



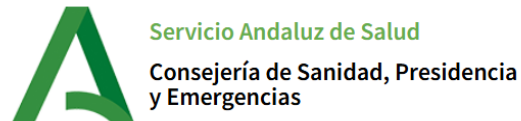
18.03.26

IX Jornada de Tuberculosis en Sevilla

Técnicas moleculares y secuenciación parcial.

Dra. Verónica González Galán.

Servicio de Microbiología y parasitología clínica.
UCEIM. Hospital Universitario Virgen de Valme.
AGSSS. Sevilla



Servicio Andaluz de Salud
Consejería de Sanidad, Presidencia
y Emergencias

Área de Gestión Sanitaria
Sur de Sevilla



Área de Gestión Sanitaria
Sur de Sevilla
Hospital Universitario de Valme

CONFLICTO DE INTERESES: no

Objetivos:

Conocer los nuevos métodos de diagnóstico de la enfermedad producida *por Mycobacterium tuberculosis* basados en **técnicas de biología molecular-secuenciación** y su **implementación en la rutina** de los Servicios de Microbiología.

Técnicas moleculares y secuenciación parcial.

0. Conceptos básicos.
1. TB. Novedades en el Dx molecular y uso de la secuenciación WHO.

¿Por qué seguimos hablando de TB? Primavera de 2026...OMS.

Barcelona - 04 NOV 2025 - 18:45 CET

EL PAÍS

Cataluña

2 AÑOS, 26/MES

TUBERCULOSIS >

La Agencia de Salud Pública de Barcelona investiga un posible brote de tuberculosis entre trabajadores de las obras del Camp Nou

Hay al menos una persona diagnosticada con la enfermedad infecciosa y otras tres en investigación a la espera de resultados

Málaga 12 AGO 2025 13:23

TUBERCULOSIS >

El Hospital Regional de Málaga confirma cinco positivos por tuberculosis entre sus profesionales

Hasta 45 sanitarios han sido sometidos a pruebas tras estar en contacto estrecho con un enfermo, algo que los sindicatos achacan a la escasez de personal

LARAZON

ATU SALUD

Qué está pasando con la tuberculosis en España: las claves del aumento de casos

Alerta sanitaria por un brote de tuberculosis en un instituto español: estos son sus síntomas

- Aproximadamente un tercio de la población mundial está infectada por el bacilo de la tuberculosis.
- Solo una pequeña proporción de los infectados enfermará de tuberculosis.
- Las personas con sistemas inmunitarios debilitados corren un riesgo mucho mayor de enfermar de tuberculosis. Las personas afectadas por el VIH tienen aproximadamente entre 26 y 31 veces más probabilidades de desarrollar una tuberculosis activa.
- Una de las metas de los Objetivos de Desarrollo Sostenible para 2030 consiste en acabar con la epidemia mundial de tuberculosis. La estrategia de la OMS *Fin a la tuberculosis*, aprobada por la Asamblea Mundial de la Salud en 2014, plantea reducir las muertes por tuberculosis en un 90% y la incidencia de la enfermedad en un 80% para 2030, en comparación con las cifras de 2015.
- Nuevos datos de la OMS revelan que la carga mundial de tuberculosis es mayor de lo que se creía. Los países tienen que avanzar mucho más rápidamente para prevenir, detectar y tratar la TB si se quieren alcanzar las metas de la estrategia "Fin a la tuberculosis" en los próximos 15 años.

The New York Times

SALUD GLOBAL

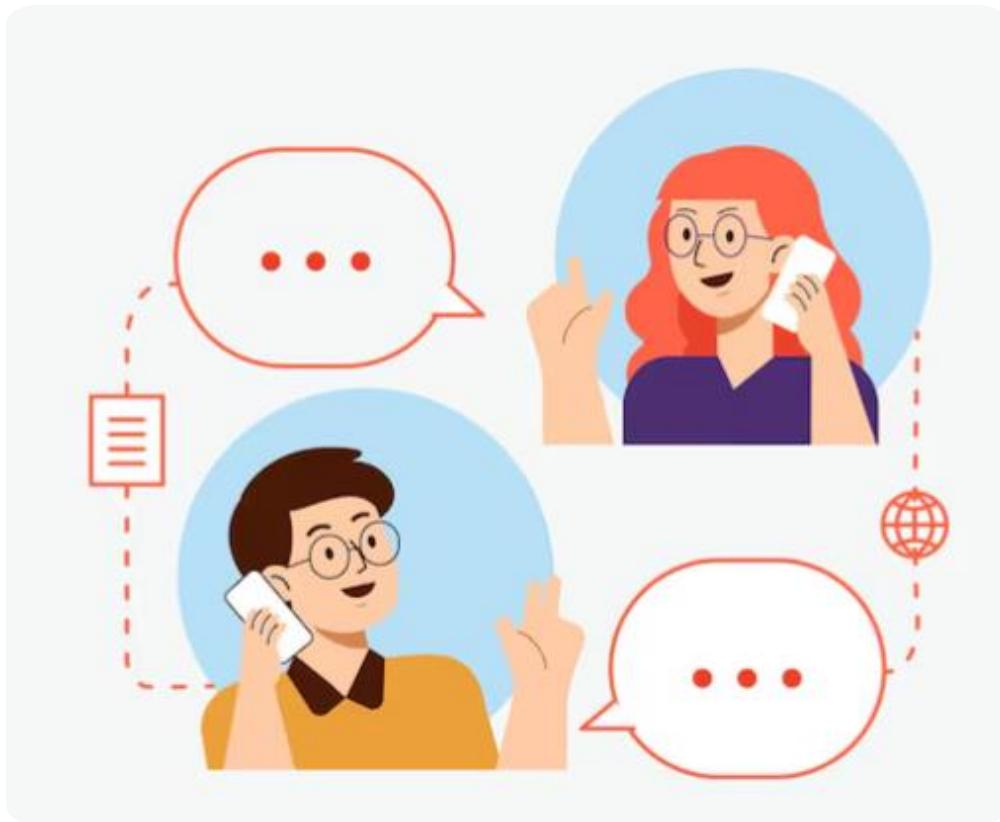
Se está propagando 'el monstruo más grande de todos'. Y no es el coronavirus

La tuberculosis mata a 1,5 millones de personas cada año. Los confinamientos y las interrupciones de la cadena de suministro de medicamentos amenazan el progreso en la batalla contra esta enfermedad, el VIH y el paludismo.

- Todos los diagnósticos moleculares actualmente recomendados para el diagnóstico inicial de la tuberculosis tienen una prueba de SARS-CoV-2 disponible en la misma plataforma que la prueba de tuberculosis, aunque es posible que algunos no hayan recibido la aprobación regulatoria para tal uso.
- Varias plataformas se utilizan ampliamente en el diagnóstico y el manejo de PVVIH, mientras que otras se utilizan para la detección de la resistencia a los antimicrobianos de patógenos bacterianos. Las plataformas NGS se pueden utilizar para secuenciar cualquier ácido nucleico presente en una muestra.
- La respuesta a la pandemia de COVID-19 llevó a que se estableciera capacidad de NGS en muchos países, incluidos los de ingresos bajos y medios, para la vigilancia. Esa capacidad y experiencia pueden estar disponibles y podrían utilizarse para facilitar la rápida adopción de DST basadas en NGS dirigidas para la tuberculosis.
- La decisión de elegir una prueba y una marca en particular también tendría que considerar los instrumentos disponibles en un entorno particular y la capacidad de agregar pruebas de tuberculosis.
- Si se planea realizar pruebas de múltiples enfermedades en un instrumento, entonces sería mejor emplear plataformas que utilicen enfoques de acceso aleatorio (por ejemplo, GeneXpert) o permitan realizar diferentes tipos de pruebas en el mismo lote (por ejemplo, cobas, BD MAX o NGS dirigida).

Implementación de una nueva prueba diagnóstica. Consideraciones epidemiológicas.

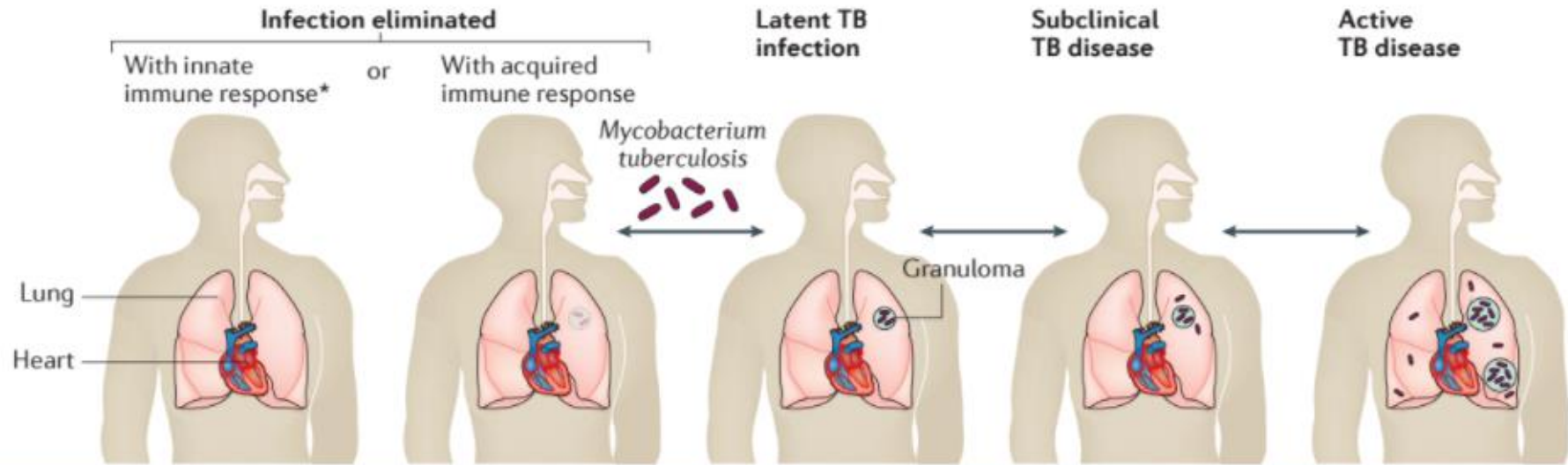
- los factores de riesgo de la población a la que se va a atender.
- Casos de tuberculosis resistentes a RIF, INH y FQ.
- Personas que viven con el VIH.
- Tuberculosis extrapulmonar.
- Tuberculosis entre niños.
- Personas con enfermedad grave que requiere un diagnóstico rápido.
- Personas que están hospitalizadas en comparación con aquellas que son ambulatorias.
- Entender la proporción resistente a un medicamento recién introducido (por ejemplo, BDQ) es particularmente importante durante las etapas iniciales del uso del medicamento, cuando la capacidad de tratamiento puede expandirse más rápidamente que la capacidad del antibiograma fenotípico.



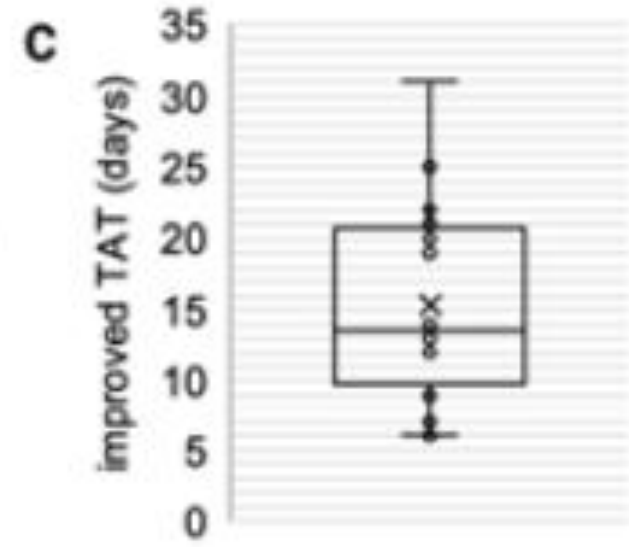
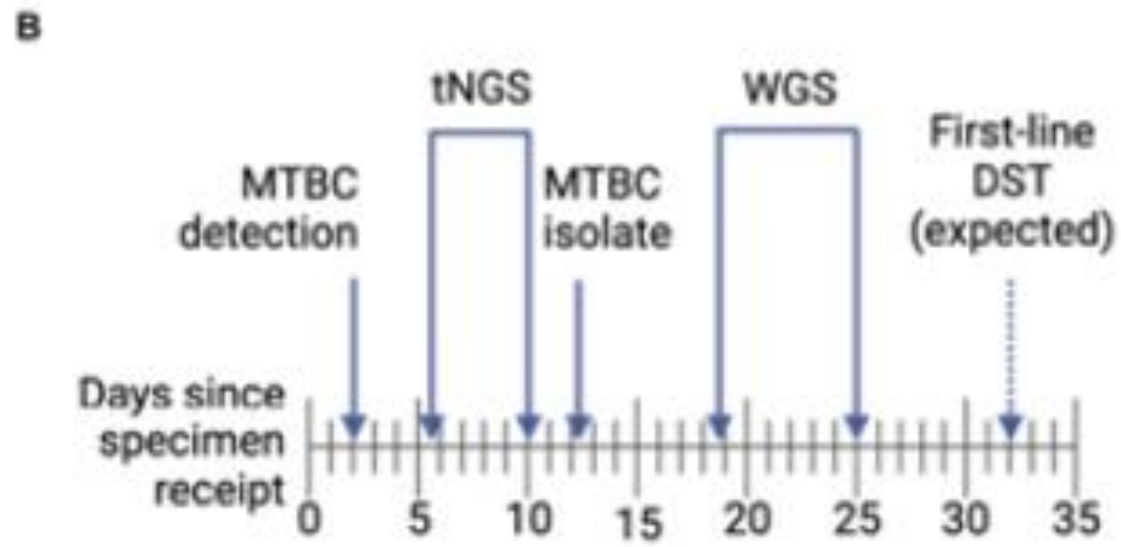
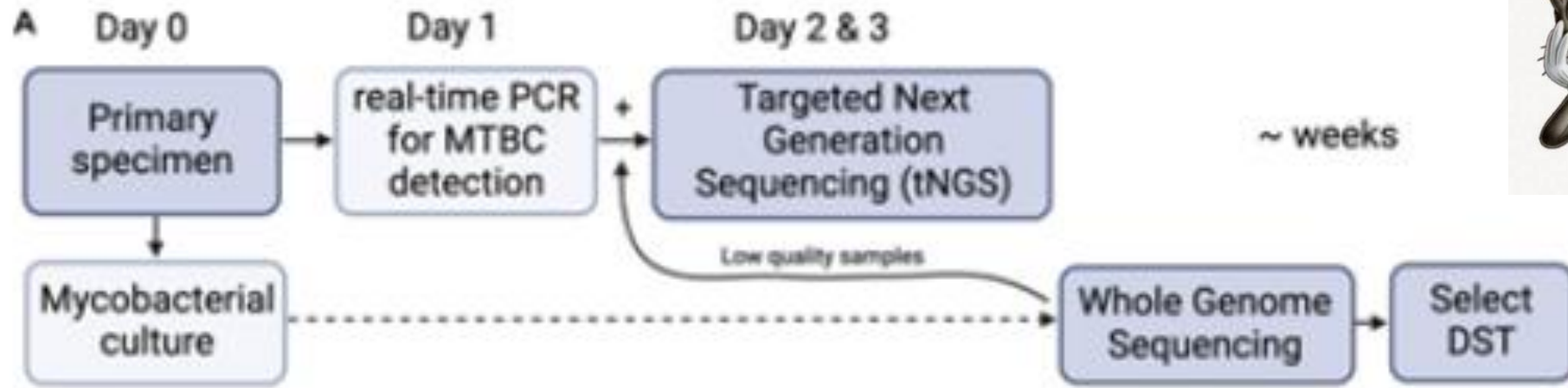
- COMUNICACIÓN MICROBIOLOGO>>E.INFECCIOSAS,NEUMOLOGO,
- PEDIATRA, MEDICINA PREVENTIVA, EPIDEMIOLOGIA,CONSEJERIA...
- Muchas de las plataformas de prueba más recientes ofrecen la oportunidad de utilizar datos digitales. El plan de implementación debe considerar los requisitos de software y hardware para aprovechar los datos digitales.
- La "conectividad de diagnóstico" se refiere a la capacidad de conectar dispositivos de prueba de diagnóstico que producen resultados en formato digital, de tal manera que se transmitan datos de manera confiable a una variedad de usuarios.

¿Qué tengo delante? ¿Qué pruebas debo pedir?

The spectrum of TB — from *Mycobacterium tuberculosis* infection to active (pulmonary) TB disease. Nat Rev Dis Primers. 2016 Oct 27;2:16076



	Infection eliminated With innate immune response*	Infection eliminated With acquired immune response	Latent TB infection	Subclinical TB disease	Active TB disease
TST	Negative	Positive	Positive	Positive	Usually positive
IGRA	Negative	Positive	Positive	Positive	Usually positive
Culture	Negative	Negative	Negative	Intermittently positive	Positive
Sputum smear	Negative	Negative	Negative	Usually negative	Positive or negative
Infectious	No	No	No	Sporadically	Yes
Symptoms	None	None	None	Mild or none	Mild to severe
Preferred treatment	None	None	Preventive therapy	Multidrug therapy	Multidrug therapy



Antibiograma.

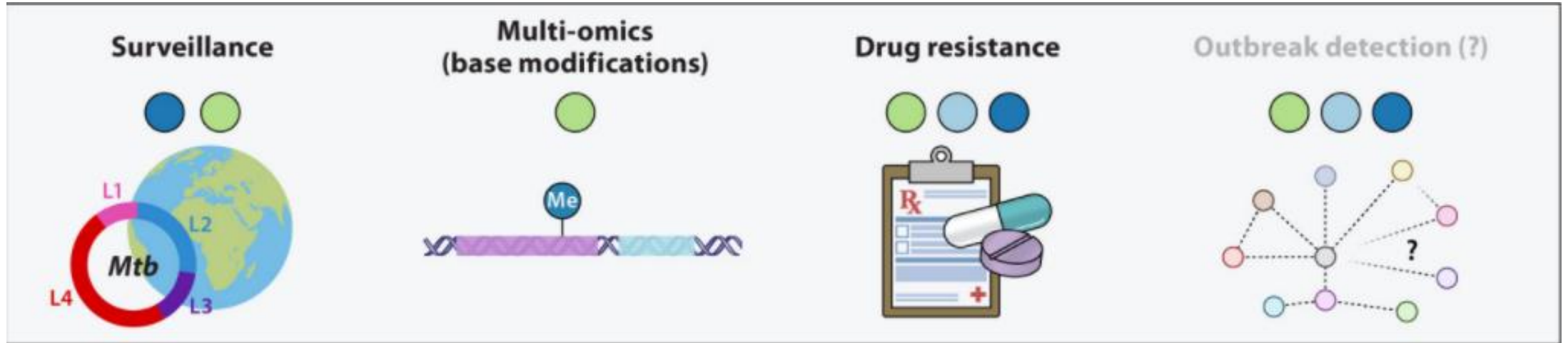
- La DST fenotípica sigue siendo el estándar de referencia para la mayoría de los compuestos antituberculosos; sin embargo, este método es lento y requiere infraestructura especializada y personal altamente capacitado.
- La DST genotípica (también conocida como DST molecular) promete superar algunos de estos obstáculos.
- Sistema MGIT (BD™) limitaciones 2026
- Pirazinamida...hacemos otro antibiograma?



Detección de resistencias

- La OMS recomienda el uso de pruebas de secuenciación de nueva generación dirigidas como pruebas de seguimiento para detectar la resistencia a los medicamentos en las siguientes situaciones:
- En personas con tuberculosis pulmonar confirmada bacteriológicamente, se pueden utilizar pruebas de secuenciación de nueva generación dirigidas en muestras respiratorias para diagnosticar la resistencia a RIF, INH, FQ, PZA y EMB en lugar de la prueba de sensibilidad a medicamentos fenotípica.
- En personas con tuberculosis pulmonar resistente a RIF confirmada bacteriológicamente, se pueden utilizar pruebas de secuenciación de nueva generación dirigidas en muestras respiratorias para diagnosticar la resistencia a INH, FQ, BDQ, LZD, CFZ, PZA, EMB, AMK y STR en lugar de la prueba de sensibilidad a medicamentos fenotípica.

Secuenciación.



• **Las principales aplicaciones** de WGS en TB se centran en el control de la enfermedad al mejorar:

- la rápida detección de grupos de transmisión
- la vigilancia epidemiológica de distintas cepas a través de las fronteras un país.
- el diagnóstico de cepas de MTBC e identificación de linaje.
- **la predicción de sensibilidad a fármacos**

Resistotipo

Predicción de sensibilidad a fármacos.



Se basa en la presencia o ausencia de mutaciones específicas relacionadas resistencias a lo largo del genoma de *M.tuberculosis*, por lo que es necesario tener catálogos de mutaciones de alta calidad que ayuden a predecir resistencias con alta confianza.

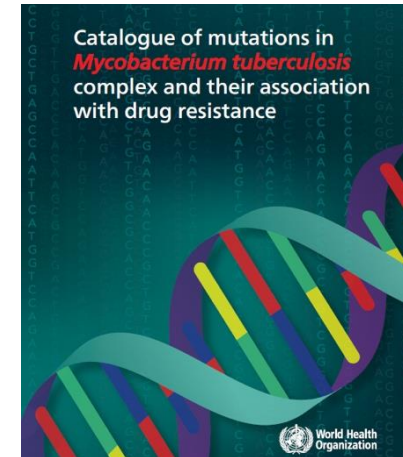
El informe resume el análisis de más de 52 000 aislamientos con datos coincidentes sobre la secuenciación del genoma completo y la prueba de sensibilidad fenotípica de 67 países para 13 medicamentos antituberculosos.

El catálogo proporciona información sobre más de 30 000 mutaciones, junto con sus frecuencias dentro del conjunto de datos.

Las mutaciones se clasifican en grupos:

- asociadas con la resistencia
- no asociadas con la resistencia
- de significado incierto (un número significativo de mutaciones se encuentran en esta categoría).

Además, el catálogo proporciona detalles sobre los métodos empleados y los hallazgos importantes relacionados con cada fármaco. En el futuro, se prevén actualizaciones periódicas del catálogo.



Geographical distribution of data

Forty-one countries contributed data on five or more MTBC isolates, 32 countries on ≥ 50 and 17 on ≥ 500 . Only one (United Kingdom) contributed ≥ 5000 isolates (Fig. 1).

Fig. 1. Global distribution of sources of data on MTBC isolates used in this catalogue of genotype-phenotype associations



The designations employed and the presentation of the material in this publication do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted and dashed lines on maps represent approximate borderlines for which there may not yet be full agreement.

- La OMS ha desarrollado un perfil de producto objetivo (TPP) para orientar la investigación y el desarrollo con el fin de abordar esta necesidad.
- La secuenciación de ADN mediante tecnologías de secuenciación de nueva generación es un método prometedor para la detección rápida de mutaciones asociadas con la resistencia a los medicamentos para muchos medicamentos antituberculosos.
- La prueba de sensibilidad basada en secuenciación de nueva generación podría reducir la necesidad de pruebas de sensibilidad fenotípicas para las decisiones de atención al paciente, y puede ser particularmente útil para medicamentos para los que la prueba de sensibilidad fenotípica no es confiable o en entornos que no tienen la capacidad de realizar pruebas de sensibilidad fenotípicas.

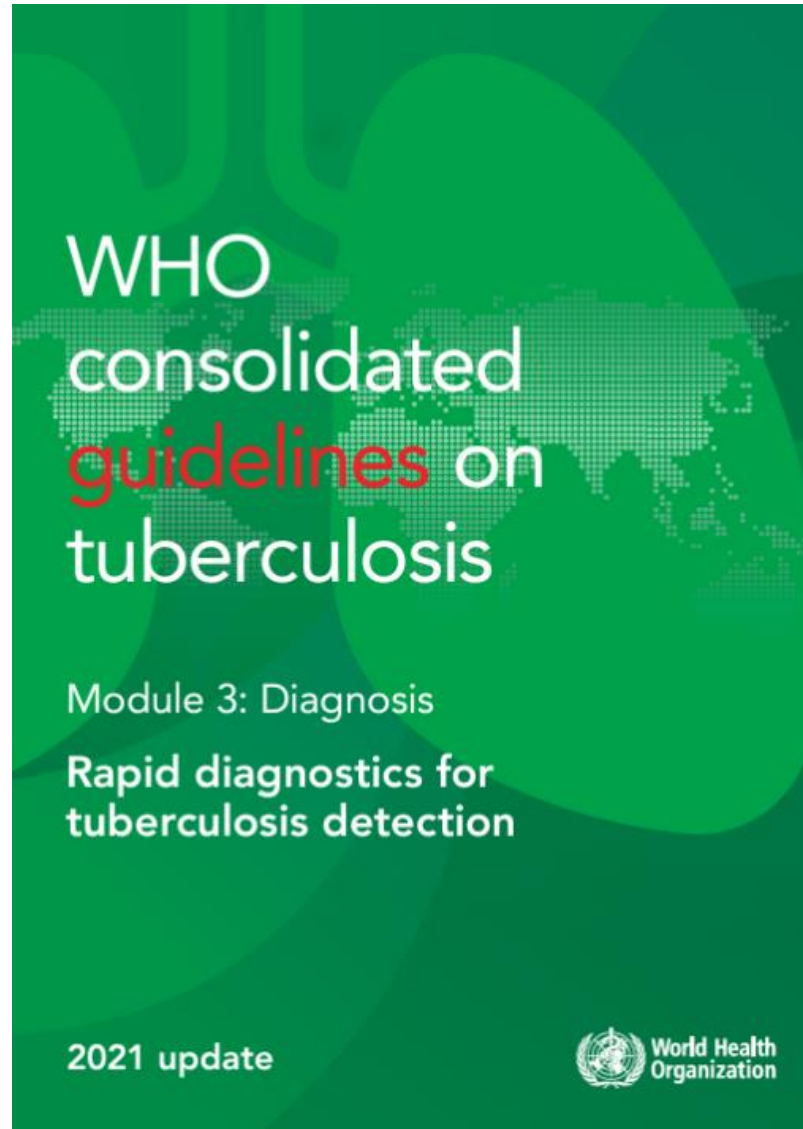


Table 2.1. Classes of technologies and associated products included in current guidelines

Technology class	Products included in the evaluation
	Xpert® MTB/RIF and Xpert® MTB/RIF Ultra (Cepheid) ^a
	Truenat™ (Molbio) ^a
Moderate complexity automated NAATs for detection of TB and resistance to rifampicin and isoniazid	Abbott RealTime MTB and Abbott RealTime MTB RIF/INH (Abbott) BD MAX™ MDR-TB (Becton Dickinson) cobas® MTB and cobas MTB-RIF/INH (Roche) FluoroType® MTBDR and FluoroType® MTB (Hain Lifescience/Bruker)
	TB-LAMP (Eiken) ^a
Antigen detection in a lateral flow format (biomarker-based detection)	Alere Determine™ TB LAM Ag (Alere)
Low complexity automated NAATs for the detection of resistance to isoniazid and second-line anti-TB agents	Xpert® MTB/XDR (Cepheid)
LPAs	GenoType® MTBDRplus v1 and v2, and GenoType® MTBDRsl (Hain Lifescience/Bruker) Genoscholar™ NTM+MDRTB II and Genoscholar™ PZA-TB II (Nipro)
Targeted NGS	Deeplex® Myc-TB test (Genoscreen) AmPORE TB test (Oxford Nanopore Diagnostics) TBseq® test (Hangzhou ShengTing Medical Technology Co)

LPA: line probe assay; NAAT: nucleic acid amplification test; NGS: next-generation sequencing; TB: tuberculosis.

^a These recommendations are currently product specific but will be changed to class-based to align with the other recommendations.

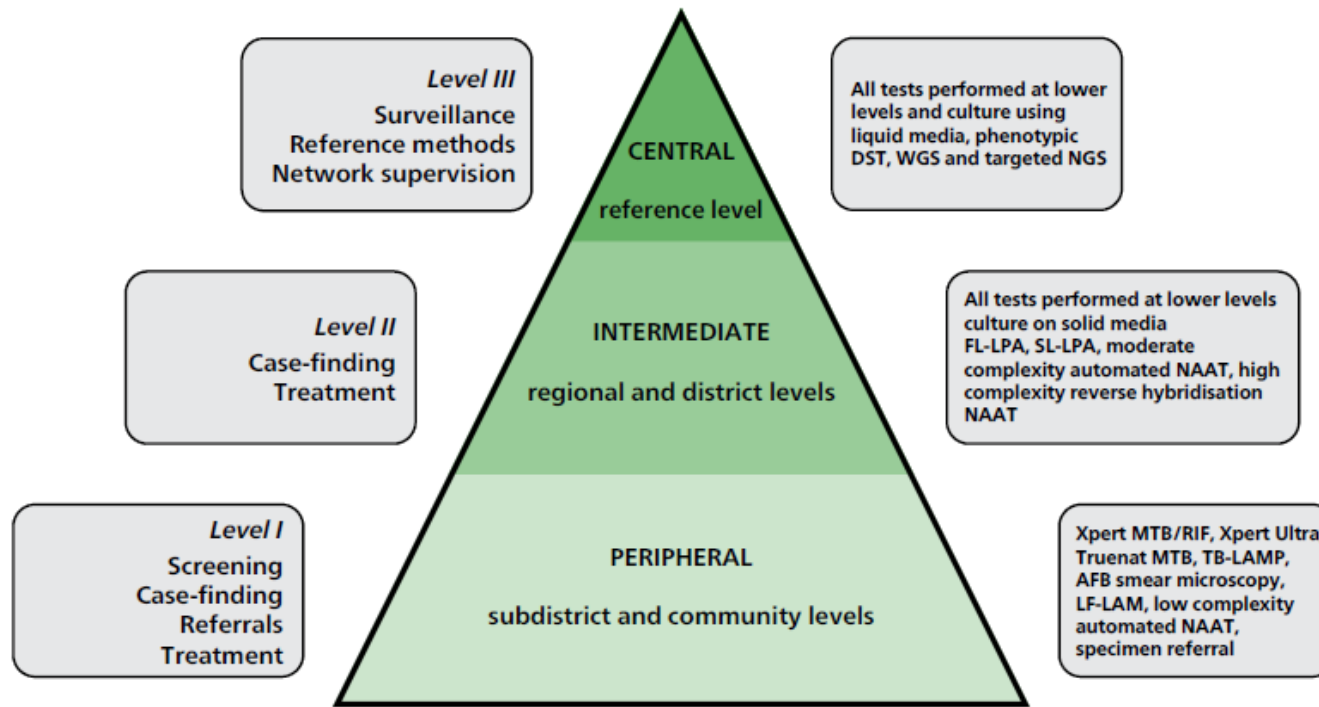


Table 4.3.2 Treatment modifications and follow-on DST for Hr-TB based on results from targeted NGS

Drug	Targeted NGS result	Is DST to specific drug required?	Action: treatment modification
RIF	Resistant	No	Change to MDR/RR-TB regimen, taking into account any resistances detected to other medicines. See Algorithm 3a
	Susceptible	No	Continue with the first-line regimen, including RIF if no other resistance is detected, otherwise use an individualized regimen
INH	Resistant	No	Change to an Hr-TB regimen if no other resistance is detected If resistant to FQs or PZA is detected, change to an individualized treatment
	Susceptible	Yes	Continue with the first-line regimen if no other resistance is detected; otherwise, individualize the regimen
EMB	Resistant	No	If resistance is detected during the continuation phase, continue RH If resistance is detected during the intensive phase, clinically assess (considering other results) and closely monitor
	Susceptible	No	Continue with the first-line regimen if no other resistance is detected; otherwise, individualize the regimen
PZA	Resistant	No	If resistance is detected during the continuation phase, continue RH If resistance is detected during the intensive phase, clinically assess (considering other results) and closely monitor
	Susceptible	No	Continue with the first-line regimen if no other resistance is detected; otherwise, individualize the regimen
FQ	Resistant	No	If the person is on an FQ-containing 4-month regimen (e.g. HPMZ), change to HRZE if no other resistance is detected; otherwise, individualize the regimen If the person is on an Hr-TB regimen, discontinue the FQ and individualize treatment based on clinical assessment
	Susceptible	No	FQs should be used only when appropriate (4-month first-line regimen or Hr-TB regimen)

DST: drug susceptibility testing; EMB: ethambutol; FQ: fluoroquinolone; HPMZ: isoniazid (H), rifampentine (P), moxifloxacin (M) and pyrazinamide (Z); Hr-TB: isoniazid-resistant, rifampicin-susceptible TB; HRZE: isoniazid (H), rifampicin (R), pyrazinamide (Z) and ethambutol (E); INH: isoniazid; MDR/RR-TB: multidrug- or rifampicin-resistant TB; NGS: next-generation sequencing; PZA: pyrazinamide; RH: rifampicin (R) and isoniazid (H); RIF: rifampicin; TB: tuberculosis.

Fig. 3.1. Organization of a TB diagnostic network



AFB: acid-fast bacilli; DST: drug susceptibility testing; FL: first-line; LAMP: loop-mediated isothermal amplification; LF-LAM: lateral flow lipoarabinomannan assay; LPA: line probe assay; NAAT: nucleic acid amplification test; SL: second-line; TB: tuberculosis.

La decisión sobre dónde colocar una prueba específica es importante y puede conducir al éxito o al fracaso en la consecución de los resultados deseados.

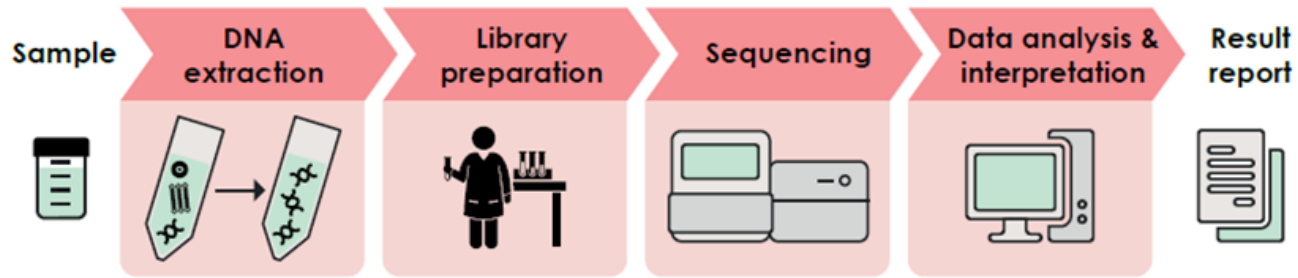
Esta estructura tiene:

- ✓ la mayor cantidad de laboratorios en el nivel periférico (Nivel I);
- ✓ una cantidad moderada de laboratorios intermedios (Nivel II), generalmente ubicados en centros de población y centros de salud de tamaño mediano; y
- ✓ un solo laboratorio central (o más de uno en los países grandes) (Nivel III) a nivel provincial, estatal o nacional.

Targeted Sequencing

- La secuenciación o resecuenciación dirigida consiste en **aislar y secuenciar un subconjunto de genes o regiones del genoma.**
- Los enfoques dirigidos que utilizan la secuenciación de nueva generación (NGS) permiten **concentrar el tiempo, los recursos y el análisis de datos en áreas específicas de interés.**
- Este análisis dirigido puede incluir el **exoma** (la porción del genoma que codifica proteínas), **genes específicos** de interés (contenido personalizado), **dianas** dentro de los genes o el ADN mitocondrial.

Fig. 2.2. Process of testing, from sample to result report, for targeted NGS



DNA: deoxyribonucleic acid; NGS: next-generation sequencing.

Se centra en regiones de interés, generando un conjunto de datos más pequeño y manejable.

Ahorrando recursos y generando un conjunto de datos más pequeño y manejable

MiSeq System, iSeq 100 System, NextSeq 550 System, MiSeqDx in Research Mode, MiniSeq System, NextSeq 550Dx in Research Mode, NextSeq 500 System, MiSeq i100 System, MiSeq i100 Plus System

- Reduce los costes de secuenciación y la carga del análisis de datos.
- Los enfoques dirigidos también pueden ofrecer niveles de cobertura mucho mayores, lo que permite la respuesta al clínico menos costosas que la secuenciación del genoma completo o la secuenciación Sanger.

¿Sabes cuántos seq hay en tu centro?

Pruebas de secuenciación de nueva generación dirigidas se definen como pruebas que utilizan secuenciación masiva paralela para detectar la resistencia a los medicamentos contra la tuberculosis, comenzando con una muestra clínica procesada y terminando con un informe del usuario final que relaciona las mutaciones de *M. tuberculosis* detectadas con la presencia (o ausencia) de resistencia a los medicamentos, basándose en la interpretación de un catálogo estándar de mutaciones.

Los productos pioneros en su clase incluyen Deeplex® Myc-TB (GenoScreen) para RIF, INH, PZA, EMB, FQ, BDQ, LZD, CFZ, AMK y STR;

AmPORE TB (Oxford Nanopore Technologies) para RIF, INH, FQ, LZD, AMK y STR;

TBseq® (ShengTing Biotech) para EMB.



Deeplex Myc-TB, desarrollado por GenoScreen, es un kit de diagnóstico innovador e integrado **sin cultivo**, que proporciona resultados moleculares sobre la resistencia o sensibilidad a 15 fármacos antituberculosos en menos de 48 horas.

INH, PZA, EMB, FQ, BDQ, LZD, CFZ, AMK y STR

El ensayo se basa en la secuenciación profunda dirigida y el análisis automatizado de datos a través de la aplicación web segura Deeplex Myc-TB.

Deeplex Myc-TB puede detectar la **heterorresistencia** de la tuberculosis hasta un 1-3%, y también identifica (sub)linajes y espoligotipos del complejo *M. tuberculosis*, así como más de 100 especies de **micobacterias no tuberculosas (MNT)**.



<https://euc1.platform.illumina.com/Deeplex>

El kit Deeplex® Myc-TB incluye:

Master Mix Deeplex®: mezcla para la preparación de 24 reacciones de PCR, sin necesidad de cultivo, para la amplificación de 18 genes diana asociados a la resistencia a fármacos de *M. tuberculosis* (MTBC), combinados con dianas para la identificación de especies micobacterianas y el genotipado de cepas MTBC.

Un control interno para el control de calidad de la muestra.

Un control positivo para la validación de la prueba.

Un código de activación para acceder a la aplicación web Deeplex® Myc-TB.

MiSeq System, iSeq 100 System, NextSeq 550 System, MiSeqDx in Research Mode, MiniSeq System, NextSeq 550Dx in Research Mode, NextSeq 500 System, MiSeq i100 System, MiSeq i100 Plus System

Illumina and GenoScreen Deeplex® Myc-TB Combo Kit

A targeted NGS-based assay for sequencing mycobacterium, *M. tuberculosis* complex (MTBC) strains, and antimicrobial resistance markers.



< 48 hr f...

Assay time



9 pg DNA

Input quantity

**Todo nuevo sistema
necesita dotación de personal
Técnico y recursos**

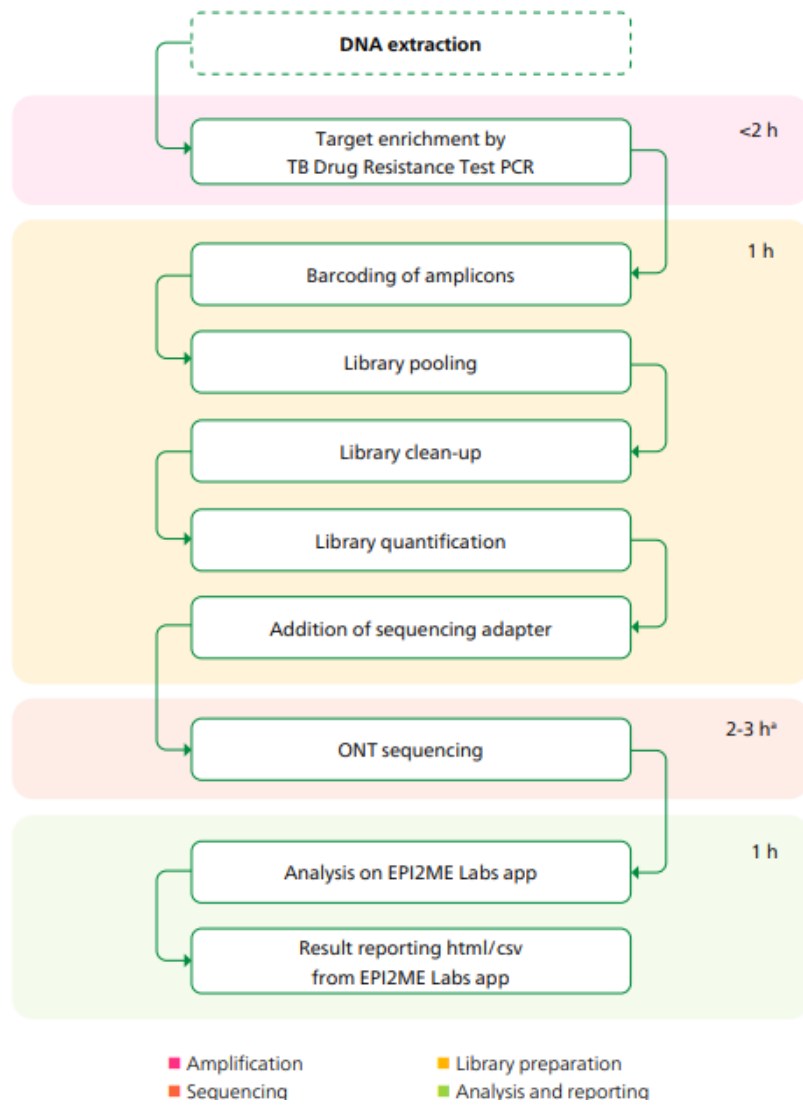
AmPORE TB (Oxford Nanopore Technologies)



- Este método de **secuenciación dirigida y sin cultivo** consistió en una PCR multiplex diseñada para amplificar 13 regiones objetivo en nueve genes de resistencia.

Table 1. AmPORE TB Drug Resistance Test mycobacterial targets

Gene region	Target	Gene region	Target
<i>hsp65</i>	NTM identification	<i>eis, rrs</i>	Kanamycin
CRISPR/DR	Genotyping	<i>tlyA, rrs</i>	Capreomycin
<i>rpoB</i>	Rifampicin	<i>gidB, rrs, rpsL</i>	Streptomycin
<i>fabG1, katG, inhA</i>	Isoniazid	<i>ethA, inhA, fabG1</i>	Ethionamide
<i>pncA</i>	Pyrazinamide	<i>rv0678</i>	Bedaquiline, clofazimine
<i>embA, embB</i>	Ethambutol	<i>atpE</i>	Bedaquiline
<i>gyrA, gyrB</i>	Fluoroquinolones	<i>rrl, rplC</i>	Linezolid
<i>rrs, eis</i>	Amikacin	<i>ddn, fgd1, fbiA, fbiB, fbiC</i>	Delamanid



- Herramienta de **predicción de linaje** basada en SNP a partir de los genes diana del ensayo.
- Además, el ensayo cumplió con uno de los criterios más importantes para su desarrollo: en promedio, el ensayo dirigido demostró una **reducción de 15 días en los tiempos de respuesta en comparación con la secuenciación del genoma completo**, con una muestra XDR clasificada en cinco días, en comparación con las tres semanas adicionales para obtener los resultados de la secuenciación del genoma completo basados en cultivos de la misma muestra.

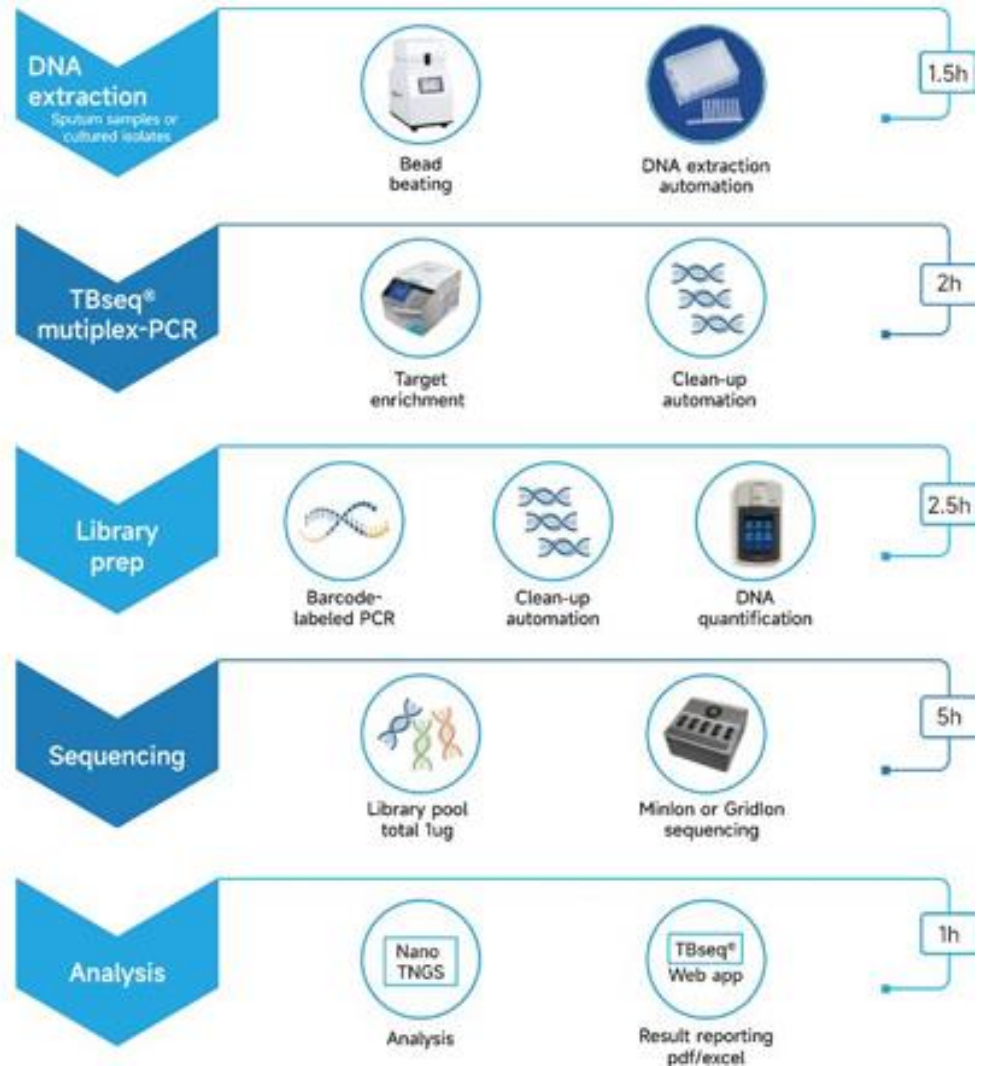
Mycobacterium Nucleic Acid And *M. tuberculosis* Drug Resistance Gene Detection Kits (Nanopore Sequencing)

- ShengTing Medical Technology Co. cuenta con un kit (TBseq®) basado en secuenciación de nueva generación (NGS) dirigida para la identificación simultánea de especies de micobacterias y la predicción de la resistencia a fármacos de cepas del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, directamente aplicable a muestras clínicas como esputo, líquido de lavado broncoalveolar, derrame pleural o CEPAS.
- La identificación de especies de micobacterias se realiza mediante la selección de las regiones 16s y hsp65.
- El ensayo se realiza utilizando el kit de secuenciación génica universal (ShengTing) para generar bibliotecas que se secuencian en una plataforma Minlon y/o Gridlon (Oxford Nanopore Technologies).
- La solución incluye un software de análisis automatizado [Nano TNGS] para el procesamiento de datos de secuenciación y una aplicación web segura (TBseq® Web App)

Table 2 - TBseq mycobacterial targets

Gene region	Target	Gene region	Target
<i>16s, hsp65</i>	Species ID	<i>gyrA, gyrB</i>	Fluoroquinolones
		<i>rrs</i>	Amikacin
		<i>eis, rrs</i>	Kanamycin
		<i>tlyA*, rrs</i>	Capreomycin
<i>rpoB</i>	Rifampicin	<i>folC, thyA*</i>	para-aminosalicylic acid
<i>ahpC, katG, inhA</i>	Isoniazid	<i>ethA*, ahpC, inhA</i>	Ethionamide/prothionamide
<i>pncA*</i>	Pyrazinamide	<i>rv0678*, atpE*</i>	Bedaquiline, clofazimine
<i>embB, embA</i>	Ethambutol	<i>rplC*</i>	Linezolid
<i>rrs, rpsL*, gibB*</i>	Streptomycin	<i>alr*</i>	Cycloserine

(* full genes).



Drug	Initial diagnostic test	Phenotypic DST	Reference Method	Comment
Ethambutol	No rapid method currently exists for the detection of resistance	DST not reliable and reproducible	N/A	Both gDST and pDST are not reliable. Ethambutol, if used, cannot be counted as an effective drug in an MDR/RR-TB treatment regimen
Delamanid	No rapid method currently exists for the detection of resistance	CCs established for testing in 7H11 and MGIT media.	MGIT	Ideally, perform pDST at the time of treatment initiation. If baseline DST is not performed, perform DST with the first strain isolated from patients during treatment monitoring. ^a
Pyrazinamide	tNGS or LPAs	DST method standardised in the MGIT. False resistant results can be detected if DST inoculum not properly prepared	DNA sequencing of the <i>pncA</i> gene	In a quality assured laboratory, a susceptible DST result for PZA can be used to guide the inclusion of PZA in a DR-TB treatment regimen. Do not include PZA if resistance is detected or if used do not count as an effective agent
Amikacin (or Streptomycin)	Low complexity automated NAATs tNGS (for Amikacin and Streptomycin) -LPAs ^b (for Amikacin)	CCs established for testing in LJ, Middlebrook and MGIT media.	MGIT	Injectable agents are no longer part of the routine DR-TB regimen. However, testing should be completed if planned to be included in the DR-TB regimen A strain with no mutations in the <i>rrs</i> and <i>eis</i> genes detected by genotypic assays may still be resistant to AMK. Confirm with pDST. If streptomycin is used, perform pDST at the time of treatment initiation if possible.
Imipenem-cilastin Meropenem	No rapid method currently exists for the detection of resistance	CCs have not been established for any DST media	N/A	DST is not recommended as both imipenem and meropenem are highly unstable in liquid media

ETAMBUTOL. Nada...
 CARBAPENEMS: nada...
 PAS: nada
 PRETOMANID. Antibiograma
 Ethionamida: *NO RAPID, SEQ inhA, ethA, ethB.*

C second-line anti-TB drugs

Drug	Initial diagnostic test	Phenotypic DST	Reference Method	Comment
C second-line anti-TB drugs	Ethionamide Prothionamide	DST not reliable and reproducible	DNA sequencing of the <i>inhA</i> promoter region and <i>ethA</i> and <i>ethR</i> genes.	Do not include thioamides if resistance associated mutations are detected
	Para-aminosalicylic acid	No rapid method currently exists for the detection of resistance	CCs have not been established for any DST media	N/A DST is not recommended
Other	<i>Pretomanid</i>	No rapid method currently exists for the detection of resistance	CCs have been established for MGIT media only	MGIT Ideally, perform pDST at the time of treatment initiation. If baseline DST is not performed, perform DST with the first strain isolated from patients sample during treatment monitoring. ^a

Reflexiones.

Actualmente, las pruebas rápidas de sensibilidad a medicamentos moleculares recomendadas por la OMS se pueden utilizar para detectar mutaciones específicas que se sabe que confieren resistencia fenotípica.

Aunque la DST genotípica ha avanzado en la última década, el espectro de medicamentos cubiertos es limitado y no cubre el medicamento nuevo y reutilizado.

Sin embargo, las pruebas moleculares rápidas para la resistencia a RIF, INH y FQ son factibles de implementar en entornos descentralizados; estas pruebas pueden brindar resultados rápidos para informar la selección del régimen de tratamiento inicial mientras se espera la DST de seguimiento para otros medicamentos antituberculosos.

Por lo tanto, se necesitan tecnologías nuevas y rápidas de próxima generación para cubrir todos los medicamentos prioritarios y ser accesibles a nivel periférico, para acelerar la terapia apropiada y mejorar los resultados de los pacientes.

Bibliografía

- European Centre for Disease Prevention and Control, WHO Regional Office for Europe. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2024 – 2022 data. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe and Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2024. Licence: CC BY 3.0 IGO:
- Beviere M, Reissier S, Penven M, Dejoies L, Guerin F, Cattoir V, Piau C. The Role of Next-Generation Sequencing (NGS) in the Management of Tuberculosis: Practical Review for Implementation in Routine. *Pathogens*. 2023;12(8).
- Murphy, S. Profiling drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* with targeted nanopore sequencing. Presentation. Available at: <https://nanoporetech.com/resource-centre/video/ncm22/profiling-drug-resistant-mycobacterium-tuberculosis-with-targeted-nanopore-sequencing> [Accessed: 06 July 2023].
- Murphy, S.G., Smith C., Lapierre, P., Shea, J., Patel, K., Halse, T.A., Dickinson, M., Escuyer, V., Rowlinson, M.C. and Musser, K.A. (2023) Direct detection of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* using targeted next generation sequencing. *Frontiers in Public Health*. DOI: 10.3389/fpubh.2023.1206056.
- Meeting report of the WHO expert consultation on the definition of extensively drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://www.who.int/publications/i/item/meeting-report-of-the-who-expert-consultation-on-the-definition-of-extensively-drug-resistant-tuberculosis>).
- HIV Reagent Program [website]. National Institutes of Health HIV Reagent Program; 2023 (<https://www.beiresources.org/>).
- Access to pure drug substances for DST: bedaquiline and delamanid. Geneva: Stop TB Partnership; 2021 (<https://www.stoptb.org/info-note-access-to-pure-drug-substances-dst-bedaquiline-and-delamanid>).
- Technical report on critical concentrations for drug susceptibility testing of isoniazid and the rifamycins (rifampicin, rifabutin and rifapentine). Geneva: World Health Organization; 2021 (<https://www.who.int/publications/i/item/9789240017283>).
- Technical report on critical concentrations for drug susceptibility testing of isoniazid and the rifamycins (rifampicin, rifabutin and rifapentine). Geneva: World Health Organization; 2021 (<https://www.who.int/publications/i/item/9789240017283>). Target product profile for next-generation drug-susceptibility testing at peripheral centres. Geneva: World Health Organization; 2021 (<https://www.who.int/publications/i/item/9789240032361>).
- World Health Organization, Foundation for Innovative New Diagnostics. The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex: technical guide (WHO/CDS/TB/2018.19). Geneva: World Health Organization; 2018 (<https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CDS-TB-2018.19>).
- The use of next-generation sequencing for the surveillance of drug-resistant tuberculosis: an implementation manual. Geneva: World Health Organization; 2023 (<https://www.who.int/publications/i/item/9789240078079>)

Agradecimientos:

Hospital Universitario Virgen de Valme.
Línea de investigación Micobacterias.
Grupo Microbiología clínica y molecular.
IBIS/HUVR/CSIC/US

Departamento de Microbiología.
Facultad de Medicina.US

GEIM-SEIMC
PII-TB&MNT SEPAR

Comisión para el control de la Tuberculosis en Sevilla.
Ministerio de Sanidad. Gobierno de España.



HACERSE SOCIO

Quiere ser miembro de
GEIM

CLICK AQUÍ



<https://jornadatbsevilla.com/>

II Jornadas de investigación en Micobacterias
Sevilla 12 y 13 de marzo 2026.

veronica.gonzalez.galan.sspa@juntadeandalucia.es