Instructions for use. Nehren: Hain Lifescience; 2019.
3. Technical report on critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2018 (WHO/CDS/TB/2018.5). (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/260470>, consultado en enero del 2022).
4. The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex: Technical guide. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2018 (WHO/CDS/TB/2018.19). (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/274443>, consultado en enero del 2022).
5. Molecular line probe assay for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Policy statement. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2008. (https://www.who.int/tb/features_archive/policy_statement.pdf).
6. Nathavitharana RR, Hillemann D, Schumacher SG, Schleuter B, Ismail N, vally Omar S et al. Multicenter noninferiority evaluation of Hain GenoType MTBDRplus version 2 and Nipro NTM+MDRTB line probe assays for detection of rifampin and isoniazid resistance. *J Clin Microbiol.* 2016;54:1624–30.
7. The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to isoniazid and rifampicin: policy update. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2016 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/250586>, consultado en enero del 2022).
8. The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs: policy guidance. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2016 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/246131> consultado en enero del 2022).
9. Directrices unificadas de la OMS sobre la tuberculosis. Módulo 3: Diagnóstico. Diagnóstico rápido para la detección de la tuberculosis. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2022 (<https://iris.paho.org/handle/10665.2/55926>, consultado en enero del 2022).
10. Manual operativo de la OMS sobre la tuberculosis. Modulo 3: Diagnóstico. Métodos de diagnóstico rápido para detectar la tuberculosis, 2022. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2021. (<https://iris.paho.org/handle/10665.2/55927>, consultado en enero del 2022).
11. Merker M, Kohl TA, Barilar I, Andres S, Fowler PW et al. Phylogenetically informative mutations in genes implicated in antibiotic resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Genome Med.* 2020;12:27.

12. Ajileye A, Alvarez N, Merker M, Walker TM, Akter S, Brown K et al. Some synonymous and nonsynonymous gyrA mutations in *Mycobacterium tuberculosis* lead to systematic false-positive fluoroquinolone resistance results with the Hain GenoType MTBDRsl assays. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(4):e02169-16.
13. Folkvardsen DB, Svensson E, Thomsen vØ, Rasmussen EM, Bang D, Werngren J et al. Can molecular methods detect 1% isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*? *J Clin Microbiol.* 2013;51:1596–9.
14. Folkvardsen DB, Thomsen vØ, Rigouts L, Rasmussen EM, Bang D, Bernaerts G et al. Rifampin heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis* cultures as detected by phenotypic and genotypic drug susceptibility test methods. *J Clin Microbiol.* 2013;51:4220–2.
15. GenoType MTBDRsl VER 2.0. Molecular genetic assay for identification of the M. tuberculosis complex and its resistance to fluoroquinolones and aminoglycosides/ cyclic peptides from sputum specimens or cultivated samples. Instruction for use (December 2017). Nehren: Hain Lifescience; 2017.
16. Miotto P, Tessema B, Tagliani E, Chindelevitch L, Starks AM, Emerson C et al. A standardized method for interpreting the association between mutations and phenotypic drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Eur Respir J.* 2017;50(6):1701354.
17. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: Treatment – drug-resistant tuberculosis treatment. Online annexes. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2020. (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/332397>, consultado en enero del 2022)
18. Rapid communication: Key changes to treatment of multidrug- and rifampicin-resistant tuberculosis (MDR/RR-TB). Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2018 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/275383>, consultado en enero del 2022).
19. Seifert M, Catanzaro D, Catanzaro A, Rodwell TC. Genetic mutations associated with isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review. *PLoS One.* 2015;10:e0119628.
20. Kandler JL, Mercante AD, Dalton TL, Ezewudo MN, Cowan LS, Burns SP et al. validation of novel *Mycobacterium tuberculosis* isoniazid resistance mutations not detectable by common molecular tests. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62(10):00974-18.
21. Andre E, Goeminne L, Cabibbe A, Beckert P, Kabamba Mukadi B, Mathys v et al. Consensus numbering system for the rifampicin resistance-associated rpoB gene mutations in pathogenic mycobacteria. *Clin Microbiol Infect.* 2017;23:167–72.
22. Camus JC, Pryor MJ, Médigue C, Cole ST. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Microbiology.* 2002;148:2967–73.

Anexo 1.

Modelo de informe de los resultados de la prueba con sondas lineales para fármacos de primera línea y ejemplos prácticos

La columna "Conclusión" se ha incluido por conveniencia, pero no debe formar parte del informe del laboratorio.

Ejemplo 1

Fármaco	Gen	Mutación	Interpretación	Conclusión
R ^a	<i>rpoB</i>	H526Y	Resistencia a la R detectada	La R no es eficaz.
H ^a	<i>katG</i>	Mutación(es) en la región del codón 315	Mutación inferida, asociada con resistencia de alto nivel a la H	La H probablemente no es eficaz incluso en una dosis alta.
	<i>inhA</i>	t-8a		
Eto y Pto	<i>inhA</i>	t-8a	Resistencia a la Eto y la Pto probablemente detectada	Es probable que Eto y Pto no sean eficaces.

Ejemplo 2

Fármaco	Gen	Mutación	Interpretación	Conclusión
R	<i>rpoB</i>	Ninguna mutación detectada	Resistencia a la R no detectada	La R es eficaz.
H ^a	<i>katG</i>	S315T	Mutación detectada, asociada con resistencia de alto nivel a la H	La H no es eficaz incluso en una dosis alta.
	<i>inhA</i>	c-15t		
Eto y Pto	<i>inhA</i>	c-15t	Resistencia a la Eto y la Pto detectada	Eto y Pto no son eficaces.

Ejemplo 3

Fármaco	Gen	Mutación	Interpretación	Conclusión
R	<i>rpoB</i>	Mutación(es) en codones 516-522 (435-441)	Resistencia a la R inferida	La R es eficaz.
H	<i>katG</i>	Ninguna mutación detectada	Mutación detectada, probablemente asociada con al menos resistencia de bajo nivel a la H	La H en dosis altas es probablemente eficaz.
	<i>inhA</i>	t-8c		
Eto y Pto	<i>inhA</i>	t-8c	Resistencia a la Eto y la Pto probablemente detectada	Es probable que Eto y Pto no sean eficaces.

^a Si más de una sonda por fármaco aporta información, los resultados deben notificarse según la siguiente jerarquía (donde el signo ">" significa "prima sobre"): Para H: Mutación asociada con resistencia de alto nivel detectada > Mutación inferida, asociada con resistencia de alto nivel > Mutación detectada, asociada con al menos resistencia de bajo nivel > Mutación asociada con al menos resistencia de bajo nivel inferida > Resistencia no detectada Para R: Resistencia detectada > Resistencia inferida > Resistencia no detectada

Anexo 2.

Modelo de informe de los resultados de la prueba con sondas lineales para fármacos de segunda línea y ejemplos prácticos

La columna “Conclusión” se ha incluido por conveniencia, pero no debe formar parte del informe del laboratorio.

Ejemplo 1

Fármaco	Gen	Mutación	Interpretación	Conclusión
Lfx ^a	<i>gyrA</i>	D94A	Resistencia a la Lfx detectada	La Lfx no es eficaz. La Mfx podría usarse en una dosis más alta. Se debe reevaluar el esquema, en función de los resultados de la PSF fenotípica en el UC.
	<i>gyrB</i>	Ninguna mutación detectada		
Mfx ^a	<i>gyrA</i>	D94A	Mutación detectada, asociada con al menos resistencia de bajo nivel a la Mfx	
	<i>gyrB</i>	Ninguna mutación detectada		
Am ^a	<i>rrs</i>	a1401g	Resistencia a la Am detectada	
	promotor de <i>eis</i>	Ninguna mutación detectada		

Ejemplo 2

Fármaco	Gen	Mutación	Interpretación	Conclusión
Lfx	<i>gyrA</i>	A90V	Resistencia a la Lfx detectada	La Lfx no es eficaz. La Mfx podría usarse en una dosis más alta. Se debe reevaluar el esquema, en función de los resultados de la PSF fenotípica en el UC.
	<i>gyrB</i>	Ninguna mutación detectada		
Mfx	<i>gyrA</i>	D94A	Mutación detectada, asociada con al menos resistencia de bajo nivel a la Mfx	
	<i>gyrB</i>	Ninguna mutación detectada		
Am	<i>rrs</i>	Ninguna mutación detectada	Resistencia a la Am detectada	
	promotor de <i>eis</i>	c-14t		

Ejemplo 3

Fármaco	Gen	Mutación	Interpretación	Conclusión
Lfx	<i>gyrA</i>	Mutación(es) en codones 89–93	Resistencia a la Lfx inferida	La Lfx no es eficaz. La Mfx podría usarse en una dosis más alta. Se debe reevaluar el esquema, en función de los resultados de la PSF fenotípica en el UC. Nota. Estas recomendaciones no se aplican si en la secuenciación, disponible antes del inicio del tratamiento, se detectan mutaciones no asociadas con resistencia a las FQ o si la PSF fenotípica muestra sensibilidad en la CC.
	<i>gyrB</i>	Ninguna mutación detectada		
Mfx	<i>gyrA</i>	Mutación(es) en codones 89–93	Mutación inferida, asociada con al menos resistencia de bajo nivel a la Mfx	
	<i>gyrB</i>	Ninguna mutación detectada		
Am	<i>rrs</i>	Ninguna mutación detectada	Resistencia a la Am detectada	La Am es eficaz.
	promotor de <i>eis</i>	Mutación(es) en la región -37		

^a Si más de una sonda por fármaco aporta información, los resultados deben notificarse según la siguiente jerarquía (donde el signo ">" significa "prima sobre"):

Para Lfx y Am: Resistencia detectada > Resistencia inferida > Resistencia no detectada

Para Mfx: Mutación asociada con resistencia de alto nivel detectada > Mutación detectada, asociada con al menos resistencia de bajo nivel > Mutación asociada con al menos resistencia de bajo nivel inferida > Resistencia no detectada

Anexo 3.

Cambios de nucleótidos específicos detectados con las sondas de mutación

Algunos de los cambios de aminoácidos (AA) detectados con las LPA de primera y segunda línea se deben a cambios de nucleótidos que no son reconocidos específicamente por las sondas MUT. Por ejemplo, la mutación *gyrA* A90V se debe a dos cambios de nucleótido posibles: *gcg>gtg* o *gcg>gtc*. Sin embargo, solo la primera, *gcg>gtg*, será detectada por la sonda *gyrA* MUT1, pero la segunda, *gcg>gtc* se detectará solo por la ausencia de *gyrA* WT2 (es decir, *gyrA* WT2 ausente).

	Sonda MUT	Cambio de AA	Cambio de nucleótido
Sondas MUT de <i>rpoB</i>	MUT1	D516V (D435V)	<i>gac > gtc</i>
	MUT2A	H526Y (H445Y)	<i>cac > tac</i>
	MUT2B	H526D (H445D)	<i>cac > gac</i>
	MUT3	S531L (S450L)	<i>tcg > ttg</i>

	Sonda MUT	Cambio de AA	Cambio de nucleótido
Sondas MUT de <i>katG</i>	MUT1	S315T	<i>agc>acc</i>
	MUT2	S315T	<i>agc>aca</i>

	Sonda MUT	Cambio de AA	Cambio de nucleótido
Sondas MUT de <i>gyrA</i>	MUT1	A90V	<i>gcg>gtg</i>
	MUT2	S91P	<i>tcg>ccg</i>
	MUT3A	D94A	<i>gac>gcc</i>
	MUT3B	D94N	<i>gac>aac</i>
	MUT3B	D94Y	<i>gac>tac</i>
	MUT3C	D94G	<i>gac>ggc</i>
	MUT3D	D94H	<i>gac>cac</i>

	Sonda MUT	Cambio de AA	Cambio de nucleótido
Sondas MUT de <i>gyrB</i>	MUT1	N538D (N499D)	<i>aac > gac</i>
	MUT2	E540V (E501V)	<i>gaa > gta</i>



OPS



Organización
Panamericana
de la Salud



Organización
Mundial de la Salud
ORGANIZACIÓN REGIONAL DE LAS AMÉRICAS

Para obtener más información,
póngase en contacto con:

Sitio web: www.who.int/tb.

