

# Discordancia entre pruebas de susceptibilidad genotípicas y fenotípicas para tuberculosis en Cali, Colombia: un reto en la práctica clínica

## Discordance between genotypic and phenotypic susceptibility tests for tuberculosis in Cali, Colombia: a challenge in the clinical practice

José F García-Goéz<sup>1,2</sup>, Stefania Cruz-Calderón<sup>2</sup>, Carlos J. Vargas-Potes<sup>2</sup>, María Elena Tello-Cajiao<sup>3</sup>, Nelson Romero-Rosas<sup>2</sup>, Alejandro Padilla-Guzmán<sup>2</sup>, Adriana Palacios<sup>4</sup> y Luis Gabriel Parra-Lara<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Infectología, Departamento de Medicina Interna, Fundación Valle del Lili, Cali, Colombia.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Icesi, Cali, Colombia.

<sup>3</sup>Centro de Investigaciones Clínicas (CIC), Fundación Valle del Lili, Cali, Colombia.

<sup>4</sup>Laboratorio de Microbiología, Fundación Valle del Lili, Cali, Colombia.

<sup>5</sup>Departamento de Medicina Interna, Fundación Valle del Lili, Cali, Colombia.

Conflicto de intereses. Ninguno que declarar.

Financiación. Sin financiación.

Recibido: 5 de julio de 2022 (segunda versión: 11 de julio de 2023) / Aceptado: 06 de septiembre de 2023

### Resumen

**Introducción:** La detección de patrones de resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* se basa en pruebas de susceptibilidad fenotípicas y genotípicas. Los resultados discordantes entre ellas son un desafío clínico para el manejo de pacientes con tuberculosis resistente a fármacos. **Objetivo:** Evaluar la concordancia entre pruebas fenotípicas y moleculares en pacientes con tuberculosis resistente a fármacos atendidos en una institución de Cali, Colombia. **Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio transversal en el que se obtuvo el perfil de sensibilidad fenotípico de cultivos de micobacterias y la susceptibilidad genotípica con las pruebas moleculares Xpert-MTB/RIF® o Genotype-MDRTBplus®. Se evaluó el porcentaje de resistencia y porcentaje de acuerdo entre los resultados de las pruebas fenotípicas y genotípicas. Se estimó un coeficiente de kappa de Cohen ( $\kappa$ ) para cada tipo de resistencia según la prueba utilizada. **Resultados:** Se incluyeron 30 casos con resultados de pruebas genotípicas y fenotípicas. Las pruebas fenotípicas detectaron resistencia a fármacos de primera línea en 29/30 casos, mientras que las moleculares detectaron la resistencia en todos los casos evaluados. El porcentaje de resistencia a rifampicina detectado entre la prueba fenotípica y Genotype-MDRTBplus® fue 61,5% (acuerdo global 41,1%,  $\kappa = 0,40$ ,  $p = 0,96$ ), mientras que el porcentaje de resistencia detectado con Xpert-MTB/RIF® fue 100% (acuerdo global 81,82%,  $\kappa: 0,00$ ,  $p < 0,001$ ) para este mismo

### Abstract

**Background:** The detection of *Mycobacterium tuberculosis* resistance patterns is based on phenotypic and genotypic susceptibility tests. The discordant results between them are a clinical challenge for the management of patients with drug-resistant tuberculosis. **Aim:** To evaluate the concordance between phenotypic and molecular tests in patients with drug-resistant tuberculosis treated in an institution in Cali, Colombia. **Methods:** A cross-sectional study was conducted. A phenotypic sensitivity profile was obtained from mycobacterial cultures. The genotypic susceptibility was obtained with Xpert-MTB/RIF® or Genotype-MDRTBplus®. The percentage of resistance and percentage of agreement between the results of the phenotypic and genotypic tests were evaluated. A Cohen's kappa coefficient ( $\kappa$ ) was estimated for each type of resistance according to the test used. **Results:** A total of 30 cases with both genotypic and phenotypic testing were included. The phenotypic tests detected resistance to first-line drugs in 29/30 cases, while the molecular tests detected resistance in all the cases evaluated. The percentage of resistance detected between Genotype-MDRTBplus® and the phenotypic test for rifampicin was 61.5% (overall agreement 41.1%,  $\kappa = 0.40$ ,  $p = 0.96$ ), while the percentage of resistance detected with Xpert-MTB/RIF® was 100% (overall agreement 81.82%,  $\kappa: 0.00$ ,  $p < 0.001$ ) for this same drug. Resistance to isoniazid detected by both types

### Correspondencia a:

José Fernando García-Goez  
jose.garcia.go@fvl.org.co  
jfgarcia@icesi.edu.co

medicamento. El porcentaje de resistencia a isoniácida detectado entre la prueba fenotípica y Genotype-MDRTBplus® fue 94,4% (acuerdo global 89,47%,  $\kappa$ : -0,055  $p = 0,59$ ). **Conclusiones:** La discordancia entre los resultados de las pruebas genotípicas y fenotípicas es posible, por lo que es importante usar e interpretar ambos tipos de pruebas de manera complementaria en el diagnóstico de la resistencia a fármacos de primera línea en la infección por *M. tuberculosis*.

**Palabras clave:** tuberculosis resistente a fármacos; discordancias pruebas de susceptibilidad *M. tuberculosis*; susceptibilidad a fármacos antituberculosos; Colombia.

of tests was 94.4% (overall agreement 89.47%,  $\kappa$ : -0.055  $p = 0.59$ ). **Conclusions:** Discordance between the results of genotypic and phenotypic tests is possible, so it is important to use and interpret both types of tests in a complementary way in the diagnosis of resistance to first-line drugs in *M. tuberculosis* infection.

**Keywords:** drug-resistant tuberculosis; discordances *M. tuberculosis* susceptibility tests; susceptibility to antituberculous drugs; Colombia.

## Introducción

La tuberculosis (TB) es una de las principales enfermedades transmisibles y causa de muerte en todo el mundo. La TB resistente a los medicamentos (TB-RM) continúa siendo una amenaza para la salud pública. Globalmente, se estima que la carga de TB-RM aumentó entre 2020 y 2021, con 450.000 (95% UI: 399.000-501.000) nuevos casos de TB resistente a rifampicina (RIF) (TB-RR) en 2021<sup>1</sup>.

Colombia es un país con incidencia intermedia de TB, y presenta una frecuencia de 6,4 casos de TB farmacorresistente por cada millón de casos<sup>2</sup>; por tanto, el conocimiento de la sensibilidad a fármacos antituberculosos es fundamental para orientar el tratamiento<sup>3,4</sup>. Actualmente, el país cuenta con pruebas fenotípicas de susceptibilidad a fármacos (PSF) que se realizan a partir de cultivo sólido o líquido<sup>5-7</sup>, así como con tecnologías basadas en biología molecular que optimizan el tiempo de detección de la resistencia, reduciéndolo incluso a horas<sup>6,7</sup>. Las pruebas moleculares permiten no solo identificar a la micobacteria, sino también amplificar una secuencia específica del gen *rpoB* en busca de mutaciones dentro de la región determinante de la resistencia a RIF (RRDR, por sus siglas en inglés). Esta región posee 81 pares de bases y se extiende desde los codones 426 a 452 de *Mycobacterium tuberculosis* (numeración de *Escherichia coli* 507-533); además, es factible evaluar mutaciones en los genes *katG* e *inhA* para el estudio de la resistencia a isoniazida (INH)<sup>8-11</sup>.

Si bien estas pruebas tienen un alto rendimiento diagnóstico de la resistencia (detección de resistencia a RIF con Xpert-MTB/RIF®, sensibilidad de 95 % [IC 95% 90-97%] y especificidad de 98% [IC 95% 97-99%] comparadas con las PSF<sup>12</sup>, es posible encontrar discordancias entre ellas (2,6-14,6% para RIF y 7,2-7,5% para INH)<sup>13-16</sup>. Esta situación lleva al uso inadecuado de fármacos antituberculosos, mayores tasas de fracaso, recaídas, incremento en los efectos adversos relacionados con los fármacos y mortalidad<sup>3,6,14,15</sup>. Dado lo anterior, el objetivo de este

estudio fue describir la discordancia entre pruebas fenotípicas y genotípicas en la detección de resistencia a RIF/INH en un grupo de pacientes con TB.

## Materiales y Métodos

### Diseño, selección de pacientes y recolección de datos

Se realizó un estudio transversal con datos de pacientes adultos diagnosticados con TB en la Fundación Valle del Lili (Cali, Colombia) entre enero de 2007 y diciembre de 2019.

Los casos de TB fueron obtenidos del Registro Institucional de Micobacterias (TB-CLINIC). Este registro incluye variables sociodemográficas, clínicas y de laboratorio de los pacientes. Se seleccionaron todos los casos de TB-RM. Se incluyeron los casos con información disponible sobre las pruebas utilizadas para el diagnóstico de la farmacorresistencia. La información fue complementada con la revisión de las historias clínicas, las bases de datos del comité de vigilancia epidemiológica y datos del laboratorio de microbiología institucional. Se excluyeron los casos que fueron clasificados como resistentes mediante una sola prueba o aquellos casos con una sola prueba de resistencia a fármacos, ya fuera genotípica o fenotípica, o con información incompleta.

### Consideraciones éticas

Este estudio fue revisado y aprobado por el Comité de Ética en Investigación Biomédica de la Fundación Valle del Lili (Protocolo No. 566, Aprobación No. 094-2012) y fue considerado de riesgo mínimo, según la Resolución 8430/93 del Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia. No se requirió de consentimiento informado.

### Definición de la resistencia y concordancia entre pruebas

El resultado fenotípico de la resistencia a RIF e INH se obtuvo del reporte de la PSF realizado al cultivo del caso identificado, mientras que el resultado molecular

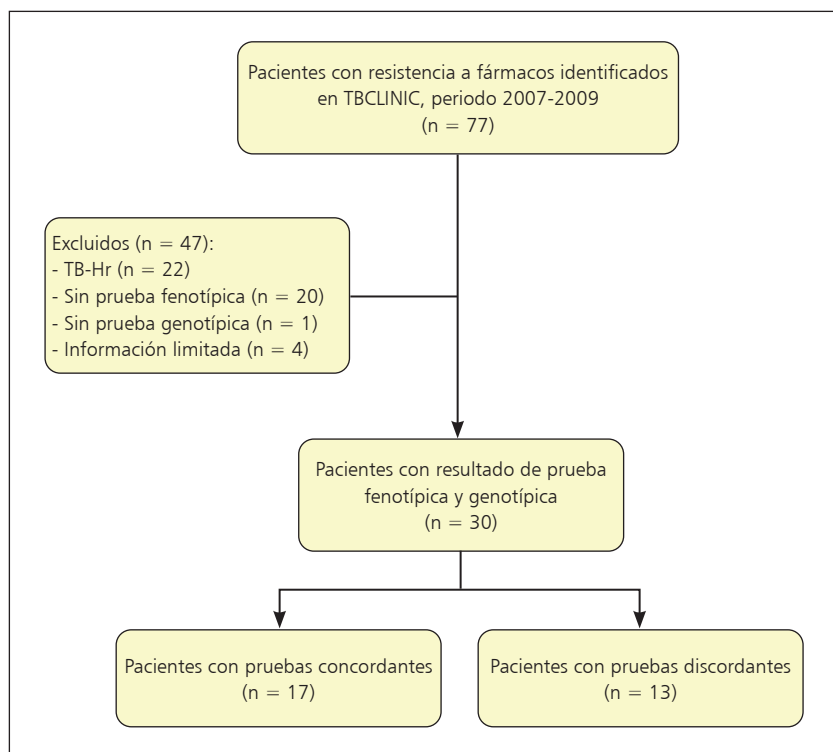


Figura 1. Diagrama de flujo de la selección de pacientes del estudio.

de la resistencia se obtuvo a partir de las pruebas Xpert-MTB/RIF® (Cepheid, Inc., Sunnyvale, California, USA) o Genotype-MDRTBplus® (Hain Lifescience GmbH, Nehren, Germany). La elección de la prueba molecular fue dada según su disponibilidad. Los casos identificados fueron definidos como *discordantes* si las pruebas fenotípicas y genotípicas reportaban resultados diferentes de la resistencia y *concordantes* si fueron iguales. Dado que la prueba de Xpert-MTB/RIF® solo detecta genes de resistencia a RIF, se tomó como resultado concordante si se lograba detectar la resistencia a este fármaco en las pruebas de susceptibilidad fenotípicas, independiente del resultado de esta última sobre INH.

#### Análisis estadístico

Las variables categóricas fueron resumidas en tablas de frecuencia absoluta y relativa, mientras que las variables cuantitativas se describieron con mediana y rango intercuartílico (RIC). Se calculó el porcentaje resistentes y el porcentaje de acuerdo entre los resultados de las pruebas fenotípicas y genotípicas. Se estimó el coeficiente de kappa de Cohen ( $\kappa$ ) para cada tipo de resistencia según la prueba utilizada. Se consideró un  $p < 0,05$  como significativo. Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico Stata® (StataCorp. 2017. Stata Statistical Software: Release 15. College Station, TX: StataCorp LLC).

## Resultados

Se identificaron 77 pacientes con TB-RM en el registro entre los años 2007 y 2019. De ellos, 30 casos cumplieron los criterios de selección del estudio, 17 con pruebas concordantes y 13 con pruebas discordantes (Figura 1).

### Características de los pacientes

En la Tabla 1 se describen las características de los pacientes agrupados según la concordancia de los resultados de las pruebas fenotípicas y genotípicas. La mediana de edad fue de 31 años (RIC = 25-42 años), sin diferencias en la distribución por sexo y etnia. En el grupo con resultados concordantes, todos tenían TB pulmonar y 29,4% habían sido previamente tratados por TB. En el grupo con resultados discordantes, había una persona con TB ganglionar. En general, 22,5% de los pacientes presentaron alguna comorbilidad, siendo la más frecuente la infección por VIH (10%). En casi la mitad de los casos se registró tratamiento exitoso. Hubo una muerte en el grupo de pacientes con pruebas discordantes. En 43,6% de los casos no se encontró la evaluación del desenlace.

### Descripción de las resistencias detectadas

En total, las PSF detectaron resistencia a medicamentos de primera línea en 29/30 casos; 22 resistencias a INH y RIF y 7 casos de monoresistencia a INH (TB-Hr). Las pruebas moleculares detectaron resistencia en todos los casos evaluados. La prueba Genotype-MDRTBplus® detectó 13 casos de resistencia a RIF y INH, 5 casos con TB-Hr y uno de TB-RR. La prueba de Xpert-MTB/RIF® detectó 11 casos de resistencia a RIF (Tabla 2). Hubo un paciente con sensibilidad a RIF e INH en las PSF, pero resistente en las pruebas moleculares.

### Discordancia de la resistencia según el tipo de prueba aplicada

Para RIF, el porcentaje de resistencia detectado entre la prueba fenotípica y Genotype-MDRTBplus® fue de 61,5%, mientras que el porcentaje de acuerdo global calculado en esta prueba alcanzó el 41,11% con un  $\kappa$  de -0,40 ( $p = 0,96$ ). El porcentaje de resistencia detectado entre las pruebas fenotípicas y Xpert-MTB/RIF® fue de 100%, con un porcentaje de acuerdo global de 81,82%,  $\kappa$  de 0,00 ( $p < 0,01$ ).

En el caso de INH, la resistencia detectada por ambas pruebas fue de 94,4%, con un porcentaje de acuerdo global de 89,47%,  $\kappa$  -0,055 ( $p = 0,59$ ). Ninguna de las pruebas mostró una concordancia estadísticamente significativa (Tabla 3).

**Tabla 1. Características sociodemográficas y clínicas de pacientes con TB-MDR con resultados de pruebas de susceptibilidad fenotípica y genotípica (n = 30)**

| Características                | Total, n = 30<br>n (%) | Concordante, n = 17<br>n (%) | Discordante, n = 13<br>n (%) |
|--------------------------------|------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Edad en años, mediana (RIC)    | 31 (25-42)             | 34 (27-44)                   | 27 (22,5-38)                 |
| Sexo femenino                  | 16 (53,3)              | 9 (52,9)                     | 7 (53,8)                     |
| Afiliación al sistema de salud |                        |                              |                              |
| Contributivo                   | 15 (50)                | 8 (47,0)                     | 7 (53,8)                     |
| Subsidiado                     | 13 (43,3)              | 7 (41,2)                     | 6 (46,2)                     |
| Especial                       | 2 (6,7)                | 2 (11,8)                     | -                            |
| Antecedentes                   |                        |                              |                              |
| TB previamente tratada         | 7 (23,3)               | 5 (29,4)                     | 2 (15,4)                     |
| PPD positiva previa            | 2 (6,6)                | 1 (5,9)                      | 1 (7,7)                      |
| Privación de la libertad       | 1 (3,3)                | -                            | 1 (7,7)                      |
| Trabajador de la salud         | 3 (10)                 | 3 (17,6)                     | -                            |
| Contacto epidemiológico de TB  | 1 (3,3)                | -                            | 1 (7,7)                      |
| Comorbilidades                 |                        |                              |                              |
| Infección por VIH              | 3 (10)                 | 1 (5,9)                      | 2 (15,4)                     |
| EPOC                           | 1 (3,3)                | -                            | 1 (7,7)                      |
| Diabetes mellitus              | 1 (3,3)                | 1 (5,9)                      | -                            |
| Enfermedad renal crónica       | 1 (3,3)                | 1 (5,9)                      | -                            |
| Tiempo de diagnóstico          |                        |                              |                              |
| < 30 días                      | 8 (26,7)               | 2 (11,8)                     | 6 (46,1)                     |
| 30-90 días                     | 7 (23,3)               | 3 (17,6)                     | 4 (30,8)                     |
| > 90 días                      | 15 (50)                | 12 (70,6)                    | 3 (23,1)                     |
| Localización de la TB          |                        |                              |                              |
| Pulmonar                       | 29 (96,7)              | 17 (100)                     | 12 (92,3)                    |
| Ganglionar                     | 1 (3,3)                | -                            | 1 (7,7)                      |
| Desenlaces                     |                        |                              |                              |
| Éxito al tratamiento           | 15 (50)                | 10 (58,8)                    | 5 (38,5)                     |
| Muerte                         | 1 (3,3)                | -                            | 1 (7,7)                      |
| No evaluado                    | 14 (46,7)              | 7 (41,2)                     | 7 (53,8)                     |

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; PPD: prueba cutánea de derivado proteico purificado (prueba de Mantoux); RIC: rango intercuartílico; TB: tuberculosis; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.

**Tabla 2. Frecuencia de casos de resistencia detectadas según el tipo de prueba (n=30).**

| Tipo de prueba      | Resistencia detectada |     |     | Total |
|---------------------|-----------------------|-----|-----|-------|
|                     | RIF + INH             | RIF | INH |       |
| Fenotípica          | 22                    | -   | 7   | 29    |
| Xpert-MTB/RIF®*     | NA                    | 11  | NA  | 11    |
| Genotype-MDRTbplus® | 13                    | 1   | 5   | 19    |

\*Hubo un paciente que resultó sensible a RIF e INH en las PSF, pero resistente en las pruebas moleculares. INH: isoniazida; NA: no aplica; RIF: rifampicina.

**Tabla 3. Concordancia de los resultados de resistencia a rifampicina e isoniazida encontrada según el tipo de prueba aplicada**

| Fármaco | Prueba genotípica  | Prueba fenotípica |          | Total | Porcentaje de resistentes |
|---------|--------------------|-------------------|----------|-------|---------------------------|
|         |                    | Resistente        | Sensible |       |                           |
| RIF     | Genotype-MTBDRplus |                   |          |       |                           |
|         | Resistente         | 8                 | 6        | 14    | 61,5%                     |
|         | Sensible           | 5                 | -        | 5     |                           |
|         | Total              | 13                | 6        | 19    |                           |
|         | Xpert-MTB/RIF      |                   |          |       | 100%                      |
|         | Resistente         | 9                 | 2        | 11    |                           |
|         | Sensible           | -                 | -        | -     |                           |
|         | Total              | 9                 | 2        | 11    |                           |
| INH     | Genotype-MTBDRplus |                   |          |       |                           |
|         | Resistente         | 17                | 1        | 18    | 94,4%                     |
|         | Sensible           | 1                 | -        | 1     |                           |
|         | Total              | 18                | 1        | 19    |                           |

INH: isoniazida; RIF: rifampicina.

## Discusión

Este estudio describe la discordancia entre pruebas fenotípicas y moleculares en la evaluación de la resistencia a fármacos de primera línea contra TB, en una institución de Cali, Colombia. De los 30 pacientes evaluados, hubo un caso en el que la resistencia a medicamentos no fue reportada por las pruebas fenotípicas, pero sí por las moleculares. Los hallazgos mostraron un buen acuerdo de detección de la resistencia entre Xpert-MTB/RIF® y las PSF para RIF (100%), así como detección de la resistencia a INH mayor de 80% con Genotype-MDRTBplus®. Sin embargo, hubo mayor discordancia en la detección de resistencia a RIF cuando se comparó Genotype-MDRTBplus® con las pruebas fenotípicas, alcanzando un porcentaje de resistencia de 61,5% entre ambas pruebas y un bajo porcentaje global de acuerdo (42,11%).

Estudios previos también han documentado porcentajes de acuerdo altos entre pruebas fenotípicas y genotípicas que oscilan entre 89,6-97,4% para RIF y 93-97% para INH<sup>14,17-20</sup>. Otros estudios han descrito la discordancia entre Genotype-MDRTBplus® y PSF de 14,6% para RIF y de 7,2% para INH<sup>13</sup>, así como discordancia entre Xpert-MTB/RIF® y PSF de entre 16,2 y 55,1%<sup>21-23</sup>. Aunque la discordancia entre las pruebas no es frecuente, y en general presentan una buena correlación, se ha observado que los casos de discordancia se relacionan con mutaciones limítrofes, discordantes, en disputa, ocultas o de bajo nivel de resistencia como las caracterizadas en las secuencias L430P y RRDR del gen *rpoB* para RIF.

En el estudio de las mutaciones de resistencia limítrofe, se ha observado que las concentraciones críticas (CC) de RIF usadas en medios de cultivo como el agar Middlebrook 7H10 y el Mycobacterium Growth Indicator Tube (MGIT) eran demasiado altas para la población con fenotipo salvaje. Esto se ha corregido con la reducción de las CC a un valor de corte epidemiológico de 0,5 mg/L, con lo cual se ha reducido la discordancia entre el hallazgo fenotípico y genotípico de la resistencia a RIF. Sin embargo, la posibilidad de discordancia no se elimina, ya que las mutaciones de resistencia limítrofe generalmente se asocian solo con aumentos moderados de la concentración inhibitoria mínima (CIM) que podrían no ser reportados como resistentes<sup>24,25</sup>. En consecuencia, el manual técnico de la Organización Mundial de la Salud (OMS) propone la secuenciación de todo el gen *rpoB* teniendo en cuenta que, mutaciones en este gen se encuentran en 97% de las cepas resistentes a RIF generalmente ubicadas en la RRDR<sup>26,27</sup>.

Otra situación clínica probable corresponde a los casos de heterorresistencia, donde coexisten aislados sensibles y resistentes a los fármacos, lo que puede resultar en el enmascaramiento de los aislados resistentes a los fármacos por parte de los microorganismos sensibles. La heterorresistencia puede surgir de una infección mixta, cuando las cepas resistentes y susceptibles infectan a una persona al mismo tiempo, o cuando un solo clon cambia de una cepa susceptible a resistente al experimentar una mutación genética bajo la presión de los antimicrobianos<sup>28,29</sup>. No existe un método estándar para la detección de heterorresistencia, pero se pueden aplicar métodos fenotípicos (E-test, la prueba de difusión en disco y el

perfil de análisis de población) y moleculares (ensayo de sonda de línea [sigla en inglés: LPA], secuenciación, Genotype-MDR-TB<sup>plus</sup>® y el ensayo iPLEX Gold). Estos últimos, brindan resultados confiables y son relativamente fáciles de realizar<sup>30,31</sup>. Por su parte, pruebas como el perfil de análisis de población es un método confiable pero difícil de realizar debido al alto costo y la intensidad de recurso necesario para su ejecución<sup>29</sup>.

En este estudio se observaron resultados de coeficiente  $\kappa$  negativos y en cero, lo que implica que las pruebas fenotípicas y genotípicas no son intercambiables y deberían tratarse como complementarias, pues cada técnica de detección de resistencia a fármacos tiene sus limitaciones. Sin embargo, la detección de la resistencia a RIF con ensayos moleculares como LPA y Xpert-MTB/RIF® muestran un sólido rendimiento diagnóstico cuando se comparan con pruebas fenotípicas (sensibilidad de 95-98%)<sup>5,32,33</sup>.

Por otro lado, la resistencia a INH involucra mutaciones en un número largo de genes (*katG*, *inhA*, *kasA*, *ndh*, región intergénica *oxyR-ahpC*), siendo la mutación en *katG* la principal contribuyente. Se ha visto que casi 56% de los aislados con TB-Hr no tienen mutaciones en el gen *katG*, lo cual sugiere otras causas genéticas de resistencia primaria a INH<sup>34</sup>. Estudios han encontrado mecanismos relacionados a bombas de expulsión que podrían explicar la base de la resistencia en 20 a 30% de los aislados fenotípicamente resistentes, en los que ninguna mutación genotípica es identificada<sup>35,36</sup>.

Los dos LPA respaldados por la OMS son Hain (Hain Lifescience, Nehren, Alemania) y Nipro (NIPRO Corporation, Osaka, Japón), los cuales se basan en la detección de mutaciones de resistencia a INH bien caracterizadas en el gen *katG* y el promotor de *inhA*. Lo anterior resulta relevante debido a que, de acuerdo a la identificación de estas mutaciones, los casos de resistencia a INH pueden ser clasificados como de alto o bajo nivel, con implicaciones en el tratamiento y los desenlaces clínicos. Respecto a la CC para INH, la evidencia para realizar cambios en los puntos de corte es insuficiente y la OMS ha planteado la posibilidad de ajustarlos con el fin de mejorar la estratificación del grado de resistencia a este fármaco<sup>24</sup>. En consecuencia, el diagnóstico de la resistencia a INH requiere de la realización de ambos tipos de pruebas (fenotípicas y genotípicas), mientras que la resistencia a RIF puede ser diagnosticada solo con pruebas moleculares.

En Colombia, existe una importante brecha en la implementación de pruebas moleculares y fenotípicas. Para el 2019, apenas 59% de los casos nuevos y 81% de los casos previamente tratados con confirmación bacteriológica, tenían resultados de resistencia a RIF y solo 38% de los

notificados como TB multidrogoresistente (TB-MDR) tenían disponible una PSF a fármacos de primera línea<sup>1</sup>. En este escenario, algunas características clínicas ayudan a sospechar la resistencia, como el antecedente de TB previamente tratada o abandono de tratamiento<sup>37,38</sup>. Sin embargo, el papel de las pruebas de laboratorio en la determinación de la resistencia es irremplazable.

Existen varias limitaciones en este estudio. En primer lugar, se trata de un diseño de tipo retrospectivo por lo que se pudieron incurrir en sesgos de información. No se obtuvo información sobre el tipo de cultivo usado en la determinación de la PSF y sobre el momento del tratamiento en que se tomaron las muestras. En los resultados discordantes no se dispuso de información sobre pruebas repetidas. Algunas muestras fueron procesadas en laboratorios diferentes al institucional por asuntos administrativos (sistema de salud) y no se obtuvo información sobre la población bacilar en la aplicación de algunas pruebas moleculares. Para mitigar el impacto de estas limitaciones, los datos fueron cruzados con varias fuentes de información con el fin de mejorar su calidad. También es posible que se haya introducido un sesgo de selección, dado que la institución es un centro de referencia de casos complejos que no necesariamente representa la magnitud del evento en la región. A pesar de lo anterior, estos resultados contribuyen al panorama epidemiológico local y regional sobre la importancia del uso de estas pruebas de laboratorio en el marco de los programas de TB.

## Conclusiones

Este estudio muestra la probabilidad de discordancia entre los resultados de las PSF y las pruebas genotípicas en el diagnóstico de la resistencia de *M. tuberculosis* a fármacos de primera línea, lo que constituye un verdadero reto en la práctica clínica y para la salud pública. Si bien las PSF son fundamentales en el diagnóstico de la TB-MDR, la evidencia ha mostrado que las pruebas moleculares son una excelente herramienta en el estudio de la resistencia. Un mejor enfoque para el diagnóstico de la farmacoresistencia debería ser una combinación entre ambos tipos de pruebas. La implementación de diferentes plataformas que identifiquen la resistencia a fármacos antituberculosos requiere de un sistema de vigilancia que evalúe los resultados discordantes en las cepas de *M. tuberculosis* aisladas, pues existe variedad de mutaciones o heteroresistencia, que pueden generar discrepancias entre las técnicas y contribuir a pobres resultados clínicos.

## Referencias bibliográficas

- 1.- World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2022. World Health Organization, editor. Geneva; 2022. 68 p. <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022>.
- 2.- Programa Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis. Informe de Evento Tuberculosis año 2021 [Internet]. Bogotá D.C.; 2021. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/comportamiento-tuberculosis-2020.pdf>
- 3.- Pradipta IS, Forsman LD, Bruchfeld J, Hak E, Alffenaar J-W. Risk factors of multidrug-resistant tuberculosis: A global systematic review and meta-analysis. *J Infect* [Internet]. 2018;77(6): 469-78. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2018.10.004>.
- 4.- Piubello A, Ait-khaled N, Caminero J A, Chiang C-Y, Dlodlo R, Fujiwara P, et al. Guía de práctica para el manejo de la tuberculosis resistente. Union Internacional contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias (La Unión), editor. Paris; 2018. 1-112 p. [https://theunion.org/sites/default/files/2020-08/TheUnion\\_DR-TB-Brochure\\_170x235mm\\_ESP\\_LR.pdf](https://theunion.org/sites/default/files/2020-08/TheUnion_DR-TB-Brochure_170x235mm_ESP_LR.pdf)
- 5.- Schön T, Miotto P, Köser C U, Viveiros M, Böttger E, Cambau E. *Mycobacterium tuberculosis* drug-resistance testing: challenges, recent developments and perspectives. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2017 Mar; 23(3): 154-60. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.10.022>.
- 6.- Heyckendorf J, Andres S, Köser C U, Olaru I D, Schön T, Sturegård E, et al. What is resistance? Impact of phenotypic versus molecular drug resistance testing on therapy for multi- and extensively drug-resistant tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2018; 62(2). Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.01550-17>.
- 7.- World Health Organization. The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex: technical guide [Internet]. Geneva PP - Geneva: World Health Organization; Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/274443>.
- 8.- Telenti A, Imboden P, Marchesi F, Lowrie D, Cole S, Colston MJ, et al. Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. *Lancet* (London, England). 1993;341(8846): 647-50. doi: 10.1016/0140-6736(93)90417-f.
- 9.- Van Rie A, Warren R, Mshanga I, Jordaan AM, van der Spuy G D, Richardson M, et al. Analysis for a limited number of gene codons can predict drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in a high-incidence community. *J Clin Microbiol*. 2001; 39(2): 636-41. doi: 10.1128/JCM.39.2.636-641.2001.
- 10.- Ramaswamy S, Musser J M. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: 1998 update. *Tuber Lung Dis*. 1998; 79(1): 3-29. doi: 10.1054/tuld.1998.0002.
- 11.- Lawn S D, Nicol M P. Xpert® MTB/RIF assay: development, evaluation and implementation of a new rapid molecular diagnostic for tuberculosis and rifampicin resistance. *Future Microbiol*. 2011; 6(9): 1067-82. doi: 10.2217/fmb.11.84.
- 12.- Steingart K R, Schiller I, Horne D J, Pai M, Boehme C C, Dendukuri N. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014; (1): 1-167. doi: 10.1002/14651858.CD009593.pub3.
- 13.- Mahomed S, Mlisana K, Cele L, Naidoo K. Discordant line probe genotypic testing vs culture-based drug susceptibility phenotypic testing in TB endemic KwaZulu-Natal: Impact on bedside clinical decision making. *J Clin Tuberc other Mycobact Dis* [Internet]. 2020;20: 100176. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jctube.2020.100176>.
- 14.- Yakus M A, Driscoll J, Lentz AJ, Sikes D, Hartline D, Metchock B, et al. Concordance between molecular and phenotypic testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates for resistance to rifampin and isoniazid in the United States. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2014; 52(6): 1932-7. Available from: <https://doi.org/10.1128/JCM.00417-14>.
- 15.- Solari L, Santos-Lazaro D, Puyen Z M. Mutations in *Mycobacterium tuberculosis* isolates with discordant results for drug-susceptibility testing in Peru. *Int J Microbiol* [Internet]. 2020; 2020: 8253546. Available from: <https://doi.org/10.1155/2020/8253546>.
- 16.- Sanchez-Padilla E, Merker M, Beckert P, Jochims F, Dlamini T, Kahn P, et al. Detection of drug-resistant tuberculosis by Xpert MTB/RIF in Swaziland. [Internet]. *New Engl J Med* 2015; 372: 1181-2. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMc1413930>.
- 17.- Yadav R N, Singh B K, Sharma S K, Sharma R, Soneja M, Sreenivas V, et al. Comparative evaluation of GenoType MTBDRplus line probe assay with solid culture method in early diagnosis of multidrug resistant tuberculosis (MDR-TB) at a tertiary care centre in India. *PLoS One* [Internet]. 2013; 8(9): e72036. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072036>.
- 18.- Ahmad S, Mokaddas E, Al-Mutairi N, Eldeen HS, Mohammadi S. Discordance across phenotypic and molecular methods for drug susceptibility testing of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in a low TB incidence country. *PLoS One* [Internet]. 2016; 11(4): e0153563. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153563>.
- 19.- Faksri K, Kaewprasert O, Ong RT-H, Suriyaphol P, Prammananan T, Teo Y-Y, et al. Comparisons of whole-genome sequencing and phenotypic drug susceptibility testing for *Mycobacterium tuberculosis* causing MDR-TB and XDR-TB in Thailand. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2019; 54(2): 109-16. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.04.004>.
- 20.- Feliciano C S, Namburete E I, Rodrigues Praça J, Peronni K, Dippenaar A, Warren R M, et al. Accuracy of whole genome sequencing versus phenotypic (MGIT) and commercial molecular tests for detection of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolated from patients in Brazil and Mozambique. *Tuberculosis* [Internet]. 2018 May; 110: 59-67. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2018.04.003>.
- 21.- Williamson D A, Basu I, Bower J, Freeman J T, Henderson G, Roberts S A. An evaluation of the Xpert MTB/RIF assay and detection of false-positive rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2012; 74(2): 207-9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.06.013>.
- 22.- Huo F, Ma Y, Liu R, Ma L, Li S, Jiang G, et al. Interpretation of discordant rifampicin susceptibility test results obtained using GeneXpert vs phenotypic drug susceptibility testing. *Open forum Infect Dis* [Internet]. 2020; 7(8): ofaa279-ofaa279. Available from: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa279>.
- 23.- Brandao A P, Pinhata J M W, Simonsen V, Oliveira R S, Ghisi K T, Rabello M C S, et al. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* presenting unusually high discordance between genotypic and phenotypic resistance to rifampicin in an endemic tuberculosis setting. *Tuberculosis* [Internet]. 2020; 125: 102004. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2020.102004>.
- 24.- World Health Organization. Technical Report on critical concentrations for drug susceptibility testing of isoniazid and the rifamycins (rifampicin, rifabutin and rifapentine) [Internet]. World Health Organization (WHO), editor. Geneva; 2021. 1-107 p. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240017283>.
- 25.- Torrea G, Ng KCS, Van Deun A, André E, Kaisergruber J, Ssengooba W, et al. Variable ability of rapid tests to detect *Mycobacterium tuberculosis* rpoB mutations conferring phenotypically occult rifampicin resistance. *Sci Rep* [Internet]. 2019; 9(1): 11826. Available

- from: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48401-z>
- 26.- Miotto P, Tessema B, Tagliani E, Chindelevitch L, Starks A M, Emerson C, et al. A standardised method for interpreting the association between mutations and phenotypic drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Eur Respir J. 2017; 50(6). doi: 10.1183/13993003.01354-2017.
- 27.- World Health Organization. Technical manual for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of tuberculosis [Internet]. Geneva PP - Geneva: World Health Organization; Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/275469>
- 28.- McIvor A, Koornhof H, Kana B D. Relapse, re-infection and mixed infections in tuberculosis disease. Pathog Dis [Internet]. 2017 Apr 1; 75(3): ftx020. Available from: <https://doi.org/10.1093/femspd/ftx020>.
- 29.- Andersson D I, Nicoloff H, Hjort K. Mechanisms and clinical relevance of bacterial heteroresistance. Nat Rev Microbiol. 2019 Aug; 17(8): 479-96. doi: 10.1038/s41579-019-0218-1.
- 30.- Yacoob FL, Philomina Jose B, Karunakaran Lelitha SD, Sreenivasan S. Primary multidrug resistant tuberculosis and utility of line probe assay for its detection in smear-positive sputum samples in a tertiary care hospital in South India. J Pathog. 2016; 2016: 6235618. doi: 10.1155/2016/6235618.
- 31.- Ye M, Yuan W, Molaeipour L, Azizian K, Ahmadi A, Kouhsari E. Antibiotic heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates: a systematic review and meta-analysis. Ann Clin Microbiol Antimicrob [Internet]. 2021; 20(1): 73. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00478-z>.
- 32.- Brossier F, Veziris N, Truffot-Pernot C, Jarlier V, Sougakoff W. Performance of the genotype MTBDR line probe assay for detection of resistance to rifampin and isoniazid in strains of *Mycobacterium tuberculosis* with low- and high-level resistance. J Clin Microbiol. 2006; 44(10): 3659-64. doi: 10.1128/JCM.01054-06.
- 33.- Malenfant J H, Brewer T F. Rifampicin mono-resistant tuberculosis-A review of an uncommon but growing challenge for global tuberculosis control. Open Forum Infect Dis [Internet]. 2021; 8(2): ofab018. Available from: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofab018>.
- 34.- Unissa A N, Subbian S, Hanna L E, Selvakumar N. Overview on mechanisms of isoniazid action and resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Infect Genet Evol [Internet]. 2016; 45: 474-92. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567134816303872>.
- 35.- Machado D, Couto I, Perdigão J, Rodrigues L, Portugal I, Baptista P, et al. Contribution of efflux to the emergence of isoniazid and multidrug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. PLoS One. 2012; 7(4): e34538. doi: 10.1371/journal.pone.0034538.
- 36.- Rodrigues L, Machado D, Couto I, Amaral L, Viveiros M. Contribution of efflux activity to isoniazid resistance in the *Mycobacterium tuberculosis* complex. Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis. 2012; 12(4): 695-700. doi: 10.1016/j.meegid.2011.08.009.
- 37.- Wu M-H, Hsiao H-C, Chu P-W, Chan H-H, Lo H-Y, Jou R. Surveillance of multidrug-resistant tuberculosis in Taiwan, 2008–2019. J Microbiol Immunol Infect [Internet]. 2022; Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1684118222001165>.
- 38.- Lu Z, Jiang W, Zhang J, Lynn H S, Chen Y, Zhang S, et al. Drug resistance and epidemiology characteristics of multidrug-resistant tuberculosis patients in 17 provinces of China. PLoS One [Internet]. 2019 Nov 21; 14(11): e0225361. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225361>.