

Predicción genómica de resistencias frente al antibiograma fenotípico en 1.748 aislados de *Mycobacterium tuberculosis* complex de Cataluña (2022-2024)

Adrián Antuori¹, Grupo de estudio TB-SEQ*

¹Servei de Microbiologia, Laboratori Clínic Metropolitana Nord, Institut de Recerca i Hospital Germans Trias i Pujol (IGTP), Badalona.

Correspondencia:

Adrián Antuori

E-mail: adrian.antuori@gmail.com

Enf Emerg 2026;25(3):169-171

doi: 10.18176/enfemerg.0049

Introducción

La secuenciación de genoma completo (WGS, del inglés *whole-genome sequencing*) permite predecir resistencias en *Mycobacterium tuberculosis* complex estandarizadas según la segunda edición del catálogo de la Organización Mundial de la Salud (OMS)¹. Aunque el antibiograma fenotípico (pDST, del inglés *phenotypic drug susceptibility testing*) es el método de referencia, su reproducibilidad es variable, sobre todo ante mutaciones que confieren resistencias de bajo nivel². El objetivo del estudio fue evaluar la concordancia diagnóstica entre la predicción genómica de resistencias (gDST, del inglés *genotypic drug susceptibility testing*) y el pDST en los fármacos de primera línea -rifampicina (RIF), isoniacida (INH), etambutol (EMB) y pirazinamida (PZA)- según dicho catálogo, e identificar el origen de las discrepancias fenotipo-genotipo para optimizar su aplicación clínica.

Métodos

Estudio retrospectivo de concordancia diagnóstica. Se obtuvieron los resultados de los pDST de los diferentes laboratorios y se realizó de forma prospectiva la secuenciación de genoma completo de los aislados del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (uno por paciente) procedentes de Cataluña entre 2022 y 2024 en el seno de la estrategia de vigilancia genómica TB-SEQ³. El análisis bioinformático se realizó siguiendo un pipeline previamente descrito³ y desarrollado por el Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV-CSIC). La predicción genómica de resistencias se llevó a cabo utilizando los datos de polimorfismos de nucleótido único (SNP, del inglés *single nucleotide polymorphism*) e inserciones/deleciones (indels) y asignando el grado de asociación a resistencia descrito en el catálogo. Las comparaciones se realizaron de forma independiente para cada fármaco, excluyendo únicamente aquellos casos sin datos disponibles de pDST para dicho antimicrobiano o con fallos en el proceso de secuenciación.

*Grupo de estudio TB-SEQ:

A.Antuori¹, MG López², AE Bordoy¹, V Saludes³, E Sicart-Torres⁴, PJ Hesketh-Best¹, A París¹, M Piñana¹, B López¹, A Llop¹, A Parra¹, E Bascuñana¹, D Panisello-Yagüe¹, S González-Gómez¹, S Esteban-Cucó⁵, E Vicente⁵, G Tudó⁶, J González-Martin⁷, T Soler⁸, A Sellarès⁸, I Prats⁹, F Alcaide¹⁰, L Fernández-Delgado¹¹, S Narváez¹², M Garrigó¹³, MT Tórtola¹⁴, P Costa¹⁵, A Casabella¹⁶, A Pulido¹⁷, E Picó-Plana¹⁸, M Galofré¹⁸, J López¹⁹, G Trujillo¹⁹, N Torrellas²⁰, X Casas²¹, L Oliver²², O González-Moreno²², JR Agüera²³, P Ciruela²⁴, M Bach⁴, P Gomà⁴, P Bach⁴, M Carol⁴, P Cano⁴, L Clotet⁴, A Despuig⁴, L Curto⁴, J Ferràs⁴, G Ferrús⁴, N Follià⁴, M Sabater⁴, JP Millet²⁵, R Prieto²⁶, E Plasencia⁴, T Pérez-Porcuna⁴, À Tarrés⁴, M López⁴, H Martínez⁴, L Soler², O Pérez-Lallave², G Clarà², AC Pelegrin², M Torres-Puente¹, S Pequeño⁴, J Mendioroz⁴, L Gavalda-Mestre⁴, E Martró³, Iñaki Comas²⁷, PJ Cardona²⁸

¹Servei de Microbiologia, Laboratori Clínic Metropolitana Nord, Institut de Recerca i Hospital Germans Trias i Pujol (IGTP), Badalona. ²Tuberculosis Genomics Unit, Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV)-CSIC, Valencia. ³Servei de Microbiologia, Laboratori Clínic Metropolitana Nord, Institut de Recerca i Hospital Germans Trias i Pujol (IGTP); CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Badalona. ⁴Agència de Salut Pública de Catalunya, Departament de Salut, Generalitat de Catalunya, Barcelona. ⁵Laboratori de Referència de Catalunya, El Prat de Llobregat. ⁶Universitat de Barcelona; Hospital Clínic de Barcelona-ISGlobal, Barcelona. ⁷Hospital Clínic de Barcelona-ISGlobal; CIBER en Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), Barcelona. ⁸Consorci del Laboratori Intercomarcal (CLILAB) de l'Alt Penedès, l'Anoia i el Garraf, Vilafraça del Penedès. ⁹Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Lleida. ¹⁰Hospital Universitari de Bellvitge-IDIBELL; Universitat de Barcelona, L'Hospitalet de Llobregat. ¹¹Hospital Universitari de Bellvitge-IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat. ¹²CATLAB-Centre Analítiques Terrassa AIE, Terrassa. ¹³Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona. ¹⁴Hospital Universitari Vall d'Hebron; CIBER en Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), Barcelona. ¹⁵Laboratori Clínic Territorial de Girona. Hospital Universitari de Girona Dr. Josep Trueta, Girona. ¹⁶Àrea de Microbiologia, Servei de Laboratoris Clínics, Parc Taulí Hospital Universitari, Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí (I3PT-CERCA), Universitat Autònoma de Barcelona, Sabadell. ¹⁷Hospital General de Granollers, Granollers. ¹⁸Hospital Universitari Joan XXIII, Tarragona. ¹⁹Fundació Althaia. Hospital Sant Joan de Déu, Manresa. ²⁰Laboratori Fundació Hospital de Palamós, Palamós. ²¹Serveis Clínics, Barcelona. ²²Eurofins, Esplugues de Llobregat. ²³Laboratorio Echevarne, Sant Cugat del Vallès. ²⁴Agència de Salut Pública de Catalunya, Departament de Salut, Generalitat de Catalunya; CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Barcelona. ²⁵Programa de Prevenció i Control de la Tuberculosi de Barcelona (PPCTB). Servei d'Epidemiologia (SEPID). Agència de Salut Pública de Barcelona (ASPB); Serveis Clínics; CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Barcelona. ²⁶Programa de Prevenció i Control de la Tuberculosi de Barcelona (PPCTB). Servei d'Epidemiologia (SEPID). Agència de Salut Pública de Barcelona (ASPB), Barcelona. ²⁷Tuberculosis Genomics Unit, Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV)-CSIC; CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Valencia. ²⁸Servei de Microbiologia, Laboratori Clínic Metropolitana Nord, Institut de Recerca i Hospital Germans Trias i Pujol (IGTP); CIBER en Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Badalona.

El análisis primario comparó el gDST frente al pDST aplicando un umbral de frecuencia alélica (FA) del 75 %. Las discordancias se clasificaron como gR/pS (gDST resistente y pDST sensible) o gS/pR (a la inversa). De forma exploratoria, se evaluó el impacto de umbrales de FA del 10 % y 5 % en el análisis de concordancia, y se repitió el pDST en medio líquido MGIT (*Mycobacteria Growth Indicator Tube*) para reevaluar la sensibilidad y especificidad en aquellos casos con discordancia entre gDST y pDST. Por último, se cuantificó el rendimiento incremental del WGS en aislados sensibles por pDST, la distribución de variantes de significado incierto (grupo 3 del catálogo de la OMS) y la frecuencia de variantes genómicas asociadas a resistencias por linaje.

Resultados

Entre el 2 de enero de 2022 y el 31 de diciembre de 2024, de las 1774 muestras remitidas al Laboratorio de Microbiología del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, se secuenciaron con éxito 1748 aislados de *Mycobacterium tuberculosis* (98,5 %), correspondientes a un aislado por paciente. La profundidad y cobertura medias de los genomas fueron 110x (rango intercuartílico [RIC], 89-121) y 99% (RIC, 99-99) respectivamente. En función de la disponibilidad de un pDST válido y de los aislados secuenciados con éxito, el análisis comparativo incluyó 1665 aislados (95,3 %) para RIF, 1656 (94,7 %) para INH, 1655 (94,7 %) para EMB y 1597 (91,4 %) para PZA.

Entre los aislados evaluados, la resistencia predicha por gDST frente a la observada por pDST fue del 1,5 % (27/1.748) vs. 1,5 % (25/1.665) para RIF; 5,4 % (94/1.748) vs. 5,9 % (97/1.656) para INH; 0,7 % (13/1.748) vs. 1,0 % (16/1.655) para EMB; y 2,1 % (37/1.748) vs. 4,4 % (71/1.597) para PZA. De acuerdo con las definiciones de la OMS, se registraron (gDST vs. pDST): sensibilidad a todos los fármacos de primera línea, 92,3 % (1.614) vs. 90,2 % (1.577); monorresistencia a RIF, 0,5 % (8) vs. 0,3 % (6); MDR, 0,9 % (15) vs. 1,0 % (17); pre-XDR, 0,2 % (4) vs. 0,1 % (2); y ningún caso de XDR.

En el análisis primario, la sensibilidad predicha del gDST frente al pDST fue del 76,0 % (19/25) para RIF, 80,4 % (78/97) para INH, 43,8 % (7/16) para EMB y 35,2 % (25/71) para PZA. La especificidad fue $\geq 99,5$ % en los cuatro fármacos (Tabla 1). La reducción del umbral de FA al 10 % y al 5 % para RIF no modificó la sensibilidad ni la especificidad de la predicción genómica frente al pDST. Para INH, reducir el umbral al 10 % disminuyó la especificidad en 1,2 puntos (98,3 %). Al bajar al 5 %, se captaron 3 resistentes por pDST, lo que incrementó la sensibilidad respecto al pDST en 3,1 puntos (83,5 %) a expensas de una disminución de especificidad de 3,3 puntos (96,2%). En PZA, tanto el umbral del 10 % como el del 5 % de FA aumentaron la sensibilidad frente a pDST en 1,4 puntos (36,6%), sin variar la especificidad. Para EMB, la disminución de FA no alteró la sensibilidad y redujo la especificidad en 0,1 puntos para ambos umbrales.

Tabla 1. Rendimiento diagnóstico y métricas de concordancia de la predicción genómica (gDST) frente al pDST basal y tras la repetición fenotípica de aislados discordantes.

Fármaco	Capa	gR/pR · gR/pS · gS/pR · gS/pS	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Rifampicina	Primario	19 · 7 · 6 · 1.633	76,0 (56,6-88,5)	99,6 (99,1-99,8)	73,1 (53,9-86,3)	99,6 (99,2-99,8)
	Repetición fenotípica discordantes	19 · 7 · 2 · 1.637	90,5 (69,6-98,8)	99,6 (99,1-99,8)	73,1 (52,2-88,4)	99,9 (99,6-100,0)
Isoniacida	Primario	78 · 8 · 19 · 1.551	80,4 (71,4-87,1)	99,5 (99,0-99,7)	90,7 (82,7-95,2)	98,8 (98,1-99,2)
	Repetición fenotípica discordantes	82 · 4 · 8 · 1.562	91,1 (83,2-96,1)	99,7 (99,3-99,9)	95,3 (88,5-98,7)	99,5 (99,0-99,8)
Etambutol	Primario	7 · 4 · 9 · 1.635	43,8 (19,8-70,1)	99,8 (99,4-99,9)	63,6 (30,8-89,1)	99,5 (99,0-99,7)
	Repetición fenotípica discordantes	7 · 4 · 5 · 1.639	58,3 (27,7-84,8)	99,8 (99,4-99,9)	63,6 (30,8-89,1)	99,7 (99,3-99,9)
Pirazinamida	Primario	25 · 5 · 46 · 1.521	35,2 (25,1-46,8)	99,7 (99,2-99,9)	83,3 (66,4-92,7)	97,1 (96,1-97,8)
	Repetición fenotípica discordantes	26 · 4 · 42 · 1.525	38,2 (26,7-50,8)	99,7 (99,3-99,9)	86,7 (69,3-96,2)	97,3 (96,4-98,1)

gR/gS: gDST resistente/sensible (grupos 1 y 2 del catálogo, frecuencia alélica ≥ 75 %); pR/pS: pDST resistente/sensible. VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo. Entre paréntesis, IC95 % (Wilson, o Clopper-Pearson si alguna celda es < 5). Primario: pDST original. Repetición fenotípica discordantes: análisis exploratorio de discordancias resueltas, que sustituye el pDST original por el repetido en los discordantes repetidos; sujeto a verificación diferencial.

En el análisis exploratorio de discordancias se repitieron 104 determinaciones a la concentración crítica en MGIT. Para RIF, las discordancias disminuyeron de 13 a 9, aumentando la sensibilidad del 76,0 % al 90,5 % (19/21). Cuatro de los 5 aislados gS/pR pasaron a sensibles y ninguno de los 5 gR/pS cambió a resistente (todos portaban mutaciones *borderline* en el gen *rpoB*: Leu430Pro, His445Asn o Leu452Pro). Para INH, las discordancias se redujeron de 27 a 12. Once de los 16 aislados gS/pR pasaron a sensibles y 4 de los 6 gR/pS cambiaron a resistentes. La sensibilidad aumentó del 80,4 % al 91,1 % (82/90) y la especificidad subió del 99,5 % al 99,7 % (1.562/1.566). Para EMB, las discordancias bajaron de 13 a 9. Los 4 aislados gS/pR pasaron a sensibles y no hubo casos gR/pS repetidos. La sensibilidad aumentó del 43,8 % al 58,3 % (7/12). En PZA, las discordancias descendieron de 51 a 46. Cuatro de los 13 aislados gS/pR pasaron a sensibles y el único caso gR/pS pasó a resistente. La sensibilidad subió del 35,2 % al 38,2 % (26/68).

Para el análisis por linajes se incluyeron 1.346 de los 1.748 aislados, dado que para cada clúster genómico de transmisión reciente (≤ 5 SNPs) se seleccionó un solo aislado al azar. Las variantes asociadas a resistencia (grupos 1 y 2 del catálogo de la OMS) mostraron una distribución desigual entre linajes. El linaje 2 concentró una proporción elevada de resistencia a RIF (14,6 %, 6/41) e INH (19,5 %, 8/41). En aislados con variantes asociadas a resistencias, la proporción de cepas con pDST sensible fue del 26,9 % en RIF (7/26), 9,3 % en INH (8/86), 36,4 % en EMB (4/11) y 16,7% en PZA. En el sentido contrario, entre los aislados fenotípicamente sensibles, el gDST predijo resistencia en las siguientes proporciones: 0,4 % en RIF (7/1.640), 0,5 % en INH (8/1.559), 0,2 % en EMB (4/1.639) y 0,3 % en PZA (5/1.526). El número necesario a secuenciar para identificar un caso gR/pS fue de 238 aislados en RIF, 207 en INH, 414 en EMB y 320 en PZA.

Finalmente, se analizó la distribución de variantes genómicas clasificadas como inciertas en el segundo catálogo de la OMS (grupo 3) para cada fármaco. La comparación (gS/pR vs. concordantes sensibles) fue del 16,7 % (1/6) frente al 16,4 % (267/1.633) en RIF, del 42,1 % (8/19) frente al 20,4 % (317/1.551) en INH, del 33,3 % (3/9) frente al 22,1 % (361/1.635) en EMB, y del 47,8 % (22/46) frente al 18,1 % (275/1.521) en PZA.

Conclusiones

Aplicando el catálogo de la OMS, la predicción genómica mostró una elevada especificidad en todos los fármacos de primera línea. La sensibilidad frente al pDST basal fue moderada para RIF e INH, y baja para EMB y PZA. La repetición del pDST resolvió parte de las discordancias iniciales, lo que podría sugerir una falta de reproducibilidad en el pDST. No obstante, este hallazgo debe interpretarse como exploratorio, ya que está sujeto a sesgo de verificación diferencial⁴. Los aislados gR/pS de RIF que mantuvieron fenotipo sensible portaban mutaciones en *rpoB* catalogadas como *borderline*^{1,5}.

La reducción del umbral de FA tuvo un impacto heterogéneo y dependiente de cada fármaco. No alteró la sensibilidad y especificidad en RIF ni EMB, supuso una ganancia de sensibilidad para INH al considerar el umbral de 5% a expensas de una pérdida de especificidad, y en PZA se tradujo en un aumento de sensibilidad sin alterar la especificidad. Por último, se observó una mayor acumulación de variantes de grupo 3 clasificadas como inciertas por el segundo catálogo de la OMS en aislados gS/pR en INH, PZA y EMB, lo que podría sugerir una reevaluación de estas variantes como posibles determinantes de resistencia.

Bibliografía

1. World Health Organization. Catalogue of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex and their association with drug resistance, second edition. Geneva: World Health Organization; 2023. ISBN 978-92-4-008241-0.
2. García-Marín AM, Cancino-Muñoz I, Torres-Puente M, Villamayor LM, Borrás R, Borrás-Máñez M, et al. Role of the first WHO mutation catalogue in the diagnosis of antibiotic resistance in *Mycobacterium tuberculosis* in the Valencia Region, Spain: a retrospective genomic analysis. *Lancet Microbe*. 2024;5(1):e43-e51. doi: 10.1016/S2666-5247(23)00252-5.
3. Bordoy AE, Leonov V, López MG, Sicart-Torres E, Soler L, Antuori A, et al. Population structure and spatial distribution of *Mycobacterium tuberculosis* complex in Catalonia. *Front Microbiol*. 2026;17:1787894. doi: 10.3389/fmicb.2026.1787894.
4. Hadgu A. The discrepancy in discrepant analysis. *Lancet*. 1996;348(9027):592-3. doi: 10.1016/S0140-6736(96)05122-7.
5. Rigouts L, Gumusboga M, de Rijk WB, Nduwamahoro E, Uwizweye C, de Jong B, et al. Rifampin resistance missed in automated liquid culture system for *Mycobacterium tuberculosis* isolates with specific *rpoB* mutations. *J Clin Microbiol*. 2013;51(8):2641-5. doi: 10.1128/JCM.02741-12.