



**VI CONGRESO LATINOAMERICANO  
DE BIOQUIMICA CLÍNICA**

**II CONGRESO INTERNACIONAL DEL  
COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA**

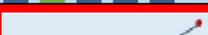
*¡El riesgo es que te quieras quedar!*

**Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024**

**Causa y consecuencia de las discordancias en pruebas de tuberculosis relacionadas con el laboratorio.**

# Situación de la tuberculosis en Colombia

## Indicadores Programáticos 2018-2024

Indicador	2018	2019	2020	2021	2022	2023 prel *	2024 prel *	Comportamiento
Casos de TB todas las formas	14420	14886	12582	14091	17531	20300	11118	
Tasa de incidencia de TB	26,00	27,30	22,00	25,80	31,92	36,47	19,34	
Tasa de incidencia TB y VIH	3,7	3,5	3,3	3,2	4,0	4,3	2,5	
Número de muertes	1082	1108	971	1137	1351	1496	385	
Tasa de mortalidad causa básica	2,24	2,24	1,93	2,22	2,61	2,87	0,73	
% Coinfección TB y VIH	12,0	11,5	13,0	12,0	11,9	11,0	11,7	
%Pulmonar	86,0	83,2	84,3	83,9	86,2	85,9	86,7	
%extrapulmonar	14,0	16,8	15,6	16,4	13,4	14,1	13,3	
Casos de TB en menores de 15 años	562,0	404,0	328,0	380,0	683,0	696,0	370,0	
% casos en menores de 15 años	3,9	2,7	2,5	2,7	3,9	3,4	3,8	
% Tratamiento exitoso **	74	75	71	74	74	En evaluación	En evaluación	
Casos TB MDR y RR	211	228	172	203	246	354	297	
Nuevos y recaídas	13140	14992	11634	13141	16497	19041	10194	
previamente tratados	596	633	499	441	360	290	374	

Año	Detección prueba molecular
2023	<b>67,3%</b>
2022	42%
2021	30%
2020	18,1%

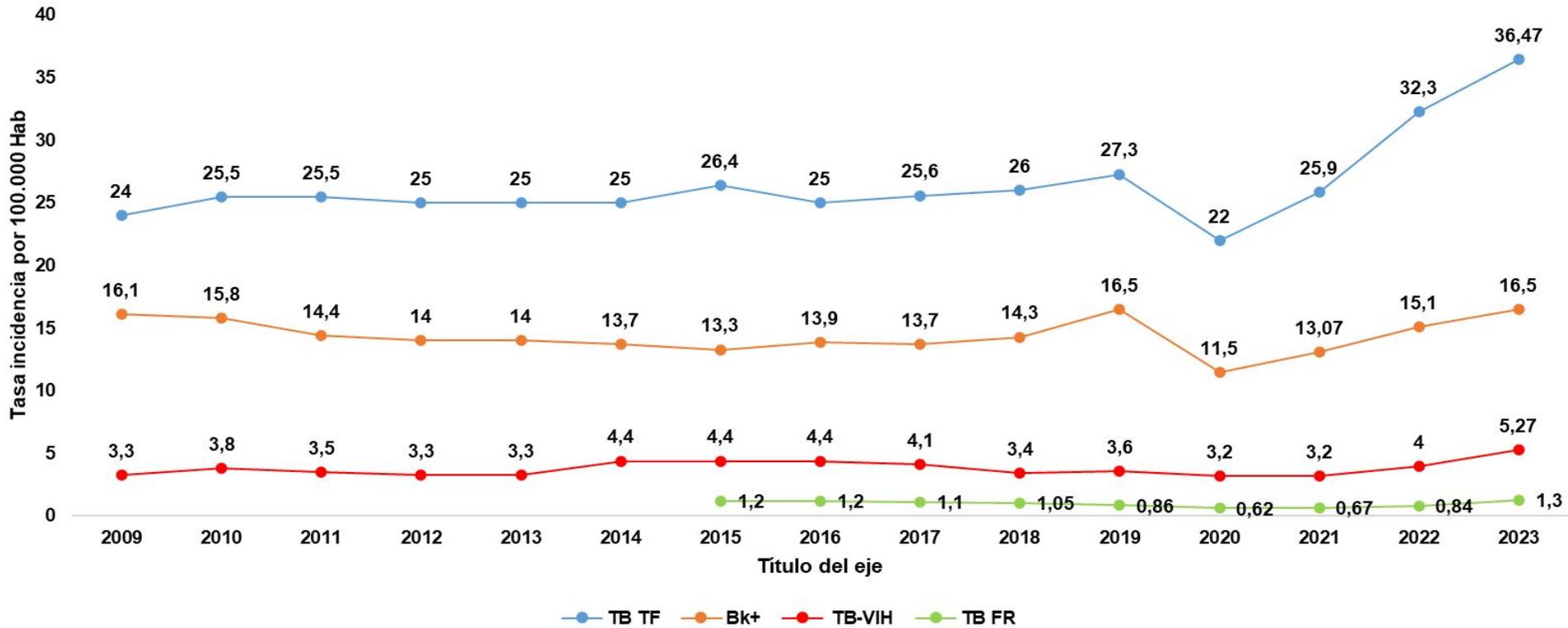
Fuente: MSPS Programa Nacional de Prevención y Control de la TB año 2018 al 2024. \*Datos año 2023 preliminares con corte 25/04/2024

Datos mortalidad fuente Estadísticas Vitales DANE defunciones no fatales 2022 Cifras definitivas – 2023-enero a Diciembre -2024 Cifras preliminares I trim 2024- con corte publicado a junio 2024.



# Situación de la tuberculosis en Colombia

## Indicadores Programáticos 2018-2024



La mayoría de los casos son formas bacilíferas, lo que indica diagnóstico tardío y mantenimiento de la cadena de transmisión.

El aumento en la incidencia de casos hace que de algún modo se reduzca la brecha de casos no detectados respecto a las estimaciones de la OMS.

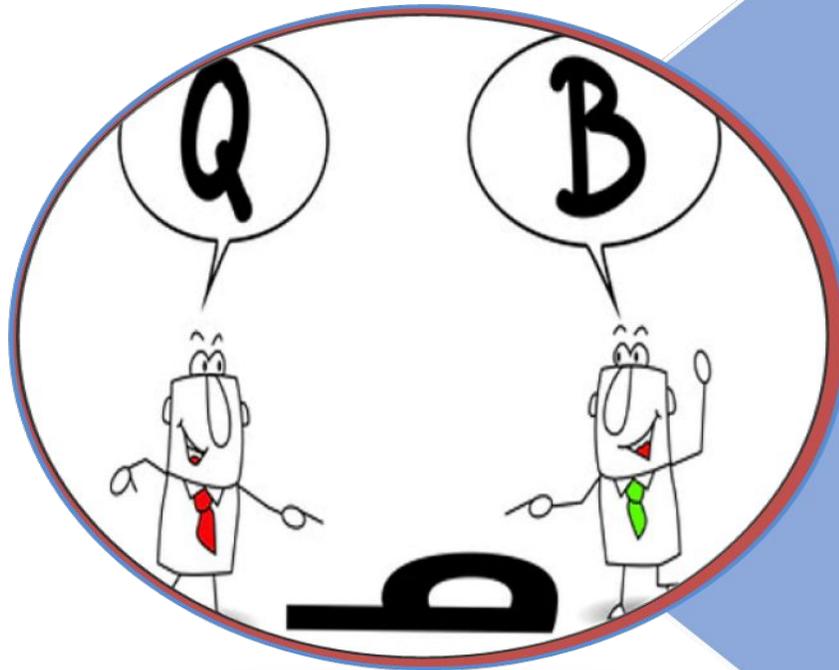


# Innovaciones en los métodos de diagnóstico de tuberculosis

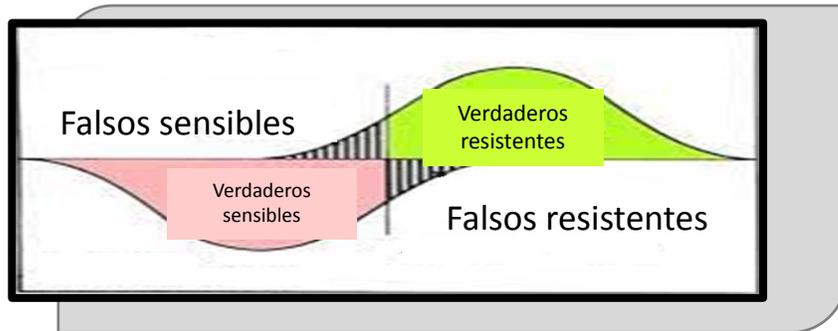
2025+



# Posibles causas de los resultados no concordantes



# Que es lo que detectan las técnicas de laboratorio ...



**Sensibilidad:** probabilidad de clasificar a correctamente un individuo como enfermo mediante las pruebas de laboratorio, capacidad de una prueba para **detectar** enfermedad

**Especificidad:** probabilidad de clasificar correctamente un individuo como sano, capacidad de una prueba para **descartar** enfermedad

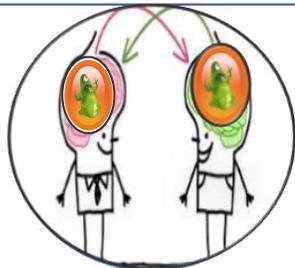
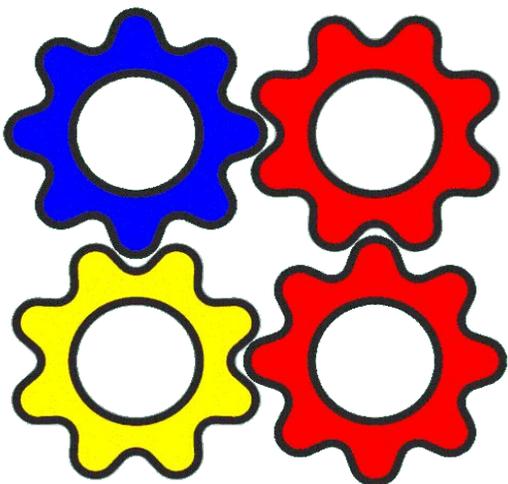
**Baciloscopia:** con un LOD de 5000 a 10000 microorganismos por mL de muestras solo nos permite identificar la presencia de BAAR

**Técnicas moleculares:** los LOD que van de 6, 11, 17, 56... UFC para detección de complejo *M. tuberculosis* y para el caso de resistencia a fármacos pueden variar entre 20, 70, 131...

**Cultivo:** su LOD es de 10 microorganismos por mL de muestras se mantiene hasta este momento como el método de referencia en detección de casos en especial cuando se busca tuberculosis en muestras con poca carga bacilar como extrapulmonares o procedenes de menos de 15 años



# Aseguramiento de la Calidad



## Pre analítica

Tipo de muestras que presentan discordancia no es lo mismo un esputo a un LCR, muestras tomadas en diferentes días, entre otros

Recolección, conservación y almacenamiento inadecuados

Preguntar al paciente que medicamentos toma, porque le envían estos exámenes, entre otros



## Analítica

Entrenamiento de los profesionales, las técnicas en TB requieren un nivel de conocimiento en el procesamiento y la interpretación de resultados

Pasos, condiciones de procesamiento, controles internos, fundamentos, límites de detección, entre otros



## Post analítica

Interpretación correcta por parte del clínico de los resultados, fundamentos de las pruebas, límites de detección, correlación con la clínica para definir si se inicia o no un esquema de tratamiento

Transferencia oportuna de resultados positivos y de aquellos que evidencian resistencia



# Pre Analítica

Espuito - Espuito inducido	Aspirado nasofaríngeo	Aspirado gástrico o aspirado lavado gástrico	Lavado broncoalveolar (BAL)	Biopsia Pulmonar
<p>Idealmente se debe procesar inmediatamente, en caso de que no sea posible se puede conservar de <b><u>2 - 8°C hasta por 5 días.</u></b></p> <p>Tenga en cuenta que un procesamiento oportuno favorece la recuperación de las micobacterias y reduce la posibilidad de contaminación del cultivo.</p>	<p>La muestra debe ser recolectada en dos tubos estériles, remitir un para cultivo y otro para PCR.</p> <p>Se debe procesar inmediatamente, en caso contrario, debe ser conservada de <b><u>2 - 8 °C por no más de 24 horas</u></b></p>	<p>Las muestras se deben recolectar en el mismo recipiente que para el esputo.</p> <p>Se debe procesar inmediatamente, en caso contrario, debe ser conservada de <b><u>2-8 ° C por no más de 24 horas.</u></b></p>	<p>La muestra se debe recolectar en un tubo de centrifuga plástico y estéril de 50 mL y con cierre hermético proporcionado por el laboratorio, o un recipiente plástico tapa rosca estéril.</p> <p>Se debe procesar inmediatamente, en caso contrario, debe ser conservada de <b><u>2-8 ° C por no más de 24 horas.</u></b></p>	<p>Se debe recolectar en dos recipientes estériles con tapa de cierre hermético.</p> <p>Debe ser conservada de <b><u>2-8 ° C hasta por de 5 días.</u></b></p>



# Pre Analítica



Tipo de muestra	Recolección	Tiempo conservación
<b>Líquido cefalorraquídeo</b>	Médico especialista quien define en número de muestras a recolectar acorde con la sospecha clínica	<b><u>Procesar de inmediato</u></b> , en caso de que esto no sea posible se pueden almacenar en <b><u>refrigeración 2 - 8 °C por no más de 12 horas</u></b>
<b>Líquidos estériles: Pleural, pericárdico, ascítico y sinovial*</b>		
<b>Biopsia extrapulmonar</b>		
<b>Secreciones Una muestra</b>	Bacteriologo	
<b>Sangre Seriado</b>	Paciente	
<b>Materia fecal Seriado</b>		
<b>Orina Tres a seis</b>		



# Post analítica

## Interpretación de los resultados

### Alto-Medio

- Se obtiene resultados de resistencia a fármacos, suficiente cantidad de BAAR

### Bajo-Muy bajo\*

- Puede o no tener resultado de resistencia a fármacos, esto depende del límite de detección establecido por el método que siempre es más alto que el definido para identificación de complejo *M. tuberculosis*

### Muy bajo detectado\*

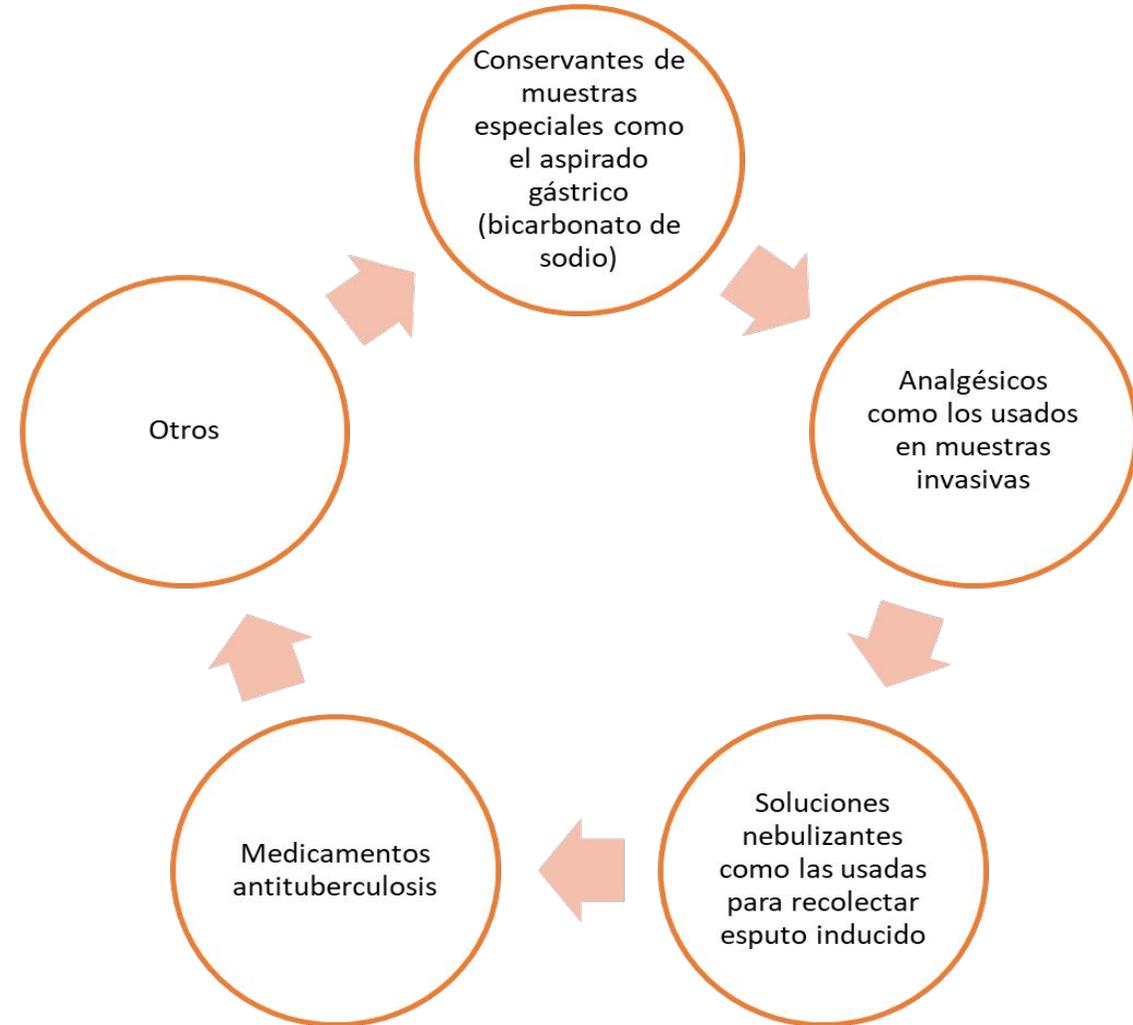
- No tienen resultados de resistencia a fármacos
- En personas con VIH, niños y TB extrapulmonar deberían ser considerados como positivos
- El cultivo debe ser usado para evaluar la presencia de resistencia

En aquellos casos con muy poca detección de complejo *M. tuberculosis* es el clínico quien debe hacer correlación con prevalencia, condición del paciente, signos, síntomas y otras pruebas como rayos X para definir la conducta terapéutica

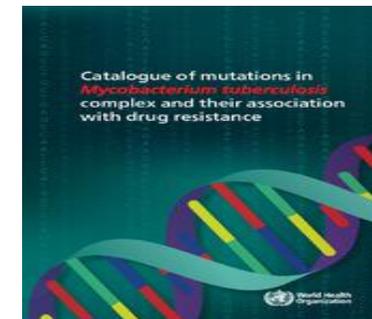


# Posibles sustancias inhibidoras de técnicas (PCR – cultivo)

Es ideal documentar esta información cuando se hace la recolección o recepción de la muestra en el laboratorio



# Frecuencia de las mutaciones que confieren resistencia a los medicamentos



Antibiótico	Gen	Mecanismo de acción	Mecanismo de resistencia	Frecuencia mutaciones
isoniazida	katG	Codifica para la enzima catalasa-peroxidasa: transforma la INH en el principio activo, inhibiendo la síntesis del ácido micólico	Mutaciones en este gen impiden la activación de la isoniacida	30–60%
	inhA	Codifica la síntesis de la proteína enoil ACP reductasa, implicada en la producción de ácidos grasos de la micobacteria	Mutaciones, inducen sobre-expresión del gen sintetizando altos niveles de la enzima enoil reductasa en cantidades que superan el poder inhibitorio de INH	20–35%
rifampicina	rpoB	Codifica para la subunidad β de la RNA polimerasa, a la cual se une la rifampicina, interfiriendo en la síntesis del ácido nucleico en el proceso de replicación bacteriana	Mutaciones, impiden la interacción de la RIF con la ARN polimerasa.	96-98%
Fluoroquinolonas	gyrA/ gyrB	Inhiben la actividad de la ADN girasa.	Referirse al punto 1.6.2.1	42-85%
kanamicina/ amikacina	rpsL/ rrs	Impiden la síntesis de proteínas en el ribosoma bacteriano (inhiben la traducción del ARNm. El sitio de acción es la subunidad pequeña del ribosoma 30S (rpsL) y el ARNr 16S (rrs))	Mutaciones en estos genes producen una disminución de la unión de los medicamentos a la unidad ribosomal	> 60%

Drug	Gene(s) containing drug resistance-conferring mutations
Amikacin	<i>rrs</i>
Bedaquiline	<i>mmpL5, mmpS5, Rv0678, atpE, pepQ</i>
Capreomycin	<i>rrs, tlyA</i>
Clofazimine	<i>Rv0678, pepQ</i>
Delamanid	<i>ddn, fgd1, fbiA, fbiB and fbiC</i>
Ethambutol	<i>embA, embB, embC, ubiA</i>
Ethionamide	<i>inhA, ndh, ethA, ethR</i>
Fluoroquinolones	<i>gyrA, gyrB</i>
Isoniazid	<i>katG, inhA, ndh, furA, kasA</i>
Kanamycin	<i>rrs, gidB, eis, tap, whiB7</i>
Linezolid	<i>rplC, rrl</i>
Pyrazinamide	<i>pncA, rpsA, panD</i>
Rifampicin	<i>rpoB</i>
Streptomycin	<i>rpsL, rrs, gidB, tap, whiB7</i>

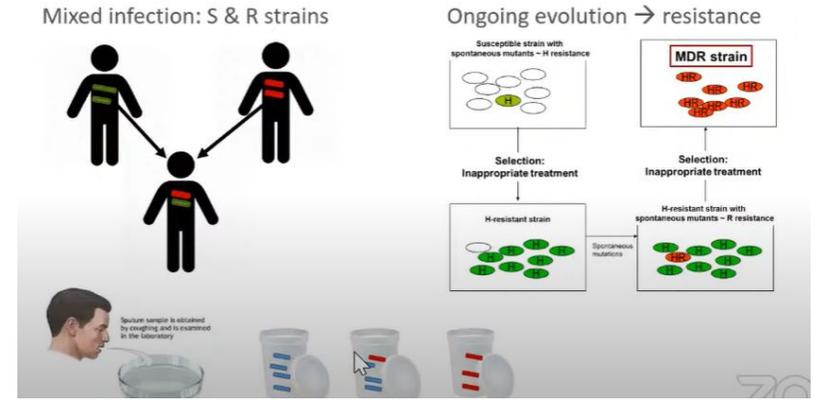
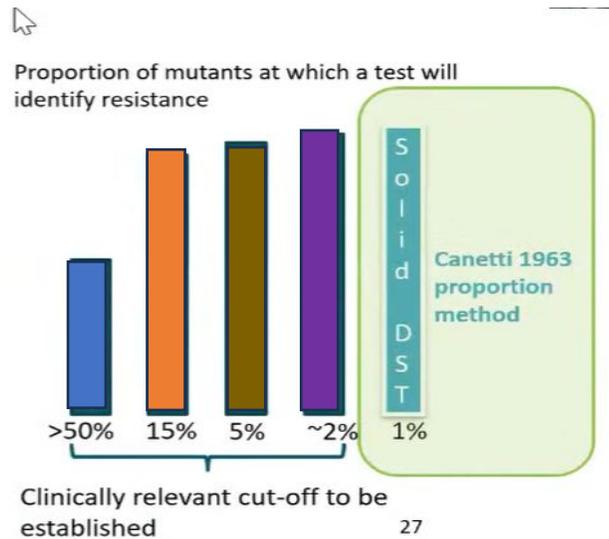
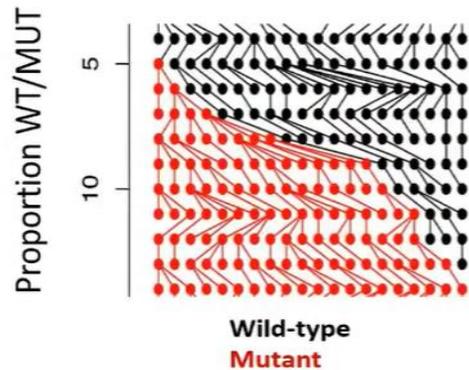
Cirillo et al. Adv Exp Med Biol. 2017;1019:221-246. doi: 10.1007/978-3-319-64371-7\_12. Review.

Rev. salud pública 20 (4) Jul-Aug 2018 • <https://doi.org/10.15446/rsap.V20n4.50575>



# Hetero resistencias o poblaciones mixtas de *M. tuberculosis*

Algunas técnicas tienen limitada habilidad para detectar mezclas de cepas sensibles y resistentes, esto va ligado a la concentración de subpoblaciones

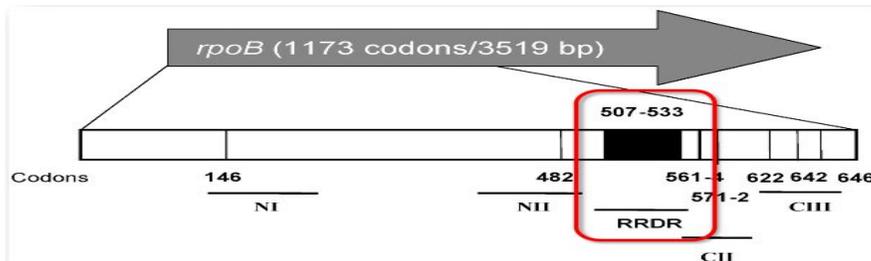


# Mutaciones en regiones diferentes a las evaluadas por los métodos disponibles

## Ejemplo para rifampicina mutaciones fuera del RRDR: V146F o I572F

- Siu et al 2011: 4%
- Ahmad et al 2005: 6%
- Ahmad et al 2012: 11%
- Van Deun et al 2013: 1-2%
- Van Deun et al 2009: 5%
- Rigouts et al 2013: 5%

**Frecuencia aprox. 5%**  
**Al evaluarse por técnicas convencionales se requiere de CMI diferenciadas, lo ideal es hacer secuenciación**



**Table 1. Mutations in *rpoB* in 125 Multidrug-Resistant Strains from the 2009 Survey Regarding Tuberculosis-Drug Resistance in Swaziland.<sup>a</sup>**

Mutation	Strains with Mutation no. (%)	Mutation in <i>rpoB</i> Hot-Spot Region <sup>b</sup>
D435F	1 (0.8)	Yes
D435F, N437D	3 (2.4)	D435F, yes; N437D, yes
D435V	1 (0.8)	Yes
G442R, I491F	1 (0.8)	G442R, yes; I491F, no
H445D	7 (5.6)	Yes
H445L	6 (4.8)	Yes
H445Y	6 (4.8)	Yes
I491F, R552C	1 (0.8)	I491F, no; R552C, no
I491F	38 (30.4)	No
QF432-433del	1 (0.8)	Yes
S450L	58 (46.4)	Yes
S450W	1 (0.8)	Yes
Unmutated	1 (0.8)	No





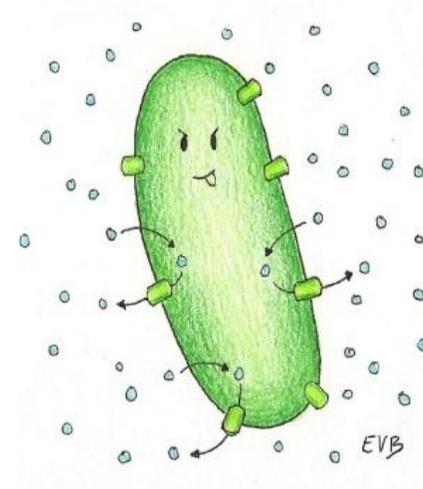
# Otros mecanismos que confieren resistencia a los medicamentos

Descripción del gen	N° H37Rv	Familia del Transportador	Possible medicamento expulsado
Multidrug-efflux transporter Tap	Rv1258c	MFS	INH, RIF, EMB, OFL
Multidrug-efflux transporte	Rv1634	MFS	FQ
MFS-type transporter	Rv2846c-efpA	MFS	INH-ETH
MFS-type transporter	Rv2459	MFS	INH, EMB
Aminoglicosidos/tetracycline-transport integral membrane protein	Rv1410c-P55	MFS	TET, RIF, aminoglicósidos
Multidrug resistance protein Mmr	Rv3065-Mmr	SMR	ER, THZ
Transmembrane transport protein	Rv2942 MmpL7	RND	INH
Daunorubicin ABC transporter ATP-binding protein DrrA	Rv2936-drrA	ABC	EMB, FQ, STR, INH, RIF
Daunorubicin ABC transporter permease DrrB	Rv2937-drrB	ABC	EMB, FQ, STR, INH, RIF
Daunorubicin ABC transporter permease DrrC	Rv2938-drrC	ABC	EMB, FQs, STR,

Descripción del gen	N° H37Rv	N° CDC1551 a	Familia del Transportador	Possible medicamento expulsado
Tetronasin-transport integral membrane protein ABC transporte	Rv1217c	Mt1255	ABC	INH, RIF
tetronasin-transport ATP-binding protein ABC transporte	Rv1218c	Mt1256	ABC	INH, RIF
Antibiotic ABC transporter permease	Rv1456c	Mt1503	ABC	RIF, INH, EMB, STR
Antibiotic ABC transporter permease	Rv1457c	Mt1504	ABC	RIF, INH, EMB, STR
Antibiotic-transport ATP-binding protein ABC transporter	Rv1458c	Mt1505	ABC	RIF, INH, EMB, STR
Antibiotic ABC transporter permease	Rv2686c	Mt2790	ABC	FQ
Antibiotic ABC transporter permease	Rv2687c	Mt2761	ABC	FQ
Antibiotic ABC transporter ATP-binding protein	Rv2688c	Mt2762	ABC	FQ, RIF, STR

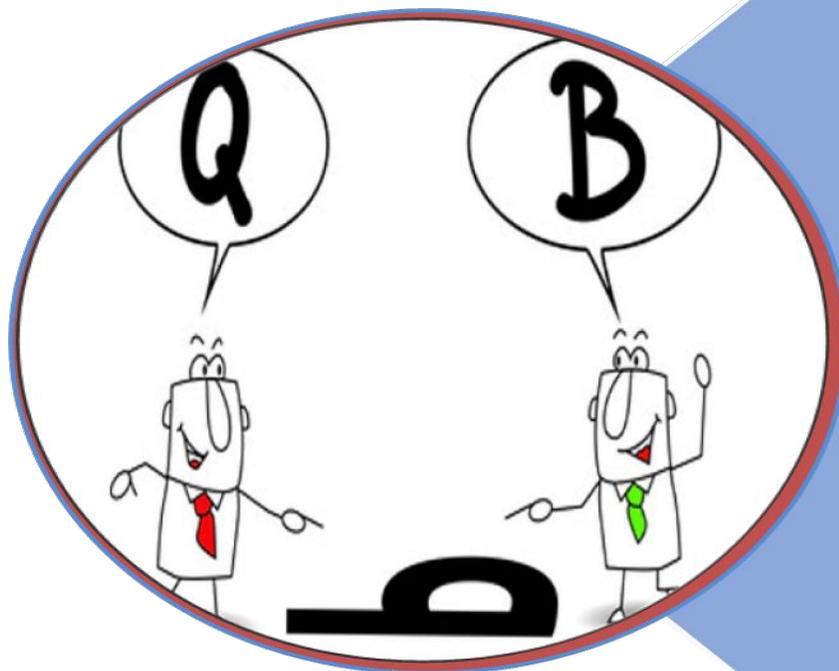
Aún el conocimiento es limitado respecto a los mecanismos que confieren resistencia en algunos de los fármacos, para el caso de las Bombas de eflujo aún se debe investigar más



Rev. salud pública 20 (4) Jul-Aug 2018 • <https://doi.org/10.15446/rsap.V20n4.50575>



# Posibles causas de los resultados no concordantes



1. Que es lo que detectan las pruebas y que es lo que descartan
2. Fallas en el procesamiento e interpretación de los resultados.
3. Sustancias inhibidoras de pruebas.
4. Frecuencia de las mutaciones que confieren resistencia a los medicamentos
5. Heterorresistencia o poblaciones mixtas.
6. Mutaciones en regiones diferentes a las evaluadas por los métodos disponibles.
7. Mutaciones en genes diferentes.
8. Otros mecanismos que confieren resistencia a los medicamentos.



# Consecuencias de las discordancias



## Directrices y recomendaciones para el tratamiento de la enfermedad tuberculosa sensible, resistente y latente

### TB Sensible

Adultos y niños o niñas con peso mayor a 25 kg

Rango de peso en Kg	Número de tabletas	
	Fase intensiva diaria, lunes a sábado (56 dosis) RHZE 150/75/400/275mg	Fase de continuación diaria, lunes a sábado (112 dosis) RH 150/75mg
25-39	2	2*
40-54	3	3
55 Kg o más	4	4

Esquema de tratamiento de la tuberculosis activa en niños o niñas con peso menor a 25 kg

Rango de peso en Kg	Número de tabletas		
	Fase Intensiva: 56 dosis Diario (lunes a sábado) RHZ 75/50/150mg	Etambutol tabletas 100 mg	Fase de continuación: 112 dosis Diario (lunes a sábado) RH 75/50mg
4-7	1	1	1
8-11	2	2	2
12-15	3	3	3
16-20	4	4	4
21-24	4	5	4

### TB Latente

Esquema	Duración	Dosis por Kg de peso	Frecuencia	Dosis máxima
Isoniacida en monoterapia	6 meses	Niños <sup>†</sup> : 10 mg (rango 7 -15mg) Adultos: 5mg	Diaria (auto administrada con seguimiento mensual)	300mg
Isoniacida más Rifapentina* (12 dosis)	3 meses	Isoniacida: Edad 2–11 años: 25 mg+ Edad ≥12años: 15mg Rifapentina: según peso corporal: 10.0–14.0 kg = 300 mg 14.1–25.0 kg = 450 mg 25.1–32.0 kg = 600 mg 32.1–50.0 kg = 750 mg > 50 kg = 900 mg	Semanal (Supervisada)	Isoniacida: 900 mg Rifapentina: 900 mg



# Consecuencias de las discordancias



## Recomendaciones para el tratamiento de casos con TB MDR/RR

### Esquema largo para tuberculosis MDR/RR en menores de 6 años

6 meses Lfx-Lzd-Cfz-Cs —12 a14 meses Lfx-Lzd-Cfz

### Esquema largo para tuberculosis MDR/RR

6 meses Lfx-Lzd-Bdq-Cfz —12 a14 meses Lfx-Lzd-Cfz

## Esquema corto para tuberculosis MDR/RR 100% oral

6-9 meses Lfx-Lzd-Bdq-Cfz  
 Investigación operativa  
 Esquema alterno Comité Asesor Nacional

6-9 meses Bdq-Pa - Lzd- Mxf  
 BPALM 180 dosis – 6 meses de Lunes a domingo

## Esquema corto para tuberculosis Pre XDR- XDR TB 100% oral

6-9 meses Bdq-Pa - Lzd  
 BPAL Cfz  
 Individualizados

<sup>1</sup> Caminero JA, Piubello A, Scardigli A, et al. Proposal for a standardised treatment regimen to manage pre- and extensively drug-resistant tuberculosis cases. EurRespir J 2017; 50: 1700648  
<https://doi.org/10.1183/13993003.00648-2017>





# VI CONGRESO LATINOAMERICANO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

## II CONGRESO INTERNACIONAL DEL COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

*¡El riesgo es que te quieras quedar!*

**Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024**

