Rowneki M, Aronson N, Du P, Sachs P, Blakemore R, Chakravorty S, Levy S, Jones AL, Trivedi G, Chebore S, Addo D, Byarugaba DK, Njobvu PD, Wabwire-Mangen F, Erima B, Ramos ES, Evans CA, Hale B, Mancuso JD, Alland D.  
Detección de Mycobacterium tuberculosis resistente a los medicamentos mediante secuenciación de alto rendimiento de ADN aislado de frotis de bacilo ácido rápido  
PLoS One 2020;15(5):e0232343. doi: 10.1371/journal.pone.0232343.  
Open access: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32384098/>  
Alternative open access: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32384098/>

**Resumen**

**Antecedentes:** Las pruebas de susceptibilidad a los medicamentos para Mycobacterium tuberculosis (MTB) son difíciles de realizar en entornos de recursos limitados donde los frotis de bacilo ácido rápido (AFB) se usan comúnmente para el diagnóstico y monitoreo de enfermedades. Desarrollamos un método simple para la extracción de ADN de MTB de frotis de AFB para la detección basada en secuenciación de mutaciones asociadas con la resistencia a todos los medicamentos antituberculosos de primera y segunda línea.

**Métodos:** Aislamos ADN de MTB hirviendo contenido de frotis en una solución Chelex, seguido de purificación en columna. Secuenciamos segmentos amplificados por PCR de los genes rpoB, katG, embB, gyrA, gyrB, rpsL y rrs, los promotores inhA, eis y pncA y todo el gen pncA.

**Resultados:** Probamos nuestro ensayo en 1.208 frotis AFB obtenidos clínicamente de Ghana (n = 379), Kenia (n = 517), Uganda (n = 262) y Zambia (n = 50). La profundidad de la cobertura varía según el objetivo y el grado de extensión del portaobjetos, con un promedio de 300X a 12000X. Se obtuvo una cobertura de ≥20X para todos los objetivos en 870 (72%) diapositivas en general. Se detectaron perfiles de mutación mono-resistencia (5.9%), resistencia a múltiples fármacos (1.8%) y poli-resistencia (2.4%) en el 10% de los portaobjetos en general, y en más del 32% de los casos de retratamiento y seguimiento.

**Conclusión:** Este método rápido basado en ADN de frotis de AFB para determinar la resistencia a los medicamentos puede ser útil para el diagnóstico y la vigilancia de la tuberculosis farmacorresistente.