



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

MAPEO DE LOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR
UTILIZADOS EN LA DETECCIÓN DE HETERORRESISTENCIA EN
Mycobacterium tuberculosis: UNA REVISIÓN DE ALCANCE

MAPPING MOLECULAR DIAGNOSTIC METHODS FOR DETECTING
HETERORESISTANCE IN *Mycobacterium tuberculosis*: A SCOPING REVIEW

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO
EN TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO
CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

AUTORES

ANGELA PATRICIA CAMPOS CASTILLO

DIANA ALELI HUANCA BEDRILLANA

RAFAEL JUNIOR ISU GONZALES

ASESOR

ROCIO MARLENE ALIAGA NAVARRO

CO-ASESOR

LUIS ALEXANDER ORREGO FERREYROS

LIMA – PERÚ

2026

JURADO

Presidente: Dr. JUAN CARLOS AGAPITO PANTA

Vocal: Dra. LUPE YSABEL VIDAL VALENZUELA

Secretario: Mg. MARIA DEL CARMEN QUISPE MANCO

Fecha de sustentación: 18 de marzo de 2026

Calificación: Aprobado

ASESORES DE TESIS

ASESOR

Mg. ROCIO MARLENE ALIAGA NAVARRO

Departamento Académico de Tecnología Médica

ORCID: 0009-0005-3068-5295

CO-ASESOR

Mg. LUIS ALEXANDER ORREGO FERREYROS

Departamento Académico de Clínicas Médica

ORCID: 0000-0003-3502-2384

DEDICATORIA

A Dios, por darme la fortaleza para alcanzar esta meta; a mis padres, Mónica Castillo y Víctor Campos, por su amor, apoyo incondicional e inspiración; y a mis docentes, mentores y amigos, por su guía y enseñanzas.

Angela Patricia Campos Castillo

A mis padres, Lidia y Edwin; a mis abuelos, Avelina, Escolástica y Donatilio; a Eliseo y Jazmín, por su amor y confianza; a Geraldine y Amelia, por ocupar un lugar especial en mi vida; a Iris, por acompañar mis noches de desvelo; y especialmente a Rafael, por ser mi lugar seguro en los momentos difíciles.

Diana Aleli Huanca Bedrillana

A mis padres, por apoyarme hasta culminar mis estudios y enseñarme a ser perseverante; a mi hermana, por alegrarme con sus ocurrencias; y a mis amigas y compañeras de tesis, por compartir este exigente y hermoso proceso. En especial, a Diana, por acompañarme en todo momento.

Rafael Junior Isu Gonzales

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestros asesores por su orientación, dedicación y valiosos aportes. A nuestras familias y a todas las personas que contribuyeron a la realización de este proyecto.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Este proyecto de tesis fue autofinanciado por los investigadores.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Los egresados:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	CAMPOS CASTILLO ANGELA PATRICIA
2.	HUANCA BEDRILLANA DIANA ALEI
3.	ISU GONZALES RAFAEL JUNIOR

Pertenecientes al programa de la **CARRERA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**, autores del trabajo titulado: **MAPEO DE LOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR UTILIZADOS EN LA DETECCIÓN DE HETERORRESISTENCIA EN Mycobacterium tuberculosis: UNA REVISIÓN DE ALCANCE** el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el **TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA** bajo la modalidad de **TESIS**.

En calidad de docentes asesores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
1.	ALIAGA NAVARRO ROCIO MARLENE	MEDICINA	ASESOR
2.	ORREGO FERREYROS LUIS ALEXANDER	MEDICINA	CO-ASESOR

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de **12%**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **trn:oid:::1:3626077516**; fecha de entrega: **11-08-2026**).
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 11 de agosto del 2026.**

Firma del asesor
N° DNI: 10248998
ORCID: 0009-0005-3068-5295

Firma del Co-asesor
N° DNI: 41202355
ORCID: 0000-0003-3502-2384



TABLA DE CONTENIDOS

	Pág.
RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	5
III. MATERIALES Y MÉTODOS	6
IV. RESULTADOS	12
V. DISCUSIÓN	18
VI. LIMITACIONES	28
VII. CONCLUSIONES	29
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
IX. TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS	44

RESUMEN

Antecedentes: La heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis* constituye un reto para la salud pública, pues está asociada con la propagación de cepas resistentes, la prescripción de tratamientos inadecuados y, por ende, con el fracaso terapéutico. Pese a que el método de proporciones en agar es el Gold Standard, cuenta con ciertas limitaciones relacionadas a la complejidad en el procesamiento, tiempo de respuesta y costos. En respuesta a esta problemática, surgieron los métodos moleculares, caracterizados por ser rápidos y sensibles; sin embargo, al no contar con protocolos estandarizados, su implementación está limitada. **Objetivo:** Mapear la evidencia sobre los métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis*. **Materiales y métodos:** Se ejecutó una revisión de alcance bajo la metodología del JBI y la declaración PRISMA-ScR. Las bases de datos consultadas incluyeron: Cochrane, Embase, Medline, SciELO, LILACS, Scopus y literatura gris (Google Scholar, ALICIA y repositorios universitarios). Las búsquedas fueron efectuadas entre el 30 de Septiembre y el 7 de Diciembre de 2025, sin aplicar restricciones por año ni por tipo de publicación. Se identificaron 3960 registros, de los cuales únicamente 36 cumplieron los criterios de elegibilidad. **Resultados:** Se observó un predominio de investigaciones que evaluaron la detección de heterorresistencia frente a rifampicina e isoniazida, destacando *rpoB* y *katG* como dianas genéticas. Los ensayos de hibridación, especialmente LPA, fueron los métodos más reportados, mientras que dPCR y TDS-SMOR mostraron los menores límites de detección. Se evidenció alta heterogeneidad en los parámetros técnico-analíticos y escasa información sobre costos y tiempos de respuesta. **Conclusión:** La evidencia muestra una alta heterogeneidad en los métodos moleculares para detectar heterorresistencia en *M. tuberculosis*. La falta de estandarización limita su comparabilidad y aplicación clínica, por lo que se requieren consensos metodológicos e investigaciones que incorporen indicadores operativos clave.

Palabras clave: Diagnóstico precoz; Heterorresistencia; *Mycobacterium tuberculosis*; Técnicas de Diagnóstico Molecular; Tuberculosis Resistente a Múltiples Medicamentos.

ABSTRACT

Background: Heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis* poses a public health challenge, as it is associated with the spread of resistant strains, the prescription of inadequate treatments, and consequently, therapeutic failure. Although the agar proportion method is the gold standard, it has certain limitations related to processing complexity, turnaround time, and costs. In response to this problem, molecular methods emerged, characterized by their speed and sensitivity; however, their implementation is limited due to the lack of standardized protocols.

Objective: To map the evidence on molecular methods used for the detection of heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Materials and methods:** A scoping review was conducted using the JBI methodology and the PRISMA-ScR statement. The databases consulted included: Cochrane, Embase, Medline, SciELO, LILACS, Scopus, and grey literature (Google Scholar, ALICIA, and university repositories). The searches were conducted between September 30 and December 7, 2025, without restrictions by year or publication type. A total of 3960 records were identified, of which only 36 met the eligibility criteria. **Results:** A predominance of studies evaluating the detection of heteroresistance to rifampicin and isoniazid was observed, highlighting *rpoB* and *katG* as genetic targets. Hybridization assays, especially LPA, were the most frequently reported methods, while dPCR and TDS-SMOR showed the lowest limits of detection. High heterogeneity was evident in the technical-analytical parameters, and there was limited information on costs and turnaround times. **Conclusion:** The evidence shows high heterogeneity in molecular methods for detecting heteroresistance in *M. tuberculosis*. The lack of standardization limits their comparability and clinical application; for that reason, methodological consensus and research including key operational indicators are needed.

Keywords: Early diagnosis; Heteroresistance; *Mycobacterium tuberculosis*; Molecular Diagnostic Techniques; Multidrug-Resistant Tuberculosis.

I. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis (TB), infección bacteriana causada por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), sigue siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, pese a ser prevenible y tratable mediante esquemas terapéuticos eficaces. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2023 se notificaron aproximadamente 10,8 millones de casos y 1,25 millones de muertes por TB (1). Clínicamente, la enfermedad puede presentarse como tuberculosis pulmonar, la forma más frecuente (70 a 80% de casos) y de mayor potencial de transmisión, o como tuberculosis extrapulmonar (20 a 45% de casos), que afecta órganos como riñones, cerebro, huesos, piel, entre otros (2).

En la Región de las Américas, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) reportó, en 2023, un incremento del 20% en los casos nuevos respecto a 2015, acompañado de un aumento del 44% en las muertes (3). En Perú, datos de la Sala Situacional de Tuberculosis 2024, mostraron que, entre 2021 y 2024, la tasa de letalidad (fallecidos durante el tratamiento de TB) aumentó aproximadamente un 25%, pasando de 4,8 a 6,0 por 100 000 habitantes. Este incremento continuo refleja un deterioro reciente en la supervivencia de los pacientes con TB, posiblemente asociado a factores como la resistencia a fármacos y las limitaciones diagnósticas, los cuales afectan en gran medida la eficacia del tratamiento antituberculoso (4).

El tratamiento estándar de la TB utiliza antibióticos orales de primera línea como rifampicina (RIF), isoniazida (INH), pirazinamida (PZA) y etambutol (EMB). Sin embargo, el uso inadecuado de estos fármacos ha conducido a la aparición de cepas resistentes, dando origen a la TB multidrogorresistente (TB-MDR) y extensamente

resistente (TB-XDR), cuyo manejo requiere esquemas de tratamiento prolongados (18–24 meses) que suelen tener resultados terapéuticos limitados (5).

Es importante mencionar que existe un fenómeno estrechamente relacionado con el desarrollo de mecanismos de resistencia, el cual, a su vez, incrementa significativamente las brechas terapéuticas, esto es la Heterorresistencia (HTR) (6).

Gamberale A. et al. definen la HTR de *M. tuberculosis* como la coexistencia, en un mismo paciente, de subpoblaciones bacterianas sensibles y resistentes a un mismo antibiótico, ya sea por dos variantes de una misma cepa (HTR monoclonal) o por dos cepas distintas (HTR policlonal) (7). La aparición de dicho fenómeno podría atribuirse a una infección mixta (coinfección con cepas resistentes y sensibles a un mismo antibiótico); o a mutaciones emergentes dentro de una población inicialmente sensible, lo cual daría lugar a la transformación de dicha clona a ser resistente (8). En consecuencia, las cepas sensibles provocan el enmascaramiento de las cepas resistentes, lo cual retrasa y dificulta el diagnóstico de TB-MDR y conduce a fallos terapéuticos (9).

El diagnóstico de resistencia de MTB se realiza tradicionalmente mediante métodos fenotípicos como el método de proporciones en agar (APM), capaz de detectar subpoblaciones resistentes a partir del 1% (9). Debido a su gran capacidad de detección, el APM se ha empleado como comparador para evaluar la sensibilidad analítica de técnicas genotípicas como el sistema GeneXpert y el secuenciamiento del genoma completo (WGS) (10). No obstante, el APM también presenta importantes limitaciones, tales como: tiempos de respuesta prolongados, costos elevados, necesidad de infraestructura especializada, y, en general, un mayor riesgo potencial para el paciente, debido al retraso en la toma de decisiones clínicas (10,

11). Además, dicho método requiere un elevado nivel de manipulación de la muestra, lo cual aumenta el riesgo de contaminación cruzada y, a su vez, puede favorecer la selección de subpoblaciones sensibles y la pérdida de variantes resistentes (12).

Para superar estas limitaciones, hoy en día, las líneas de investigación sobre HTR están priorizando la evaluación y estudio de métodos moleculares. Entre ellos se incluyen métodos basados en hibridación, PCR (reacción en cadena de la polimerasa), secuenciamiento y espectrometría de masas. Estas herramientas ofrecen mayor rapidez (en algunos casos, menos de 24 horas), alta sensibilidad para detectar poblaciones minoritarias resistentes (hasta 0,01%) y la detección de poblaciones bacterianas mixtas (13, 14, 15). Además, ensayos como la PCR digital (dPCR) y la secuenciación pueden realizarse a partir del material genético extraído directamente de muestras clínicas como el esputo. Con ello, deja de ser necesaria la realización de cultivos primarios o subcultivos para la obtención del ADN, lo cual reduce significativamente el nivel de manipulación de la muestra y, por lo tanto, el riesgo de perder variantes resistentes y obtener resultados falsos negativos es mucho menor (13, 14, 16).

1.1. Justificación

Según todo lo expuesto, la Heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis* constituye un reto para la salud pública, por lo que se debe afrontar rápida y eficientemente. Si bien la prueba fenotípica APM es el método de referencia o Gold standard para la detección de HTR, la dificultad en el procesamiento y los costos asociados limitan su implementación en entornos con bajos recursos (10). En tal

sentido, es primordial realizar un mapeo y síntesis de la evidencia disponible sobre los métodos moleculares empleados para la detección de HTR en MTB.

En el contexto peruano, caracterizado por ser una región con alta carga de tuberculosis MDR, resulta crucial realizar la implementación de pruebas moleculares orientadas a detectar la HTR en *M. tuberculosis*, ya que ello permitiría mejorar las estrategias de control de TB al reducir la transmisión de cepas resistentes. De la misma manera, esto aplicaría para otros países con escasos recursos y alta carga de la enfermedad. Esta problemática respalda la idea de realizar el mapeo a nivel global.

Por otro lado, un metaanálisis realizado por Ye M et al., analizó y reportó la prevalencia de HTR frente a rifampicina, isoniazida, etambutol y fluoroquinolonas, e incluyó un análisis secundario de subgrupos por año, calidad del estudio y métodos de detección utilizados. Sin embargo, no reportó las características operativas o técnico analíticas de dichos métodos (9).

Por lo tanto, pese al creciente número de investigaciones, hasta la fecha todavía no se ha realizado una síntesis estructurada que integre y analice las características de los métodos moleculares aplicados para la detección de HTR en *M. tuberculosis*, lo cual demuestra la existencia de un vacío en la literatura.

Ante lo expuesto, se planteó la siguiente pregunta de investigación: ¿Qué métodos moleculares han sido descritos en la literatura para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis* y qué características presentan?

II. OBJETIVOS

Objetivo general

Mapear la evidencia disponible sobre los métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis*.

Objetivos específicos

1. Describir los genes diana reportados en la literatura identificados mediante métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis* frente a drogas de primera línea.
2. Identificar la frecuencia de los métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis* según la literatura disponible.
3. Describir las características técnico-analíticas de los métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis* según las fuentes de evidencia.
4. Describir las características operativas de los métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis* según la literatura disponible.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Diseño de estudio

Este proyecto corresponde a un estudio secundario de tipo revisión de alcance (Scoping Review), siguiendo la metodología del Joanna Briggs Institute (JBI) para Revisiones de alcance. La formulación de la pregunta de investigación se realizó con un enfoque basado en el marco PCC (Población, Concepto y Contexto).

1. **Población:** Material genético de *Mycobacterium tuberculosis*.
2. **Concepto:** Métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia.
3. **Contexto:** Entornos clínicos o de investigación a nivel mundial.

3.2. Protocolo y registro

La presente investigación fue redactada conforme a la versión 01.00/06-05-2024 de la normativa de la Universidad Peruana Cayetano Heredia titulada “Normas y procedimientos para la elaboración, desarrollo, presentación, evaluación y publicación de trabajos de investigación y tesis”. El protocolo fue desarrollado siguiendo las directrices del Manual del JBI y la declaración PRISMA-ScR (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses extension for Scoping Reviews).

La versión final del protocolo fue revisada por el equipo de investigación y registrada en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI) – Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología (DUICT).

3.3. Aspectos éticos

Este proyecto fue registrado en el SIDISI - DUICT el 5 de septiembre de 2025 y fue aprobado por el Comité de Ética de la UPCH (CIE-UPCH) el 29 de septiembre de 2025. Al tratarse de un estudio secundario que no involucró intervención directa ni acceso a datos identificables de participantes humanos, no se requirió consentimiento informado.

3.4. Criterios de elegibilidad

3.4.1. Criterios de inclusión

- Estudios que evaluaron métodos moleculares para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis*.
- Investigaciones en las que los métodos moleculares hayan sido evaluados a partir de ADN obtenido directamente de muestras clínicas, ADN derivado de cultivos (proveniente de muestras clínicas o cepas caracterizadas), y mezclas artificiales de ADN (realizadas a partir de cepas caracterizadas y/o cepas de referencia como H37Rv)
- Estudios que analizaron la heterorresistencia frente a drogas orales de primera línea (rifampicina, isoniazida, pirazinamida y etambutol).
- Investigaciones desarrolladas en cualquier entorno geográfico o contexto (clínico, epidemiológico o de investigación).
- Estudios con diseños primarios o secundarios.
- Publicaciones en inglés, portugués, chino o español, sin restricción de año de publicación.

3.4.2. Criterios de exclusión

- Investigaciones que analizaron exclusivamente métodos fenotípicos, sin incluir métodos moleculares para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis*.
- Estudios en los que la heterorresistencia no fue claramente reportada o diferenciada de la resistencia homogénea.
- Investigaciones que evaluaron la heterorresistencia únicamente frente a drogas inyectables de primera línea u otras drogas no incluidas en el esquema básico.
- Publicaciones duplicadas, cartas al editor o actas de conferencias

3.5. Definición operacional de variables

Las variables incluidas fueron definidas operacionalmente para garantizar la consistencia en la extracción y el análisis de los datos. **(Anexo 1)**

3.6. Fuentes de información

Se incluyeron las bases de datos Cochrane Library, Embase, Medline, SciELO, Lilacs y Scopus. Para la identificación de fuentes de literatura gris se incluyeron los sitios web Google Scholar, ALICIA (Concytec) y el repositorio de la Universidad Peruana Cayetano Herrera. Las búsquedas se ejecutaron tras la aprobación del protocolo por el CIE-UPCH, del 30 de septiembre de 2025 hasta el 7 de diciembre del mismo año.

3.6.1. Estrategia de búsqueda

Para el diseño de las estrategias de búsqueda se combinaron términos controlados (MeSH/DeCS) y términos libres relacionados con la heterorresistencia en *M. tuberculosis*, los métodos moleculares empleados para su diagnóstico y las drogas antituberculosas de primera línea. Los términos fueron integrados mediante operadores booleanos (AND y OR), dando lugar a estrategias específicas para cada base de datos y sitios web. Estas estrategias fueron aplicadas directamente en los motores de búsqueda de las fuentes mencionadas. La estrategia completa detallada se presenta en la sección de Anexos. **(Anexo 2)**

Adicionalmente, se implementó el proceso de búsqueda de citas, con el objetivo de reducir el riesgo de omisión de literatura relevante. Al ejecutar las búsquedas no se aplicaron restricciones por fecha ni por tipo de publicación, pudiéndose obtener resultados de estudios publicados o indexados, revisados por pares, manuscritos o pre-prints.

Para la búsqueda en Google Scholar, base de datos que almacena un gran volumen de registros, se aplicó la metodología de búsqueda establecida por el Instituto Canadiense de Información en Salud (CIHI), la cual recomienda usar el algoritmo del propio motor de búsqueda para ordenar los resultados según relevancia, de estos se tomaron en cuenta únicamente los 100 primeros registros para evaluar su elegibilidad (17). Los resultados obtenidos en cada base de datos y sitios web fueron exportados en formato .ris para su posterior importación en el gestor de referencias Mendeley.

3.6.2. Selección de fuentes de evidencia

Todos los investigadores (RI, AC, DH) participaron activamente en el proceso de selección de las fuentes de evidencia. En la primera fase, todos los resultados de búsqueda (.ris) fueron importados al gestor de referencias Mendeley, lo cual permitió la identificación y eliminación automática de duplicados. Posteriormente los tres investigadores (RI, AC, DH) realizaron el cribado independiente y en paralelo de los títulos y resúmenes para identificar aquellos que sean potencialmente relevantes.

En la segunda fase, los textos completos de los artículos seleccionados fueron evaluados por los investigadores AC y DH para confirmar su elegibilidad según los criterios de inclusión y exclusión. Las discrepancias entre los investigadores fueron resueltas por el investigador RI, quien actuó como un tercer revisor. Esto garantizó una selección de estudios rigurosa, coherente y libre de sesgos.

El número de registros identificados en cada fase se presentó mediante un diagrama de flujo PRISMA-ScR. (**Anexo 3**)

3.7. Extracción y análisis de datos

La extracción de datos se realizó mediante una tabla estructurada elaborada en Microsoft Excel, con la finalidad de caracterizar los estudios incluidos. De cada estudio seleccionado se extrajeron los siguientes datos: autor, año de publicación, lugar de procedencia de la muestra, tipo y diseño de estudio, origen

de la muestra, material genético empleado, tamaño de muestra, métodos moleculares y antibióticos evaluados. **(Tabla 1)**

A partir de la tabla de extracción, adicionalmente se elaboraron siete tablas de síntesis alineadas con los objetivos específicos del estudio, lo cual facilitó la verificación del cumplimiento de cada uno de ellos. El análisis se realizó mediante una síntesis descriptiva y categorización de la información reportada, permitiendo organizar los resultados según características metodológicas, genéticas y operativas relacionadas con la detección molecular de la heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis*. La revisión se centró en mapear la evidencia disponible, por lo que no se evaluó la calidad metodológica de los estudios.

IV. RESULTADOS

Como se observa en el diagrama PRISMA (**Anexo 3**), las búsquedas en bases de datos y archivos permitió recuperar 808 registros, mientras que la identificación de estudios por otros métodos aportó 3 152 registros, alcanzando un total de 3 960 registros. Tras la eliminación de duplicados, el cribado de títulos y resúmenes, y la evaluación de textos completos, 36 estudios fueron incluidos en el análisis final.

4.1. Caracterización de estudios incluidos

Se incluyeron un total de 36 estudios primarios, todos con diseño analítico (100,00%), publicados entre los años 2009 y 2025. Del total, 8 estudios (22,22%) se publicaron entre 2009 y 2014, 12 (33,33%) entre 2015 y 2020 y 16 (44,44%) entre 2021 y 2025.

Asimismo, 23 estudios (63,89%) presentaron un diseño observacional y 13 (36,11%) un diseño experimental. La mayoría de los estudios (91,67%) correspondió a artículos publicados en revistas científicas, no obstante, también se incluyó un manuscrito aceptado (2,78%) y 2 pre-prints (5,56%).

En relación con la procedencia de las muestras, se encontró que la mayor parte de las muestras provino de Asia (58,33%), seguido de África (27,78%), Europa (13,89%) y América (13,89%). Asimismo, 5 estudios (13,89%) fueron de carácter multicéntrico, con participación de instituciones de dos o más países.

La mayoría de los estudios utilizó muestras clínicas (91,67%), principalmente esputo (75,00%). Las muestras extrapulmonares se reportaron en 2 estudios (5,56%), mientras que 3 estudios (8,33%) incluyeron tanto muestras de esputo

como extrapulmonares. Un estudio (2,78%) reportó muestras pulmonares sin especificar su origen exacto. Adicionalmente, 6 estudios (16,67%) emplearon cultivos bacterianos, y 11 estudios (30,56%) partieron de cepas caracterizadas, ya sea de manera exclusiva o junto a cepas de referencia como H37Rv. (**Tablas 1 y 2**)

4.2. Antibióticos evaluados en la detección de heterorresistencia en *M. tuberculosis*

Los antibióticos de primera línea evaluados fueron rifampicina (80,56%), isoniazida (75,00%), pirazinamida (13,89%) y etambutol (13,89%) (**Tabla 2**). Además, se reportaron un total de 139 variantes genéticas asociadas a resistencia antibiótica. (**Tabla 3**)

Para rifampicina, el gen más frecuente fue *rpoB*, con 75 registros (53,96%), destacando las variantes S531L (15,11%), H526Y (7,91%), D516V (5,76%) y H526D (5,04%). En el caso de isoniazida, los genes reportados fueron *katG* (19,42%), *inhA* (15,11%) y *ahpC* (0,72%), siendo la variante S315T en *katG* la más frecuente (17,27%).

Para pirazinamida, se reportaron variantes en el gen *pncA* (6,47%), mientras que para etambutol se identificaron variantes en los genes *embA* (0,72%) y *embB* (3,60%), incluyendo la variante M306V (1,44%). (**Tabla 3**)

4.3. Métodos moleculares para la detección de heterorresistencia en *M. tuberculosis*

Se identificaron 53 usos metodológicos, agrupados según su principio de funcionamiento. Los métodos basados en PCR y en secuenciamiento

representaron el 33,96% de usos metodológicos cada uno, seguidos por los métodos basados en hibridación (30,19%) y espectrometría de masas (1,89%).

Entre los métodos específicos, el LPA para isoniazida y rifampicina fue el más reportado (28,30%), seguido por el secuenciamiento Sanger (15,09%), el qPCR con análisis de curva de fusión (15,09%), el WGS (11,32%) y el dPCR (9,43%). Otros métodos reportados incluyeron TDS SMOR (5,66%), qPCR (3,77%), entre otros. Cabe aclarar que un mismo estudio pudo aportar más de un uso metodológico. **(Tabla 4)**

4.4. Características técnico-analíticas de los métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia en *M. tuberculosis*

Los valores de límite de detección (LOD) reportados variaron según el método, el gen evaluado y el estudio. Adicionalmente, en los métodos basados en secuenciamiento masivo (WGS, TDS SMOR y NGS basado en amplicones), se describieron criterios bioinformáticos que incluyeron alineamiento al genoma de referencia H37Rv, umbrales mínimos de profundidad de cobertura, frecuencia alélica variante (VAF) y filtros de calidad de lectura.

Los métodos cualitativos, tales como los métodos basados en hibridación y el secuenciamiento Sanger, no tienen un LOD intrínseco. No obstante, algunos estudios estimaron el LOD mediante mezclas artificiales de ADN con proporciones conocidas de poblaciones bacterianas sensibles y resistentes. En este contexto, se reportó un LOD de 5% en el método LPA para isoniazida y rifampicina y 50% en el LPA para rifampicina. Para el secuenciamiento Sanger, los LOD estimados oscilaron entre 20% y 50%.

Los LOD más bajos fueron reportados para dPCR (0,01 a 0,1%) y TDS SMOR (0,1 a 1%). Además, para WGS, los LOD reportados variaron entre 1%, 5% y 10%, mientras que en dos estudios el LOD dependió de la profundidad y cobertura, por lo que no fue reportado explícitamente. **(Tabla 5)**

4.5. Características operativas de los métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia en *M. tuberculosis*

En relación con el procesamiento de la muestra y el material genético empleado, 23 estudios (63,89%) realizaron cultivos previos en medios sólidos (LJ, 7H10) o líquidos (MGIT), seguidos de la extracción de ADN. En estos casos, el material genético correspondió a ADN post cultivo. Asimismo, 13 estudios (36,11%) emplearon ADN directo obtenido tras procesos de descontaminación, principalmente mediante el método con NALC-NaOH. Finalmente, 11 estudios (30,56%) emplearon mezclas artificiales de ADN, obtenidas a partir de suspensiones bacterianas de cepas caracterizadas de MTB o cepas de referencia como H37Rv. Un solo estudio (2,78%) no especificó la procedencia del material genético. **(Tablas 2 y 6)**

Del total de 53 usos metodológicos, se determinó la frecuencia del material genético empleado según método molecular **(Tabla 7)**. De los métodos basados en hibridación, el LPA para isoniazida y rifampicina se realizó en mayor frecuencia a partir de ADN directo (11,32%), como ADN post cultivo (11,32%). En menor proporción se emplearon mezclas artificiales de ADN (3,77%) y solo un estudio (1,89%) no especificó el origen del ADN empleado. Por otro lado, el

LPA para rifampicina fue reportado exclusivamente utilizando mezclas artificiales de ADN (1,89%).

En el caso de los métodos basados en secuenciamiento, para el secuenciamiento Sanger se reportó el uso de ADN directo (5,66%), ADN post cultivo (5,66%) y mezclas artificiales de ADN (3,77%). Por otro lado, el WGS fue aplicado principalmente sobre ADN post cultivo (9,43%), y en menor proporción sobre mezclas artificiales de ADN (1,89%). El NGS basado en amplicones se reportó únicamente a partir de ADN directo (1,89%), mientras que TDS SMOR fue empleado exclusivamente a partir de ADN post cultivo (5,66%).

Entre los métodos basados en PCR, dPCR fue utilizado tanto con ADN directo (5,66%) como con mezclas artificiales de ADN (3,77%). Por otro lado, los métodos qPCR (3,77%), TB-DzT (1,89%), y qPCR basada en cebadores Super Selectivos (1,89%) utilizaron solo mezclas artificiales de ADN, mientras que MLP-RAP se reportó utilizando únicamente ADN directo (1,89%). Finalmente, el método qPCR con análisis de curva de fusión fue evaluado empleando los 3 tipos de muestras: ADN directo (5,66%), ADN post cultivo (3,77%) y mezclas artificiales de ADN (5,66%).

Por otra parte, para los métodos basados en espectrometría de masas, Nucleotide MALDI-TOF MS fue reportado utilizando únicamente ADN directo (1,89%).

(Tabla 7)

Con respecto al tiempo de respuesta y los costos relativos, los hallazgos fueron reportados por un número limitado de estudios. La mayoría de los métodos no reportó información sobre dichas variables, las cuales fueron consignadas como

no reportadas (NR). Los valores de tiempo de respuesta descritos oscilaron entre 1 hora para MLP-RAP, 1,45 horas para qPCR con análisis de curva de fusión, 4 horas para TB-DzT, 24 horas para dPCR, y 72 horas para WGS. En relación con los costos, únicamente un estudio reportó un valor aproximado de 4,5 \$ para el método MLP-RAP. **(Tabla 8)**

V. DISCUSIÓN

La presente revisión de alcance permitió mapear de manera estructurada la evidencia disponible sobre los métodos moleculares utilizados para la detección de heterorresistencia (HTR) en *Mycobacterium tuberculosis*. El análisis de los 36 estudios incluidos evidenció una marcada heterogeneidad en los métodos moleculares empleados, así como en los genes diana, antibióticos y condiciones operativas bajo las cuales se aplicaron dichas técnicas. En conjunto, los resultados han permitido identificar tendencias, vacíos relevantes en la literatura y oportunidades de investigación futura, en concordancia con el propósito de esta revisión de alcance.

Además, se observó que la mayor cantidad de muestras provinieron de los continentes de Asia y África, lo cual es consistente con la distribución global de la carga de TB reportada por la OMS en 2024, la cual registró 34% de casos nuevos en la región de Asia Sudoriental y el 25% en África (18). Asimismo, se observó únicamente 3 estudios con muestras provenientes de América Latina siendo los países implicados Brasil (n=2) y Perú (n=1). A pesar de tratarse de países con alta carga de TB-MDR, existen escasos estudios enfocados en la detección de HTR en la región, lo que pone de manifiesto una brecha importante de contar con nuevas investigaciones en este campo (58).

Los resultados muestran que la mayor parte de la evidencia disponible se concentra en la detección de HTR frente a rifampicina (RIF) e isoniazida (INH), ya que estos antibióticos fueron evaluados en más de tres cuartas partes de los estudios incluidos. Este hallazgo es consistente con el rol central de ambos

fármacos en los regímenes estándar recomendados internacionalmente para el tratamiento de la tuberculosis (TB), así como también, con su valor como marcadores clave de TB-MDR (19).

Una de las principales razones por las que los genes *rpoB* y *katG* han sido priorizados como dianas moleculares es la existencia de regiones hotspot bien caracterizadas en ambos genes (20). En el caso de *rpoB*, la región determinante de resistencia a rifampicina (RRDR) concentra un número limitado de mutaciones recurrentes, lo que ha facilitado el desarrollo de métodos moleculares dirigidos, reproducibles y relativamente estandarizados. Asimismo, las variantes genéticas identificadas con mayor frecuencia en *rpoB* (S531L, H526Y, D516V y H526D) son clínicamente relevantes, ya que se asocian con una alta probabilidad de conferir resistencia a RIF.

Específicamente S531L, es una variante que ha sido reportada en diversas investigaciones, donde se menciona que su presencia está asociada con un costo de fitness relativamente bajo. Esto significa que las bacterias que presentan dicha mutación son capaces de conservar, en su mayoría, su capacidad para sobrevivir y transmitirse, comparadas con bacterias que portan otras mutaciones de resistencia a RIF. Por lo tanto, S531L podría contribuir a la persistencia y propagación de cepas multirresistentes (20, 21, 22).

Por otro lado, con respecto a la resistencia frente a INH, la variante S315T, la cual afecta al gen *katG*, se considera una de las principales causas de resistencia de alto nivel. Además, se ha relacionado con resultados menos favorables del tratamiento con medicamentos antituberculosos. En cambio, las mutaciones en

el gen *inhA* suelen conferir resistencia de bajo nivel e incluso, en algunos casos, permiten el uso de dosis altas de INH como parte del tratamiento. Por ello, la inclusión frecuente de *katG* en plataformas comerciales y ensayos experimentales orientados al estudio de la resistencia y la HTR podría deberse a su mayor relevancia clínica, en comparación con mutaciones en *inhA* (23).

A diferencia de RIF e INH, la HTR frente a pirazinamida (PZA) y etambutol (EMB) se analizó en un menor número de estudios. Esto podría deberse a que las dianas moleculares asociadas a resistencia frente a dichos fármacos son genéticamente más complejas.

En el caso de la resistencia a PZA, el gen de interés es *pncA*, el cual se caracteriza por tener mutaciones distribuidas a lo largo de toda su secuencia codificante. Esto explica el por qué investigadores argumentan que este gen carece de hotspots definidos, es decir, que las variantes no se concentran en regiones génicas específicas, como sí ocurre en el caso del gen *rpoB* con su región RRDR. Esta amplia variabilidad dificulta la estandarización de los métodos moleculares, sobre todo en la detección de HTR, donde es fundamental identificar variantes presentes en proporciones minoritarias (24).

A su vez, *embA* y *embB*, dianas genéticas usualmente asociadas a resistencia a EMB, presentan patrones heterogéneos de mutaciones, así como también, se caracterizan por tener una asociación variable con el fenotipo de resistencia. Esto quiere decir que, una mutación presente en dichos genes no necesariamente implica que exista resistencia frente a EMB. En ese sentido, Singh A. et al, sostienen que variantes como M306V (mutación presente en el gen *embB*) no

siempre se correlacionan de forma consistente con resistencia clínica, lo cual podría generar dificultades durante la interpretación de resultados (20).

Los resultados descritos por los estudios incluidos en esta revisión no buscan determinar qué método es superior, sino mostrar cuáles fueron los genes y los métodos moleculares analizados con mayor frecuencia. Sin embargo, la síntesis de dichos hallazgos ha revelado que existe un vacío en la literatura sobre la HTR asociada a genes con una alta complejidad genética, como *pncA*, *embA* y *embB*. Por ello, se requieren investigaciones más sólidas que analicen a mayor profundidad estas dianas genéticas.

En relación a los métodos moleculares, se observó que ensayos basados en secuenciamiento e hibridación fueron reportados con mayor frecuencia. Dentro del grupo de ensayos que tienen como principio de funcionamiento la hibridación, el Line Probe Assay (LPA) fue el más común. Este hallazgo puede deberse a múltiples factores, entre ellos que: el LPA es una prueba que cuenta con una amplia disponibilidad comercial, está incluida en algoritmos de diagnóstico establecidos por organizaciones nacionales e internacionales y, debido al hecho de que ya existen protocolos para su implementación en laboratorios de referencia, lo cual facilitaría el proceso de la puesta en marcha.

A la fecha, existen 2 plataformas comerciales que emplean la metodología de hibridación reversa, estas son: INNO-LiPA Rif TB (Innogenetics, Bélgica) y Genotype MTBDRplus (Hain Lifescience, Alemania). Dichas plataformas cuentan con protocolos de procesamiento estandarizados e incluso han sido recomendadas por organizaciones internacionales como la OMS (25).

En cuanto a la interpretación de resultados, Desikan P. et al. y Mekonnen D. et al. explican que para identificar la HTR mediante LPAs se deben evidenciar 2 bandas coloreadas simultáneamente: la banda “Wild Type” (WT) y su banda mutante (MUT) correspondiente. Ese tipo de resultado sería un indicador de que en la muestra evaluada coexisten subpoblaciones sensibles y resistentes (32, 52).

Otro punto a considerar es que, si bien este tipo de métodos ya están estandarizados, su capacidad para detectar subpoblaciones bacterianas minoritarias es relativamente reducida, en comparación con métodos como la secuenciación de nueva generación (NGS) e incluso métodos fenotípicos como el método de proporciones en agar (APM). Como evidencia de ello se tiene que, por un lado, los LOD reportados para LPA al evaluar la resistencia a RIF fueron entre un 5 a 60%, mientras que al usar el método fenotípico APM, es posible detectar subpoblaciones bacterianas presentes en proporciones cercanas al 1% (10).

Por consiguiente, el uso de LPAs para la detección de HTR es muy variable y depende en gran medida del tipo de mutación estudiada, pero sobre todo de la proporción de bacilos resistentes presentes en la muestra, ya que dicha variable está relacionada directamente con el LOD de la prueba. Por lo tanto, si se planea implementar este ensayo para ese fin, se debe realizar una evaluación exhaustiva, ya que la HTR no detectada podría dar lugar a la prescripción de tratamientos inadecuados, conllevando así al fracaso terapéutico.

Además, se observó un aumento progresivo en la cantidad de estudios que emplearon métodos basados en secuenciación para detectar HTR durante los

últimos 5 años. Esto puede deberse a que este tipo de métodos han ido ganando relevancia en el ámbito clínico debido a su alta sensibilidad para detectar variantes existentes en proporciones mínimas, a diferencia de otras tecnologías. No obstante, su implementación aún está limitada debido a los costos, infraestructura y la ausencia de protocolos estandarizados por parte de organismos internacionales como la OMS (26).

Entre los métodos reportados, la PCR digital (dPCR) se identificó como una prueba emergente destacada principalmente por su alta sensibilidad analítica. Entre otras ventajas resaltan, además, su alta sensibilidad y especificidad para poder detectar variantes presentes en proporciones minoritarias, la estabilidad de la reacción frente a inhibidores y la cuantificación absoluta del material genético sin necesidad de curvas estándar. En ese sentido, dichas características pueden aumentar la reproducibilidad interlaboratorial y, a su vez, sitúan a la dPCR como un ensayo con una ventaja potencial respecto a otros métodos para la detección de HTR (27, 28).

Sin embargo, un punto importante a considerar es el hecho de que la dPCR fue evaluada en un número reducido de estudios y, en la mayor parte de los casos, el proceso de detección de HTR se realizó exclusivamente bajo condiciones experimentales. En consecuencia, no sería factible extrapolar los resultados a condiciones de procesamiento clínico rutinarias.

Si bien cada técnica tiene sus propias limitaciones, se identificó que las características técnico-analíticas suponen una brecha considerable. Esto debido a que dichos parámetros no han sido estandarizados o definidos en base a algún

protocolo en común entre los autores de los estudios incluidos, sino que cada investigador los definió de manera independiente, es decir, bajo sus propias condiciones de procesamiento. Entre todos los métodos moleculares, la secuenciación fue el ensayo con la mayor variabilidad en los LOD.

Es crucial recalcar una diferencia importante con respecto a los LOD. En los métodos cualitativos, este parámetro suele estimarse de manera experimental mediante el uso de mezclas de ADN con concentraciones conocidas. Por otro lado, en métodos moleculares tales como el secuenciamiento, la definición del LOD está vinculada a múltiples variables, siendo una de las más importantes la frecuencia alélica variante (VAF), que hace referencia al umbral a partir del cual el método es capaz de cuantificar una variante alélica. Asimismo, otras variables que guardan relación con el LOD son la cobertura, profundidad y criterios de calidad para el análisis de datos (29).

Para las investigaciones que reportaron explícitamente la variable VAF, se observó una gran variabilidad en los puntos de corte, desde valores usuales como $VAF \geq 5$ a 10%, hasta valores mínimos como $VAF \leq 1\%$. Cabe mencionar que estas diferencias estuvieron sujetas principalmente a los criterios de profundidad y cobertura definidos por los investigadores. Bajo esas condiciones, valores bajos de VAF pueden ser interpretados como un indicador de la existencia de subpoblaciones bacterianas minoritarias únicamente si la cobertura es lo suficientemente alta como para ser capaz de diferenciar una variante verdadera de un error de secuenciación (29).

Por el contrario, en estudios con menor profundidad de cobertura, la adopción de umbrales de VAF más elevados responde a la necesidad de reducir falsos positivos, aunque ello implique una menor capacidad teórica para detectar HTR. Tal es el caso de Whitfield M. et al., que reporta un LOD de 1% para el TDS SMOR (48), mientras que Shin S. et al. y Ghebrekristos Y. et al. reportan un LOD de 0,1% para ese mismo método (50, 54).

Asimismo, en el caso de WGS, los estudios realizados por Sharma K. et al. (47) y Nimmo C. et al. (56) no reportaron de manera explícita el VAF, limitándose a indicar un LOD dependiente de la profundidad. Esta falta de estandarización dificulta la comparación directa entre estudios y pone de manifiesto que el LOD en métodos basados en secuenciamiento no constituye un valor intrínseco del método, sino un parámetro dependiente del diseño analítico y del pipeline bioinformático empleado.

Con respecto a las características operativas, se identificaron limitaciones relacionadas con la manipulación de las muestras y el tipo de material genético empleado. En la mayoría de los estudios, el ADN se obtuvo a partir de cultivos bacterianos de MTB derivados de muestras clínicas o cepas caracterizadas. No obstante, la realización de cultivos puede favorecer la pérdida o desaparición de variantes resistentes, especialmente en el contexto de la HTR, donde dichas variantes suelen estar presentes en proporciones minoritarias.

Esto ocurre porque los cultivos se realizan sin presión antibiótica, lo que puede generar un efecto de cuello de botella. Bajo condiciones habituales o estándar de crecimiento bacteriano, las cepas sensibles pueden predominar sobre las

resistentes, dando como resultado el enmascaramiento de estas últimas y, en consecuencia, podría subestimarse el porcentaje de cepas heterorresistentes (12).

El uso de ADN extraído directamente de muestras clínicas, como el esputo o muestras extrapulmonares, reduce el nivel de manipulación pre-analítica y permite una mejor representación de la diversidad genética en condiciones in vivo, mejorando la detección de la HTR (12). Sin embargo, abordar la detección de HTR de esta manera también implica algunas limitaciones, por ejemplo: la obtención concentraciones reducidas de ADN de *M. tuberculosis*, una mayor presencia de potenciales inhibidores y la contaminación con ADN del huésped. Por lo tanto, es indispensable implementar protocolos optimizados de extracción y enriquecimiento del ADN diana.

Por otro lado, las mezclas artificiales de ADN son preparadas bajo condiciones de laboratorio altamente controladas, por ende, no siempre reflejan la complejidad y diversidad genética que caracteriza a las muestras clínicas, donde, algunos de los factores ya mencionados anteriormente (carga bacilar, inhibidores, contaminación cruzada y variabilidad preanalítica), pueden afectar el rendimiento diagnóstico.

En esta revisión se observó que existe poca información sobre el tiempo de respuesta y los costos de los métodos moleculares, ya que muchos de los estudios no incluyeron estos datos o los presentaron de manera incompleta. En los estudios que sí incluyeron esta información, el tiempo de respuesta mostró diferencias importantes entre los métodos moleculares. Vallejos K. et al. (58) reportaron un tiempo de 72 horas para el WGS; sin embargo, esto solo incluye

el proceso para generar los datos de secuenciación, mas no el análisis bioinformático.

Por otra parte, Domínguez J. et al. (23) estimaron que habitualmente el tiempo total para obtener resultados mediante WGS puede tomar entre 7 y 10 días, considerando todas las etapas del procedimiento. En ese mismo estudio, el LPA presentó un tiempo de respuesta de 2 a 4 días laborables. Sin embargo, ninguno de los estudios incluidos en esta revisión informó este dato para dicho método.

Respecto a los costos, solo uno de los estudios reportó un costo estimado concreto. Esta ausencia de datos evidencia un vacío importante en la literatura. Por ello, sería conveniente que investigaciones futuras incluyan datos operativos que ayuden a los programas de control de la tuberculosis a decidir si es viable implementar nuevas alternativas diagnósticas, especialmente en zonas con una alta carga de la enfermedad.

VI. LIMITACIONES

- No se evaluó de forma crítica la calidad metodológica de los estudios incluidos ni se realizó una síntesis cuantitativa de los resultados.
- La limitada cantidad de investigaciones realizadas en Perú muestra una brecha de conocimientos que dificulta la aplicación directa de los hallazgos encontrados en el contexto nacional. Esto resalta la necesidad de impulsar nuevas investigaciones sobre heterorresistencia en el país.
- Se encontraron pocos estudios centrados en genes relacionados con la resistencia a pirazinamida y etambutol, lo que indica que la heterorresistencia frente a estos fármacos ha sido poco estudiada.
- También se identificaron dificultades relacionadas con la complejidad del procesamiento de las muestras, la variabilidad en el origen del material genético y la ausencia de protocolos estandarizados. Estas limitaciones dificultan la aplicación de los métodos en la práctica clínica habitual.
- Los resultados de esta revisión dependen de la información proporcionada por los estudios incluidos. Se observó una gran variabilidad en la forma de reportar las variables operativas y técnico-analíticas, lo que muestra vacíos en la literatura y la necesidad de realizar estudios con protocolos estandarizados.

VII. CONCLUSIONES

- La rifampicina fue el fármaco más estudiado en la detección de heterorresistencia, seguida de la isoniazida. Este resultado puede explicarse por la importancia de ambos antibióticos en el tratamiento de la tuberculosis y por su utilidad como marcadores de resistencia. Asimismo, el gen *rpoB* fue la diana molecular evaluada con mayor frecuencia.
- Los métodos basados en secuenciación fueron usados en un menor número de estudios, en comparación con los ensayos basados en hibridación. El mayor uso de estos últimos podría estar relacionado con la rapidez para obtener resultados, la disponibilidad de la técnica y su capacidad para identificar mutaciones asociadas con resistencia en genes de interés.
- Se encontraron diferencias notables en los límites de detección (LOD) y criterios bioinformáticos reportados. Las técnicas dPCR y TDS-SMOR presentaron los LOD más bajos, lo que indica que podrían tener una mayor capacidad para detectar subpoblaciones resistentes presentes en proporciones minoritarias. A su vez, esto destaca la necesidad de estandarizar los criterios técnico-analíticos para facilitar la comparación y reproducibilidad de los resultados.
- El reporte de los costos y tiempos de respuesta fue limitado en los estudios incluidos. La falta de información disponible dificulta la evaluación de dichos métodos para ser implementados en diferentes contextos clínicos. No obstante, entre otras características operativas descritas, se identificó como ventaja la posibilidad de analizar el ADN extraído directamente de muestras clínicas.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Tuberculosis [Internet]. [citado 2025 jul 12]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>
2. Loddenkemper R, Lipman M, Zumla A. Clinical Aspects of Adult Tuberculosis. Cold Spring Harb Perspect Med [Internet]. 2015 Feb [citado 2025 jul 12]; 6(1): a017848. Disponible en: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a017848>
3. Organización Panamericana de la Salud. Tuberculosis [Internet]. [citado 2025 jul 15]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/tuberculosis>
4. MINSA/DGIESP-DPCTB-SIGTB. Sala Situacional de Tuberculosis 2024 [Internet]. 2025 [citado 2025 Ago 9]. Disponible en: <http://www.tuberculosis.minsa.gob.pe/DashboardDPCTB/recursos/20250801092404.pdf>
5. Palmero DJ, Lagrutta L, Inwentarz SJ, Vescovo M, Aidar OJ, González Montaner PJ, et al. Tratamiento de la tuberculosis drogoresistente en adultos y niños. Revisión narrativa. Med B Aires [Internet]. 2022 Feb [citado 2025 Ago 15];82(1):117-29. Disponible en: https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0025-76802022000100117&lng=es&nrm=iso&tlng=es
6. Chen J, Huang F, Yin X, Gu D. Assessments of Different Methods for Testing Heteroresistance to Rifampicin in Tubercle Bacillus. J Nanosci Nanotechnol [Internet]. 2018 Dic [citado 2025 Ago 20];18(12):8414-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1166/jnn.2018.16377>

7. Gamberale A, Bartoletti B, Cruz V, Matteo M, Latini C, Paul R, et al. An emerging problem: heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Medicina (Mex)* [Internet]. 2023 [citado 2025 Ago 20];83(5):799-803. Disponible en: <https://www.medicinabuenosaires.com/PMID/37870338.pdf>
8. Andersson DI, Nicoloff H, Hjort K. Mechanisms and clinical relevance of bacterial heteroresistance. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2019 [citado 2025 Ago 22];17(8):479-96. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0218-1>
9. Ye M, Yuan W, Molaiepour 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 [citado 2025 Ago 23];20(1):73. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00478-z>
10. Danchuk SN, Solomon OE, Kohl TA, Dreyer V, Barilar I, Utpatel C, et al. Challenging the gold standard: the limitations of molecular assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* heteroresistance. *Thorax* [Internet]. 2024 [citado 2025 Ago 24];79(7):670-5. Disponible en: <https://doi.org/10.1136/thorax-2023-220202>
11. Yu FL, Lee JC, Wang MS, Hsu HL, Chen TT, Cheng CL, et al. Evaluation of a modified direct agar proportion method for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* from MGIT samples. *J Microbiol Immunol Infect* [Internet]. 2016 [citado 2025 ago 24];49(1):60-5. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2014.01.003>

12. Metcalfe JZ, Streicher E, Theron G, Colman RE, Penaloza R, Allender C, et al. Mycobacterium tuberculosis Subculture Results in Loss of Potentially Clinically Relevant Heteroresistance. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 2017 [citado 2025 ago 27];61(11): e00888-17. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/aac.00888-17>
13. Pholwat S, Stroup S, Foongladda S, Houpt E. Digital PCR to Detect and Quantify Heteroresistance in Drug Resistant Mycobacterium tuberculosis. PLoS ONE [Internet]. 2013 [citado 2025 ago 27];8(2): e57238. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057238>
14. Liang B, Tan Y, Li Z, Tian X, Du C, Li H, et al. Highly Sensitive Detection of Isoniazid Heteroresistance in Mycobacterium tuberculosis by DeepMelt Assay. J Clin Microbiol [Internet]. 2018 [citado 2025 ago 28];56(2): e01239-Disponible en: <https://doi.org/10.1128/jcm.01239-17>
15. Aung YW, Faksri K, Sangka A, Tomanakan K, Namwat W. Heteroresistance of Mycobacterium tuberculosis in the Sputum Detected by Droplet Digital PCR. Biology [Internet]. 2023 [citado 2025 ago 29];12(4):525. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/biology12040525>
16. Colman RE, Schupp JM, Hicks ND, Smith DE, Buchhagen JL, Valafar F, et al. Detection of Low-Level Mixed-Population Drug Resistance in Mycobacterium tuberculosis Using High Fidelity Amplicon Sequencing. PloS One [Internet]. 2015 [citado 2025 ago 30];10(5): e0126626. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126626>
17. Vaska M, Chowdhury M, Naidu J. Exploring all that is Grey in the Health Sciences: What is Grey Literature and How to use it for Comprehensive

- Knowledge Synthesis. Journal of National Heart Foundation of Bangladesh [Internet]. 2019 [citado 2025 nov 30];8(1):14-19. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/337926361_Exploring_all_that_is_Grey_in_the_Health_Sciences_What_is_Grey_Literature_and_How_to_use_it_for_Comprehensive_Knowledge_Synthesis
18. World Health Organization. Tuberculosis [Internet]. Who.int. World Health Organization: WHO; 2019 [citado 2025 Dic 9]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>
 19. Nahid P, Dorman SE, Alipanah N, Barry PM, Brozek JL, Cattamanchi A, et al. Official American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines: Treatment of Drug-Susceptible Tuberculosis. Clinical Infectious Diseases [Internet]. 2016 Aug 10 [citado 2025 Dic 29];63(7): e147–95. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/cid/ciw376>
 20. Singh A, Singh N, Kumar S, Mishra A, Singh N. Molecular insights of drug-resistant tuberculosis: Genetic mutations and their profile. Frontiers in Microbiology [Internet]. 2025 Oct 3 [citado 2025 Dic 29];16. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1669327>
 21. Takiff H, Feo O. Clinical value of whole-genome sequencing of Mycobacterium tuberculosis. The Lancet Infectious Diseases [Internet]. 2015 Sep [citado 2025 Dic 29];15(9):1077–90. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(15\)00071-7](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(15)00071-7)
 22. Jagielski T, Bakula Z, Brzostek A, Minias A, Stachowiak R, Kalita J, et al. Characterization of Mutations Conferring Resistance to Rifampin in

- Mycobacterium tuberculosis Clinical Strains. Antimicrobial Agents and Chemotherapy [Internet]. 2018 Sep [citado 2025 Dic 29];62(10). Disponible en: <https://doi.org/10.1128/aac.01093-18>
23. Domínguez J, Boeree M, Cambau E, Chesov D, Conradie F, Cox V, et al. Clinical implications of molecular drug resistance testing for Mycobacterium tuberculosis: a 2023 TBnet/RESIST-TB consensus statement. The Lancet Infectious Diseases [Internet]. 2023 Abr 1 [citado 2025 Dic 29];23(4): e122–e137. Disponible en: [https://doi-org.upch.lookproxy.com/10.1016/S1473-3099\(22\)00875-1](https://doi-org.upch.lookproxy.com/10.1016/S1473-3099(22)00875-1)
 24. Yadon A, Maharaj K, Adamson J, Lai Y, Sacchettini J, Ioerger T, et al. A comprehensive characterization of PncA polymorphisms that confer resistance to pyrazinamide. Nat Commun [Internet]. 2017 Sep [citado 2025 Dic 29];8(1):588. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-017-00721-2>
 25. Carpi G, Seifert M, De la Rossa A, Uplekar S, Rodrigues C, Tukvadze N, et al. Comparative assessment of line probe assays and targeted next-generation sequencing in drug-resistant tuberculosis diagnosis. eBioMedicine [Internet]. 2025 Sep [citado 2025 Dic 29]; 119:105875. Disponible en: [https://doi-org.upch.lookproxy.com/10.1016/S1473-3099\(22\)00875-1](https://doi-org.upch.lookproxy.com/10.1016/S1473-3099(22)00875-1)
 26. Brankin A, Seifert M, Georghiou S, Walker T, Uplekar S, Suresh A, et al. In silico evaluation of WHO-endorsed molecular methods to detect drug resistant tuberculosis. Scientific Reports [Internet]. 2022 Oct 22 [citado

- 2025 Dic 29];12(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21025-6>
27. Trouchet A, Gines G, Benhaim L, Taly V. Digital PCR: from early developments to its future application in clinics. Lab on a Chip [Internet]. 2025 Jul [citado 2025 Dic 29];25(16):3921–61. Disponible en: <https://doi.org/10.1039/D5LC00055F>
 28. Kuypers J, Jerome K. Applications of Digital PCR for Clinical Microbiology. Kraft CS, editor. Journal of Clinical Microbiology [Internet]. 2017 May 23 [citado 2025 Dic 29];55(6):1621–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/jcm.00211-17>
 29. Roy S, Coldren C, Karunamurthy A, Kip N, Klee E, Lincoln S, et al. Standards and Guidelines for Validating Next-Generation Sequencing Bioinformatics Pipelines: A Joint Recommendation of the Association for Molecular Pathology and the College of American Pathologists. The Journal of molecular diagnostics: JMD [Internet]. 2018 Ene 1 [citado 2025 Dic 29];20(1):4–27. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2017.11.003>
 30. Roh S, Smith L, Lee J, Via L, Barry C, Alland D, et al. Comparative Evaluation of Sloppy Molecular Beacon and Dual-Labeled Probe Melting Temperature Assays to Identify Mutations in Mycobacterium tuberculosis Resulting in Rifampin, Fluoroquinolone and Aminoglycoside Resistance. Manganeli R, editor. PLOS ONE [Internet]. 2015 May 4 [citado 2025 Dic 14];10(5): e0126257-7. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126257>

31. Tolani M, Therese D, Mistry N. Drug resistance mutations and heteroresistance detected using the GenoType MTBDRplus assay and their implication for treatment outcomes in patients from Mumbai, India. BMC Infectious Diseases [Internet]. 2012 Ene 20 [citado 2025 Dic 14];12(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-9>
32. Desikan P, Panwalkar N, Punde R, Khan Z, Pauranik A, Mirza S, et al. Heteroresistance to rifampicin & isoniazid in clinical samples of patients with presumptive drug-resistant tuberculosis in Central India. Indian Journal of Medical Research [Internet]. 2023 May [citado 2025 Dic 14];157(2&3):174–82. Disponible en: https://doi.org/10.4103/ijmr.ijmr_607_22
33. Kumar P, Balooni V, Sharma B, Kapil V, Sachdeva K, Singh S. High degree of multi-drug resistance and hetero-resistance in pulmonary TB patients from Punjab state of India. Tuberculosis [Internet]. 2014 Ene 1 [citado 2025 Dic 14];94(1):73–80. Disponible en: <https://doi-org.upch.lookproxy.com/10.1016/j.tube.2013.10.001>
34. Jain P, Ratnam R, Sengupta S, Singh U, Kumar V, Jain A. High frequency of isoniazid and fluoroquinolone resistance among patients with rifampicin sensitive tuberculosis. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease [Internet]. 2024 Feb [citado 2025 Dic 14];108(2):116159. Disponible en: <https://doi-org.upch.lookproxy.com/10.1016/j.diagmicrobio.2023.116159>
35. Zheng Y, Xia H, Bao X, Zhao B, He P, Zhao Y. Highly Sensitive Detection of Isoniazid Heteroresistance in Mycobacterium Tuberculosis by Droplet Digital PCR. Infection and Drug Resistance [Internet]. 2022 oct [citado

- 2025 Dic 14]; Volume 15:6245–54. Disponible en: <https://doi.org/10.2147/IDR.S381097>
36. Li H, Wang N, Yang M, Shang Y, Wang Y, Tan C, et al. Improved detection of isoniazid-heteroresistant *Mycobacterium tuberculosis* subpopulations by droplet digital PCR compared to MeltPro TB assay. *Microbiology Spectrum* [Internet]. 2025 Ago [citado 2025 Dic 14];13(10). Disponible en: <https://doi.org/10.1128/spectrum.00030-25>
 37. Gupta R, Thakur R, Kushwaha S, Jalan N, Rawat P, Gupta P, et al. Isoniazid and rifampicin heteroresistant *Mycobacterium tuberculosis* isolated from tuberculous meningitis patients in India. *Indian Journal of Tuberculosis* [Internet]. 2018 Ene [citado 2025 Dic 14];65(1):52–56. Disponible en: <https://doi-org.upch.lookproxy.com/10.1016/j.ijtb.2017.08.005>
 38. Hofmann-Thiel S, van Ingen J, Feldmann K, Turaev L, Uzakova G, Murmusaeva G, et al. Mechanisms of heteroresistance to isoniazid and rifampin of *Mycobacterium tuberculosis* in Tashkent, Uzbekistan. *European Respiratory Journal* [Internet]. 2009 Feb [citado 2025 Dic 14];33(2):368–374. Disponible en: <https://doi.org/10.1183/09031936.00089808>
 39. Liu Y, Zhang Y, Lu X, Wu Z, Li M, Zhang R, et al. Mixed infections and heteroresistance of *Mycobacterium tuberculosis* among multidrug-resistant tuberculosis in China: a genomic epidemiology study. *Emerging Microbes & Infections* [Internet]. 2025 Aug 1 [citado 2025 Dic 14];14(1):2534656–6. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/22221751.2025.2534656>
 40. Zhang R, Ou X, Sun X, Fan G, Zhao B, Tian F, et al. Multiplex LNA probe-based RAP assay for rapid and highly sensitive detection of rifampicin-

- resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2023 Abr 26 [citado 2025 Dic 14]; 14:1141424–4. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1141424>
41. Operario D, Koeppel A, Turner S, Bao Y, Pholwat S, Banu S, et al. Prevalence and extent of heteroresistance by next generation sequencing of multidrug-resistant tuberculosis. *PLoS ONE* [Internet]. 2017 May 18 [citado 2025 Dic 14];12(5): e0176522–2. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176522>
 42. Chakravorty S, Kothari H, Aladegbami B, Cho E, Lee J, Roh S, et al. Rapid, High-Throughput Detection of Rifampin Resistance and Heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis* by Use of Sloppy Molecular Beacon Melting Temperature Coding. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2012 jul [citado 2025 Dic 14];50(7):2194–202. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/jcm.00143-12>
 43. Gao X, Li T, Han W, Xiong Y, Xu S, Ma H, et al. The positivity rates and drug resistance patterns of *Mycobacterium tuberculosis* using nucleotide MALDI-TOF MS assay among suspected tuberculosis patients in Shandong, China: a multi-center prospective study. *Frontiers in Public Health* [Internet]. 2024 Ene 18 [citado 2025 Dic 14]; 12:1322426–6. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1322426>
 44. Narang A, Marras S, Kurepina N, Chauhan V, Shashkina E, Kreiswirth B, et al. Ultrasensitive Detection of Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Using SuperSelective Primer-Based Real-Time PCR Assays. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. 2022 Dec 12 [citado

- 2025 Dic 14];23(24):15752–2. Disponible en:
<https://doi.org/10.3390/ijms232415752>
45. Hu S, Li G, Li H, Liu X, Niu J, Quan S, et al. Rapid Detection of Isoniazid Resistance in Mycobacterium tuberculosis Isolates by Use of Real-Time-PCR-Based Melting Curve Analysis. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2014 May 1 [citado 2025 Dic 14];52(5):1644–52. Disponible en:
<https://doi.org/10.1128/jcm.03395-13>
46. Vashistha H, Hanif M, Chopra K, Shrivastava D, Khanna A. Genetic polymorphism of rare mutations in Mycobacterium tuberculosis-infected patients in Delhi. *Biomedical and Biotechnology Research Journal (BBRJ)* [Internet]. 2018 Mar [citado 2025 Dic 14];2(1):74–81. Disponible en:
https://doi.org/10.4103/bbrj.bbrj_13_18
47. Sharma K, Bhandari A, Manjunath K, Rastogi M, Babu A, Ponnusamy P, et al. Genomic insights into extrapulmonary tuberculosis reveal enrichment of lineage 2 with high drug resistance in specific clinical phenotypes. *MedRxiv* [Internet]. 2025 Ago 6 [citado 2025 Dic 14]; Disponible en:
<https://doi.org/10.1101/2025.08.05.25332932>
48. Whitfield M, Engelthaler D, Allender C, Folkerts M, Heupink T, Limberis J, et al. Comparative Performance of Genomic Methods for the Detection of Pyrazinamide Resistance and Heteroresistance in Mycobacterium tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2022 Ene 19 [citado 2025 Dic 14];60(1):e0190721–1. Disponible en:
<https://doi.org/10.1128/JCM.01907-21>

49. Getahun M, Ameni G, Mollalign H, Diriba G, Beyene D. Genotypic and phenotypic drug-resistance detection and prevalence of heteroresistance in patients with isoniazid- and multidrug-resistant tuberculosis in Ethiopia. *IJID Regions* [Internet]. 2022 Mar [citado 2025 Dic 14]; 2:149–53. Disponible en: <https://doi-org.upch.lookproxy.com/10.1016/j.ijregi.2021.12.007>
50. Shin S, Modongo C, Baik Y, Allender C, Lemmer D, Colman R, et al. Mixed Mycobacterium tuberculosis–Strain Infections Are Associated With Poor Treatment Outcomes Among Patients With Newly Diagnosed Tuberculosis, Independent of Pretreatment Heteroresistance. *The Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 2018 Ago 4 [citado 2025 Dic 14]; Disponible en: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy480>
51. Tilahun M, Shimelis E, Wogayehu T, Assefa G, Wondimagegn G, Mekonnen A, et al. Molecular detection of multidrug resistance pattern and associated gene mutations in M. tuberculosis isolates from newly diagnosed pulmonary tuberculosis patients in Addis Ababa, Ethiopia. *PLoS ONE* [Internet]. 2020 Ago [citado 2025 Dic 14];15(8): e0236054–4. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236054>
52. Mekonnen D, Admassu A, Mulu W, Amor A, Benito A, Gelaye W, et al. Multidrug-resistant and heteroresistant Mycobacterium tuberculosis and associated gene mutations in Ethiopia. *International Journal of Infectious Diseases : IJID: Official Publication of the International Society for Infectious Diseases*, 39, 34–38 [citado 2025 Dic 9]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2015.06.013>

53. Faye L, Hosu M, Oostvogels S, Dippenaar A, Warren R, Sineke N, et al. The Detection of Mutations and Genotyping of Drug-Resistant Mycobacterium tuberculosis Strains Isolated from Patients in the Rural Eastern Cape Province. Infectious Disease Reports [Internet]. 2023 Jul 10 [citado 2025 Dic 14];15(4):403–416. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/idr15040041>
54. Ghebrekristos Y, Ahmed A, Beylis N, Singh S, Opperman C, Naufal F, et al. Xpert MTB/RIF Ultra-resistant and MTBDR plus- susceptible rifampicin results in people with tuberculosis: utility of FluoroType MTBDR and deep sequencing. Antimicrobial Agents and Chemotherapy [Internet]. 2025 Feb [citado 2025 Dic 14];69(3). Disponible en: <https://doi.org/10.1128/aac.01671-24>
55. Faye L, Hosu M, Mbiza Y, Lubuzo N, Sineke N, Gumede T, et al. Multi Drug Resistant and Heteroresistant Mycobacterium tuberculosis Isolates Variants from Patients in Rural Areas in Eastern Cape. Preprintsorg [Internet]. 2023 Ago 29 [citado 2025 Dic 14]; Disponible en: <https://doi.org/10.20944/preprints202308.1895.v1>
56. Nimmo C, Brien K, Millard J, Grant A, Padayatchi N, Pym A, et al. Dynamics of within-host Mycobacterium tuberculosis diversity and heteroresistance during treatment. EBioMedicine [Internet]. 2020 May [citado 2025 Dic 14]; 55:102747. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7195533/>
57. De Assis L, de Almeida I, Augusto C, Soares V, Suffys P, da Silva W, et al.. Characterization of Mycobacterium tuberculosis heteroresistance by

- genotyping. International Journal of Mycobacteriology [Internet]. 2020 Dec 1 [citado 2025 Dic 14];9(4):368–8. Disponible en: https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy_132_20
58. Vallejos K, Taquiri D, Romero O, Vargas A, Coronel J, Torres A, et al. Dissecting rifampicin heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis*: integrating whole-genome sequencing with phenotypic and clonal validation. Journal of Medical Microbiology [Internet]. 2025 jul 31 [citado 2025 Dic 14];74(7). Disponible en: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.002048>
 59. Bengtson H, Homolka S, Niemann S, Reis A, da Silva P, Gerasimova Y, et al. Multiplex detection of extensively drug resistant tuberculosis using binary deoxyribozyme sensors. Biosensors and Bioelectronics [Internet]. 2017 Ago 15 [citado 2025 Dic 14];94:176–183. Disponible en: <https://doi.org.upch.lookproxy.com/10.1016/j.bios.2017.02.051>
 60. Werngren J, Mansjö M, Glader M, Hoffner S, Forsman L. Detection of Pyrazinamide Heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy [Internet]. 2021 Ago 17 [citado 2025 Dic 14];65(9): e0072021–1. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/aac.00720-21>
 61. Nikolayevskyy V, Balabanova Y, Simak T, Malomanova N, Fedorin I, Drobniewski F. Performance of the Genotype® MTBDRPlus resistance patternSamara, Russian Federation. BMC Clinical Pathology [Internet]. 2009 Mar 10 [citado 2025 Dic 14];9(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1472-6890-9-2>

62. Folkvardsen D, Thomsen V, Rigouts L, Rasmussen E, Bang D, Bernaerts G, et al. Rifampin Heteroresistance in Mycobacterium tuberculosis Cultures as Detected by Phenotypic and Genotypic Drug Susceptibility Test Methods. Journal of Clinical Microbiology [Internet]. 2013 Dec [citado 2025 Dic 14];51(12):4220–2. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/jcm.01602-13>

IX. TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS

Tabla 1: Caracterización de los estudios incluidos (N = 36)

Autor (Año)	Procedencia de la muestra	Tipo de investigación	Diseño de estudio	Origen de la muestra	Material genético (n)	Método molecular	Antibiótico evaluado
De Assis L. (2020)	Brasil	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN post cultivo (654)	LPA para isoniazida y rifampicina; Secuenciamiento de Sanger (amplicones)	RIF, INH
Roh S. (2015)	Corea del Sur	Primaria	Experimental analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN post cultivo (56)	qPCR con análisis de curva de fusión (T _m)	RIF
				cepas caracterizadas/H37Rv	mezclas artificiales de ADN (11)		
Whitfield M. (2022)	Sudáfrica	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN post cultivo (358)	TDS SMOR; WGS; Secuenciamiento Sanger (amplicones)	PZA
Werngren J. (2021)	Suecia	Primaria	Experimental analítico	cultivos bacterianos; cepas caracterizadas/H37Rv	mezclas artificiales de ADN (30)*	WGS	PZA
Pholwat S. (2013)	Tailandia	Primaria	Experimental analítico	cultivos bacterianos; cepas caracterizadas/H37Rv	mezclas artificiales de ADN (4)*	dPCR, Secuenciamiento Sanger (amplicones); qPCR	RIF, INH
Vallejos K. (2025)	Perú	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN post cultivo (2917)	WGS	RIF
Tolani M. (2012)	India	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN post cultivo (155)	LPA para isoniazida y rifampicina	RIF, INH
Getahun M.(2022)	Etiopia	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN post cultivo (127)	LPA para isoniazida y rifampicina	RIF INH

(Continuación) Tabla 1: Caracterización de los estudios incluidos (N = 36)

Autor (Año)	Procedencia de la muestra	Tipo de investigación	Diseño de estudio	Origen de la muestra	Material genético (n)	Método molecular	Antibiótico evaluado
Aung Y. (2023)	Tailandia	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN directo (79)	dPCR	RIF, INH
Desikan P.(2023)	India	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo BK+) muestras clínicas (esputo BK- y extrapulmonares)	ADN directo (11 788) ADN post cultivo (11 788)	LPA para isoniazida y rifampicina	RIF, INH
Kumar P. (2014)	India	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo BK+) muestras clínicas (esputo paucibacilar y BK-)	ADN directo (578) ADN post cultivo (578)	LPA para isoniazida y rifampicina; Secuenciamiento Sanger (amplicones)	RIF, INH
Jain P. (2020)	Pakistan	Primario	Observacional analítico	muestras clínicas (pulmonares)	ADN** (13 188)	LPA para isoniazida y rifampicina	INH
Liang B.(2018)	China	Primaria	Experimental analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN directo (711)	qPCR con análisis de curva de fusión (Tm); dPCR; Secuenciamiento Sanger (amplicones)	INH
Zheng Y. (2022)	China	Primaria	Experimental analítico	cultivos bacterianos; cepas caracterizadas/H37Rv muestras clínicas (esputo)	mezclas artificiales de ADN (16)* ADN directo (21)	dPCR; qPCR; qPCR con análisis de curva de fusión (Tm)	INH
Li H. (2025)	China	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo) cultivos bacterianos	ADN directo (77) ADN post cultivo (77)	dPCR; qPCR con análisis de curva de fusión (Tm)	INH
Gupta R. (2017)	India	Primaria (Manuscrito aceptado)	Observacional analítico	muestras clínicas (extrapulmonares)	ADN post cultivo (197)	LPA para isoniazida y rifampicina	RIF, INH

(Continuación) Tabla 1: Caracterización de los estudios incluidos (N = 36)

Autor (Año)	Procedencia de la muestra	Tipo de investigación	Diseño de estudio	Origen de la muestra	Material genético (n)	Método molecular	Antibiótico evaluado
Hofmann S. (2009)	Uzbekistán	Primaria	Experimental analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN directo (35) ADN post cultivo (35)	LPA para isoniazida y rifampicina	RIF, INH
				cepas caracterizadas/H37Rv	mezclas artificiales de ADN (7)*		
Liu Y. (2025)	China	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN post cultivo (936)	WGS	RIF, INH, EMB
Shin S. (2018)	Botswana	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN post cultivo (260)	TDS SMOR	RIF, INH
Tilahun M. (2020)	Etiopía	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN post cultivo (190)	LPA para isoniazida y rifampicina	INH
Mekonnen D. (2015)	Etiopía	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo y extrapulmonares)	ADN post cultivo (413)	LPA para isoniazida y rifampicina	RIF, INH
Bengtson H. (2017)	Brasil, Alemania	Primaria	Experimental analítico	cepas caracterizadas/H37Rv	mezclas artificiales de ADN (5)*	TB-DzT	RIF, INH
Zhang R. (2023)	China	Primaria	Experimental analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN directo (78)	MLP-RAP	RIF
				cultivos bacterianos	ADN post cultivo (126)		
				cepas caracterizadas/H37Rv	mezclas artificiales de ADN (8)*		
Nikolayevskyy V. (2009)	Rusia	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN directo (168)	LPA para isoniazida y rifampicina	RIF, INH

(Continuación) Tabla 1: Caracterización de los estudios incluidos (N = 36)

Autor (Año)	Procedencia de la muestra	Tipo de investigación	Diseño de estudio	Origen de la muestra	Material genético (n)	Método molecular	Antibiótico evaluado
Operario D.(2017)	Tailandia, Bangladesh, Tanzania, Rusia	Primaria	Observacional analítico	cultivos bacterianos	ADN post cultivo (158)	NGS basado en amplicones; Secuenciamiento de Sanger (amplicones)	RIF, INH, EMB, PZA
Chakravorty S.(2012)	Estados Unidos, Corea del Sur	Primaria	Experimental analítico	cepas caracterizadas/H37Rv muestras clínicas (esputo)	mezclas artificiales de ADN (6)* ADN post cultivo (589)	qPCR con análisis de curva de fusión (T _m)	RIF
Folkvardsen D. (2013)	Dinamarca, Suecia, Alemania	Primaria	Experimental analítico	cepas caracterizadas/H37Rv	mezclas artificiales de ADN (4)*	LPA para isoniazida y rifampicina; LPA para rifampicina; Secuenciamiento Sanger	RIF
Faye L. (2023)	Sudáfrica	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN directo (1 157)	LPA para isoniazida y rifampicina	RIF, INH
Gao X. (2024)	China	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo y extrapulmonares)	ADN directo (940)	Nucleotide MALDI-TOF MS	RIF, INH, EMB
Narang A.(2022)	Estados Unidos, India	Primaria	Experimental analítico	cepas caracterizadas/H37Rv muestras clínicas (esputo)	mezclas artificiales de ADN (18)* ADN directo (23)	qPCR basado en cebadores SuperSelectivos	RIF, INH
Ghebrekristos Y. (2025)	Sudáfrica	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN post cultivo (97)	TDS SMOR	RIF
Hu S.(2014)	China	Primaria	Experimental analítico	cepas caracterizadas/H37Rv muestras clínicas (esputo)	mezclas artificiales de ADN (12)* ADN post cultivo (1096)	qPCR con análisis de curva de fusión (T _m)	INH

(Continuación) Tabla 1: Caracterización de los estudios incluidos (N = 36)

Autor (Año)	Procedencia de la muestra	Tipo de investigación	Diseño de estudio	Origen de la muestra	Material genético (n)	Método molecular	Antibiótico evaluado
Vashistha H.(2018)	India	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN post cultivo (741)	LPA para isoniazida y rifampicina; Secuenciamiento Sanger (amplicones)	RIF
Sharma K. (2025)	India	Primaria (Pre-print)	Experimental analítico	muestras clínicas (extrapulmonares)	ADN post cultivo (117)	WGS	RIF, INH, EMB, PZA
Faye LM. (2023)	Sudáfrica	Primaria (Pre-print)	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN directo (412)	LPA para isoniazida y rifampicina	RIF, INH
Nimmo C. (2020)	Sudáfrica	Primaria	Observacional analítico	muestras clínicas (esputo)	ADN post cultivo (399)	WGS	RIF, INH, EMB, PZA

Tm: temperatura de fusión; TDS SMOR: Single-molecule overlapping read Targeted Deep Sequencing (Secuenciación profunda dirigida con Lectura superpuesta de una sola molécula); WGS: Whole Genome Sequencing (Secuenciamiento del genoma completo); dPCR: Digital PCR (PCR digital); qPCR: quantitative PCR (PCR en tiempo real); TB-DzT: Multiplex detection of XDR TB using binary deoxyribozyme (BiDz) sensors; MLP-RAP: Multiplex LNA probe-based RAP (método RAP basado en sondas LNA en formato multiplex); LNA: locked nucleic acid; NGS: Next Generation Sequencing (Secuenciamiento de siguiente generación); LPA: Line Probe Assay (Ensayo de sonda en línea); Nucleotide MALDI-TOF MS: Nucleotide Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry (Espectrometría de masas por desorción-ionización láser asistida por matriz de nucleótidos).

N: Número total de estudios incluidos

(n): Tamaño de muestra

*En estudios que emplearon mezclas artificiales de ADN, el tamaño de muestra (n) corresponde al número de proporciones de mezcla evaluadas.

** No se especifica la procedencia del material genético

Tabla 2: Distribución de las características de los estudios incluidos (N = 36)

Características generales	n (%) ^a
Tipo de investigación	
Primaria	36 (100,00)
Atículos publicados en revistas	33 (91,67)
Manuscrito aceptado	1 (2,78)
Pre-print	2 (5,56)
Diseño de estudio	
Analítico	36 (100,00)
Observacional	23 (63,89)
Experimental	13 (36,11)
Origen de la muestra	
Muestras clínicas	33 (91,67)
esputo	27 (75,00)
extrapulmonares	2 (5,56)
ambos tipos (esputo + extrapulmonares)	3 (8,33)
pulmonares (no especifica origen)	1 (2,78)
Cultivos bacterianos ^b	6 (16,67)
Cepas caracterizadas/H37Rv	11 (30,56)
Material genético	
ADN directo	13 (36,11)
ADN post cultivo	23 (63,89)
Mezclas artificiales de ADN	11 (30,56)
ADN (no se especifica procedencia)	1 (2,78)
Antibiótico evaluado	
Rifampicina	28 (80,56)
Isoniazida	27 (75,00)
Pirazinamida	5 (13,89)
Etambutol	5 (13,89)
Año de publicación	
2009 - 2014	8 (22,22)
2015 - 2020	12 (33,33)
2021 - 2025	16 (44,44)
Procedencia de la muestra	
África	10 (27,78)
Asia	21 (58,33)
Europa	5 (13,89)
América	5 (13,89)
Multicéntricos ^c	5 (13,89)

N: Número total de estudios incluidos

n: Frecuencia absoluta

(%): Frecuencia relativa

^a Los porcentajes pueden no sumar 100 debido a que un único estudio puede reportar más de un resultado; o debido al redondeo.^b Los cultivos fueron realizados a partir de muestras clínicas y/o cepas caracterizadas^c Estudios que se desarrollaron paralelamente o en colaboración con instituciones de 2 o más países.

Tabla 3: Antibióticos de primera línea y su correspondencia con los genes diana y variantes reportadas por los métodos moleculares que evalúan la heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis*

Antibiótico	Genes y variantes asociadas a la resistencia antibiótica	Frecuencia de reporte n (%)
RIF	<i>rpoB</i>	75 (53,96)
	S531L	21 (15,11)
	H526Y	11 (7,91)
	D516V	8 (5,76)
	H526D	7 (5,04)
	S450L	3 (2,16)
	S526D, S522A, D516L, T400A, M434I, D435G, D345Y, A451V, L430P, H445D, L452P, I480V, S450V, E761D, D435V, R552C, L452Q, S450F, S441L, S531F (codón 511, 516, 526, 531, 533)	* (0,72)
INH	<i>katG</i>	27 (19,42)
	S315T	24 (17,27)
	C315T, G299C, W293L	* (0,72)
	<i>inhA</i>	21 (15,11)
	C15T	14 (10,07)
	T8A	2 (1,44)
	T8C	2 (1,44)
	A16G	2 (1,44)
	G17T	* (0,72)
	<i>ahpC</i>	1 (0,72)
	C10T	* (0,72)
PZA	<i>pncA</i>	9 (6,47)
	Q10P, A134V, W68G, L159V, L85P, V21G, codones 28, 100, 139	* (0,72)
EMB	<i>embA</i>	1 (0,72)
	(sin variantes puntuales especificadas)	* (0,72)
	<i>embB</i>	5 (3,60)
	M306V	2 (1,44)
	codones 306, 372, 406 (sin variantes puntuales especificadas)	* (0,72)
Frecuencia total de variantes reportadas		139 (100,00)

n: Frecuencia absoluta

(%): Frecuencia relativa

* Las variantes listadas fueron reportadas una sola vez y cada una representa el 0,72% del total de variantes reportadas (N = 139).

RIF: Rifampicina; INH: Isoniazida; PZA: Pirazinamida; EMB: Etambutol.

Tabla 4: Métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis*

Métodos moleculares según su principio de funcionamiento	Frecuencia de usos metodológicos n (%)
Métodos basados en hibridación	16 (30,19)
LPA para isoniazida y rifampicina ^a	15 (28,30)
LPA para rifampicina ^b	1 (1,89)
Métodos basados en secuenciamiento	18 (33,96)
Secuenciamiento Sanger	8 (15,09)
WGS	6 (11,32)
NGS basado en amplicones	1 (1,89)
TDS SMOR	3 (5,66)
Métodos basados en PCR	18 (33,96)
dPCR	5 (9,43)
qPCR	2 (3,77)
TB-DzT	1 (1,89)
MLP-RAP	1 (1,89)
qPCR basado en cebadores SuperSelectivos	1 (1,89)
qPCR con análisis de curva de fusión (Tm) ^c	8 (15,09)
Métodos basados en espectrometría de masas	1 (1,89)
Nucleotide MALDI-TOF MS ^d	1 (1,89)
Frecuencia total de usos metodológicos	53 (100,00)

n: Frecuencia absoluta

(%): Frecuencia relativa

^a Incluye al ensayo comercial GenotypeMTBDRplus

^b Incluye al ensayo comercial INNO-LiPA Rif.TB: Inno Genetics Line Probe Assay

^c Incluye Ensayos de Tm con sondas (SMB y DLP) y ensayos comerciales (DeepMelt TB/INH, MeltPro TB/INH y singleplex DeepMelt)

^d Incluye al ensayo comercial Conlight TB&DR assay

TDS SMOR: Single-molecule overlapping read Targeted Deep Sequencing; WGS: Whole Genome Sequencing; dPCR: Digital PCR; qPCR: quantitative PCR; TB-DzT: Multiplex detection of XDR TB using binary deoxyribozyme (BiDz) sensors; MLP-RAP: Multiplex LNA probe-based RAP; NGS: Next Generation Sequencing; Nucleotide MALDI-TOF MS: Nucleotide Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry; Tm: temperatura de fusión; SMB: Sloppy Molecular Beacon; DLP: Dual labeled probe

Tabla 5: Síntesis de las características técnico-analíticas de los métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis*

Autor	Método(s)	LOD	Criterios bioinformáticos** (si aplica)
De Assis L.	LPA para isoniazida y rifampicina	No cuantificable*	NA
	Secuenciamiento Sanger (amplicones)	No cuantificable*	NA
Roh S	qPCR con análisis de curva de fusión (Tm)	30-60% (D516L, D516V), 100% (H526Y), 10-40% (S531L)	NA
Whitfield M.	TDS SMOR	1%	ASAP con análisis SMOR; alineamiento a H37Rv; cobertura objetivo ~40 000 lecturas/amplicón; exclusión de lecturas pareadas discordantes del mismo fragmento; VAF $\geq$ 1 %
	WGS	10%	FastQC; alineamiento a H37Rv con BWA-MEM; cobertura mínima $\geq$ 40x (mediana); Joint variant calling con GATK4 usando las herramientas MarkDuplicates, HaplotypeCaller, GenotypeGVCFs y Variant Quality Score Recalibration; VAF $\geq$ 10 %
	Secuenciamiento Sanger (amplicones)	No cuantificable*	NA
Werngren J.	WGS	1%	Mapeo a pncA (H37Rv); cobertura promedio $>20\times$; filtros: profundidad mínima ≥ 5 , VAF ≥ 1 %, conteo >1 , balance F/R >0
Pholwat S	dPCR	1000:1 S:R ($\approx 0,1\%$)	NA
	Secuenciamiento Sanger (amplicones)	1:1 S:R ($\approx 50\%$)	NA
	qPCR	10:1 S:R ($\approx 9,1\%$)	NA
Vallejos K	WGS	10%	MTBseq; TB-Profiler; alineamiento a H37Rv; Trimmomatic; cobertura $>40\times$ y ≥ 90 % de lecturas mapeadas; llamado de variantes con VAF $\geq 0,1$ (10%) y profundidad mínima ≥ 10
Tolani M.	LPA para isoniazida y rifampicina	No cuantificable*	NA

(Continuación) Tabla 5: Síntesis de las características técnico-analíticas de los métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis*

Autor	Método(s)	LOD	Criterios bioinformáticos** (si aplica)
Getahun M.	LPA para isoniazida y rifampicina	No cuantificable*	NA
Aung Y.	dPCR	katG: 0,47% rpoB: 20%	NA
Desikan P.	LPA para isoniazida y rifampicina	No cuantificable*	NA
Kumar P.	LPA para isoniazida y rifampicina	No cuantificable*	NA
	Secuenciamiento Sanger (amplicones)	No cuantificable*	NA
Jain P.	LPA para isoniazida y rifampicina	No cuantificable*	NA
Liang B.	qPCR con análisis de curva de fusión (Tm)	0,01 - 1%	NA
	dPCR	0,01%	NA
	Secuenciamiento Sanger (amplicones)	20%	NA
Zheng Y.	dPCR	0,01 %	NA
	qPCR	0,02 %	NA
	qPCR con análisis de curva de fusión (Tm)	33,33 %	NA
Li H.	dPCR	katG: 0,32% inhA: 0,16%	NA
	qPCR con análisis de curva de fusión (Tm)	20%	NA
Gupta R.	LPA para isoniazida y rifampicina	No cuantificable*	NA
Hofmann S.	LPA para isoniazida y rifampicina	10%	NA

(Continuación) Tabla 5: Síntesis de las características técnico-analíticas de los métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis*

Autor	Método(s)	LOD	Criterios bioinformáticos** (si aplica)
Liu Y.	WGS	5%	TBProfiler; FastQC; Trimmomatic; alineamiento a H37Rv con BWA; SNP-calling con SAMtools/BCFtools (calidad de mapeo mínima ≥ 30); detección de HTR mediante QuantTB; definición operativa: VAF 5–95 % y ≥ 10 lecturas.
Shin S.	TDS SMOR	0.1%	Profundidad objetivo ~25,000 lecturas/amplicón; se excluyeron amplicones con <2,000 lecturas. La HTR se definió mediante la frecuencia de variantes asociadas a resistencia (RAV), requiriendo ≥ 10 lecturas en ≥ 1 locus diana. Los umbrales de VAF fueron: <0.1 % (sensible), 0.1–4 % (micro-HTR), 5–94 % (macro-HTR) y ≥ 95 % (resistencia fija)
Tilahun M.	LPA para isoniazida y rifampicina	No cuantificable*	NA
Mekonnen D.	LPA para isoniazida y rifampicina	No cuantificable*	NA
Bengtson H.	TB-DzT	10%	NA
Zhang R.	MLP-RAP	5%	NA
Nikolayevskyy V.	LPA para isoniazida y rifampicina	No cuantificable*	NA
Operario D.	NGS basado en amplicones	pncA: 1 %	Alineamiento a H37RV ; Profundidad mínima ≥ 100 lecturas por locus; VAF inicial ≥ 0.05 (5 %); VAF final ≥ 1 % tras corrección por fondo (H37Rv)
	Secuenciamiento Sanger (amplicones)	No cuantificable*	NA
Chakravorty S.	qPCR con análisis de curva de fusión (Tm)	40%	NA

(Continuación) Tabla 5: Síntesis de las características técnico-analíticas de los métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis*

Autor	Método(s)	LOD	Criterios bioinformáticos** (si aplica)
Folkvardsen D.	LPA para isoniazida y rifampicina	rpoB: 5%	NA
	LPA para rifampicina	rpoB: 50%	NA
	Secuenciamiento Sanger	rpoB: 50%	NA
Faye L.	LPA para isoniazida y rifampicina	No cuantificable*	NA
Gao X.	Nucleotide MALDI-TOF MS	1%	NA
Narang A.	qPCR basado en cebadores SuperSelectivos	0,01%	NA
Ghebrekristos Y.	TDS SMOR	0.1%	ASAP con análisis SMOR; requerimiento de concordancia de lecturas pareadas F/R solapadas; ≥ 10 lecturas pareadas por locus; VAF 0.1% (requiere $\geq 10\ 000$ lecturas pareadas); análisis de haplotipos. Los umbrales de VAF fueron: 0.1– <5 % (micro-HTR), 5 – 95 % (macro-HTR) y >95 % (resistencia fija)
Hu S.	qPCR con análisis de curva de fusión (Tm)	20 - 30%	NA
	LPA para isoniazida y rifampicina	No cuantificable*	NA

(Continuación) Tabla 5: Síntesis de las características técnico-analíticas de los métodos moleculares empleados para la detección de heterorresistencia en *Mycobacterium tuberculosis*

Autor	Método(s)	LOD	Criterios bioinformáticos** (si aplica)
Vashistha H.	Secuenciamiento Sanger (amplicones)	No cuantificable*	NA
Sharma K.	WGS	No definido explícitamente (dependiente de profundidad)	TBProfiler; Alineamiento a H37Rv con Snippy (BWA-MEM/FreeBayes); anotación con SnpEff; análisis con pileup para cuantificación de VAF; umbral mínimo ≥ 10 lecturas por sitio para considerar que una mutación es verdaderamente positiva para la detección de HTR.
Faye LM.	LPA para isoniazida y rifampicina	No cuantificable*	NA
Nimmo C.	WGS	No definido explícitamente (dependiente de profundidad)	Alineamiento a H37Rv (umbral de identidad del 98%); filtros de calidad: calidad de mapeo mínima ≥ 20 y Calidad de base ≥ 30 ; criterios mínimos para llamada de variantes ≥ 4 lecturas de soporte; cobertura mínima del sitio ≥ 10 y soporte bidireccional obligatorio (balance F/R > 0). Clasificación de variantes según frecuencia alélica: $< 95\%$ (HTR) y $\geq 95\%$ (resistencia fija)

LOD: Límite de detección, definido como la menor proporción de sub-poblaciones bacterianas resistentes detectable por el método; expresado como porcentaje cuando es cuantificable.

* Método cualitativo; el LOD porcentual solo se reporta cuando fue estimado mediante mezclas de ADN con proporciones conocidas de poblaciones bacterianas sensibles y resistentes.

** parámetros computacionales utilizados para el análisis de datos de secuenciamiento; incluyendo los umbrales de frecuencia de variantes alélicas (VAF), profundidad de cobertura, criterios de calidad de lectura, estrategias de consenso y pipelines. Esta variable se aplicó únicamente a métodos basados en secuenciamiento masivo (NGS); para el secuenciamiento de Sanger se consignó como NA.

NA: No aplica, la variable no es pertinente para el tipo de método evaluado.

NR: No reportado, la información no fue descrita en la fuente de evidencia.

Tabla 6: Características operativas relacionadas con el procesamiento de la muestra y el tipo de material genético

Autor(es)	Método molecular	Origen de la muestra	Procesamiento de la muestra	Material genético
De Assis L	LPA para isoniazida y rifampicina; Secuenciamiento de Sanger (amplicones)	muestras clínicas (esputo)	cultivo sólido (LJ) y extracción de ADN	ADN post cultivo
	qPCR con análisis de curva de fusión (Tm)	muestras clínicas (esputo)	cultivo (no especifica el medio) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Roh S		Cepas caracterizadas/H37Rv	suspensiones bacterianas para mezclas, extracción de ADN	mezclas artificiales de ADN
Whitfield M	TDS SMOR; WGS; Secuenciamiento Sanger (amplicones)	muestras clínicas (esputo)	cultivo líquido (MGIT) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Werngren J	WGS	cultivos bacterianos; cepas caracterizadas/H37Rv	cultivo sólido (LJ), suspensiones bacterianas 0.5 McF para las mezclas (PBS), sub-cultivo líquido (MGIT PZA) y extracción de ADN	mezclas artificiales de ADN
Pholwat S	dPCR; Secuenciamiento Sanger (amplicones); RT-PCR	cultivos bacterianos; cepas caracterizadas/H37Rv	cultivo sólido (LJ), suspensiones bacterianas 0.5 McF para las mezclas (7H9) y extracción de ADN	mezclas artificiales de ADN
Vallejos K	WGS	muestras clínicas (esputo)	cultivo sólido (7H10) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Tolani M	LPA para isoniazida y rifampicina	muestras clínicas (esputo)	cultivo sólido (LJ) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Getahun M	LPA para isoniazida y rifampicina	muestras clínicas (esputo)	cultivo sólido (LJ) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Aung Y	dPCR	muestras clínicas (esputo)	decontaminación (NALC-NaOH) y extracción de ADN	ADN directo
Desikan P	LPA para isoniazida y rifampicina	muestras clínicas (esputo BK+)	decontaminación (NALC-NaOH) y extracción de ADN	ADN directo
		muestras clínicas (esputo BK- y extrapulmonares)	decontaminación (NALC-NaOH), cultivo sólido (LJ) y extracción de ADN	ADN post cultivo

(Continuación) Tabla 6: Características operativas relacionadas con el procesamiento de la muestra y el tipo de material genético

Autor(es)	Método molecular	Origen de la muestra	Procesamiento de la muestra	Material genético
Kumar P	LPA para isoniazida y rifampicina; Secuenciamiento Sanger (amplicones)	muestras clínicas (esputo BK+)	decontaminación (NALC-NaOH) y extracción de ADN	ADN directo
		muestras clínicas (esputo paucibacilar y BK-)	decontaminación (NALC-NaOH), cultivo líquido (MGIT) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Jain P	LPA para isoniazida y rifampicina	muestras clínicas (pulmonares)	No se especifica	ADN*
Liang B	qPCR con análisis de curva de fusión (T _m); dPCR; Secuenciamiento Sanger (amplicones)	muestras clínicas (esputo)	decontaminación (NALC-NaOH), extracción y purificación de ADN	ADN directo
Zheng Y	dPCR; qPCR; qPCR con análisis de curva de fusión (T _m)	Cepas caracterizadas/H37Rv y cultivos bacterianos	extracción de ADN, suspensiones bacterianas para mezclas	mezclas artificiales de ADN
		muestras clínicas de esputo	extracción de ADN	ADN directo
Li H	dPCR; qPCR con análisis de curva de fusión (T _m)	muestras clínicas (esputo)	decontaminación (NALC-NaOH) y extracción de ADN	ADN directo
		cultivos bacterianos	extracción de ADN	ADN post cultivo
Gupta R	LPA para isoniazida y rifampicina	muestras clínicas (extrapulmonares)	cultivo líquido (MGIT) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Hofmann S	LPA para isoniazida y rifampicina	muestras clínicas (esputo)	decontaminación (NALC-NaOH) y extracción de ADN	ADN directo
			decontaminación (NALC-NaOH), cultivo líquido (MGIT) y extracción de ADN	ADN post cultivo
		Cepas caracterizadas/H37Rv	suspensiones bacterianas para las mezclas y extracción de ADN	mezclas artificiales de ADN

(Continuación) Tabla 6: Características operativas relacionadas con el procesamiento de la muestra y el tipo de material genético

Autor(es)	Método molecular	Origen de la muestra	Procesamiento de la muestra	Material genético
Liu Y	WGS	muestras clínicas (esputo)	cultivo sólido (LJ) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Shin S	TDS SMOR	muestras clínicas (esputo)	decontaminación (NALC-NaOH), cultivo en medio líquido o sólido y extracción de ADN	ADN post cultivo
Tilahun M	LPA para isoniazida y rifampicina	muestras clínicas (esputo)	decontaminación (NALC-NaOH), cultivo sólido (LJ) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Mekonnen D	LPA para isoniazida y rifampicina	muestras clínicas (esputo y extrapulmonares)	decontaminación (NALC-NaOH), cultivo sólido (LJ) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Bengtson H	TB-DzT	Cepas caracterizadas/H37Rv	suspensiones bacterianas para las mezclas y extracción de ADN	mezclas artificiales de ADN
Zhang R	MLP-RAP	muestras clínicas (esputo)	extracción de ADN (método de ebullición)	ADN directo
		cultivos bacterianos	extracción de ADN (método de ebullición)	ADN post cultivo
		Cepas caracterizadas/H37Rv	suspensiones bacterianas para las mezclas y extracción de ADN	mezclas artificiales de ADN
NikolayevskyyV.	LPA para isoniazida y rifampicina	muestras clínicas (esputo)	decontaminación (NALC-NaOH) y extracción de ADN	ADN directo
Operario D	NGS basado en amplicones, Secuenciamiento de Sanger (amplicones)	cultivos bacterianos	extracción de ADN (método de ebullición)	ADN post cultivo
Chakravorty S	qPCR con análisis de curva de fusión (Tm)	Cepas caracterizadas/H37Rv	suspensiones bacterianas para las mezclas y extracción de ADN	mezclas artificiales de ADN
		muestras clínicas (esputo)	cultivo en medio sólido (LJ) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Folkvardsen D	LPA para isoniazida y rifampicina, LPA para rifampicina y Secuenciamiento Sanger	Cepas caracterizadas/H37Rv	cultivo líquido (Dubos), suspensiones bacterianas para las mezclas y extracción de ADN	mezclas artificiales de ADN

(Continuación) Tabla 6: Características operativas relacionadas con el procesamiento de la muestra y el tipo de material genético

Autor(es)	Método molecular	Origen de la muestra	Procesamiento de la muestra	Material genético
Faye L	LPA para isoniazida y rifampicina	muestras clínicas (esputo)	decontaminación (NALC-NaOH) y extracción de ADN	ADN directo
Gao X	Nucleotide MALDI-TOF MS	muestras clínicas (esputo y extrapulmonares)	extracción de ADN	ADN directo
Narang A	qPCR basado en cebadores SuperSelectivos	Cepas caracterizadas/H37Rv	suspensiones bacterianas para las mezclas y extracción de ADN	mezclas artificiales de ADN
		muestras clínicas (esputo)	decontaminación (NALC-NaOH) y extracción de ADN	ADN directo
Ghebrekristos Y	TDS SMOR	muestras clínicas (esputo)	decontaminación (NALC-NaOH), cultivo líquido (MGIT) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Hu S	qPCR con análisis de curva de fusión (Tm)	Cepas caracterizadas/H37Rv	suspensiones bacterianas para las mezclas y extracción de ADN	mezclas artificiales de ADN
		muestras clínicas (esputo)	cultivo en medio sólido (LJ) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Vashistha H	LPA para isoniazida y rifampicina; Secuenciamiento Sanger (amplicones)	muestras clínicas (esputo)	decontaminación (NALC-NaOH), cultivo líquido (MGIT) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Sharma K	WGS	muestras clínicas (extrapulmonares)	cultivo en medio sólido (LJ) y líquido (MGIT) y extracción de ADN	ADN post cultivo
Faye L	LPA para isoniazida y rifampicina	muestras clínicas (esputo)	decontaminación (no especifica el método) y extracción de ADN	ADN directo
Nimmo C	WGS	muestras clínicas (esputo)	decontaminación (NALC-NaOH), cultivo líquido (MGIT) y extracción de ADN	ADN post cultivo

* No se especifica el origen del material genético

Tabla 7: Frecuencia del tipo de material genético empleado según método molecular

Método molecular	Material genético	n	(%)
Métodos basados en hibridación			
LPA para isoniazida y rifampicina	ADN directo	6	11,32
	ADN post cultivo	6	11,32
	mezclas artificiales de ADN	2	3,77
	ADN*	1	1,89
LPA para rifampicina	mezclas artificiales de ADN	1	1.89
Métodos basados en secuenciamiento			
Secuenciamiento Sanger	ADN directo	3	5,66
	ADN post cultivo	3	5,66
	mezclas artificiales de ADN	2	3,77
WGS	ADN post cultivo	5	9,43
	mezclas artificiales de ADN	1	1,89
NGS basado en amplicones	ADN directo	1	1,89
TDS SMOR	ADN post cultivo	3	5,66
Métodos basados en PCR			
dPCR	ADN directo	3	5,66
	mezclas artificiales de ADN	2	3,77
qPCR	mezclas artificiales de ADN	2	3,77
TB-DzT	mezclas artificiales de ADN	1	1,89
MLP-RAP	ADN directo	1	1,89
qPCR basado en cebadores SuperSelectivos	mezclas artificiales de ADN	1	1,89
qPCR con análisis de curva de fusión (Tm)	ADN directo	3	5,66
	ADN post cultivo	2	3,77
	mezclas artificiales de ADN	3	5,66
Métodos basados en espectrometría de masas			
Nucleotide MALDI-TOF MS	ADN directo	1	1,89
Frecuencia total de usos metodológicos		53	43,40

n: Frecuencia absoluta

(%): Frecuencia relativa

* No se especifica el origen del material genético

TDS SMOR: Single-molecule overlapping read Targeted Deep Sequencing; WGS: Whole Genome Sequencing; dPCR: Digital PCR; qPCR: quantitative PCR; TB-DzT: Multiplex detection of XDR TB using binary deoxyribozyme (BdZ) sensors; MLP-RAP: Multiplex LNA probe-based RAP; NGS: Next Generation Sequencing; Nucleotide MALDI-TOF MS: Nucleotide Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry; Tm: temperatura de fusión

Tabla 8: Síntesis de las características operativas de los métodos moleculares relacionadas con el tiempo de respuesta y los costos relativos

Métodos moleculares según su principio de funcionamiento	Tiempo de respuesta en horas	Costo relativo (\$)
Métodos basados en hibridación		
LPA para isoniazida y rifampicina	NR	NR
LPA para rifampicina	NR	NR
Métodos basados en secuenciamiento		
Secuenciamiento Sanger	NR	NR
WGS	72 (Vallejos)*	NR
NGS basado en amplicones	NR	NR
TDS SMOR	NR	NR
Métodos basados en PCR		
dPCR	24 (Pholwat)*	NR
qPCR	NR	NR
TB-DzT	4 (Bengtson)*	NR
MLP-RAP	1 (Zhang)*	4,5 (Zhang)
qPCR basado en cebadores SuperSelectivos	NR	NR
qPCR con análisis de curva de fusión (T _m)	1,45 (Hu)*	NR
Métodos basados en espectrometría de masas		
Nucleotide MALDI-TOF MS	NR	NR

* Autores que reportaron el tiempo de respuesta y/o costo relativo

NR: No reportado, la información no fue descrita en la fuente de evidencia.

TDS SMOR: Single-molecule overlapping read Targeted Deep Sequencing; WGS: Whole Genome Sequencing; dPCR: Digital PCR; qPCR: quantitative PCR; TB-DzT: Multiplex detection of XDR TB using binary deoxyribozyme (BiDz) sensors; MLP-RAP: Multiplex LNA probe-based RAP; NGS: Next Generation Sequencing; Nucleotide MALDI-TOF MS: Nucleotide Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry; T_m: temperatura de fusión

Figura 1: Frecuencia de genes identificados por los métodos moleculares que evalúan la heterorresistencia en *M. tuberculosis*

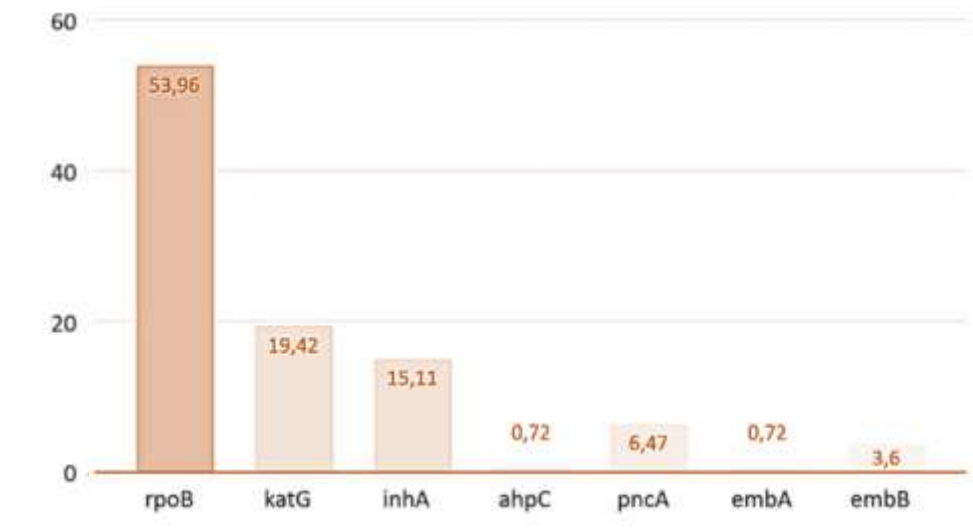
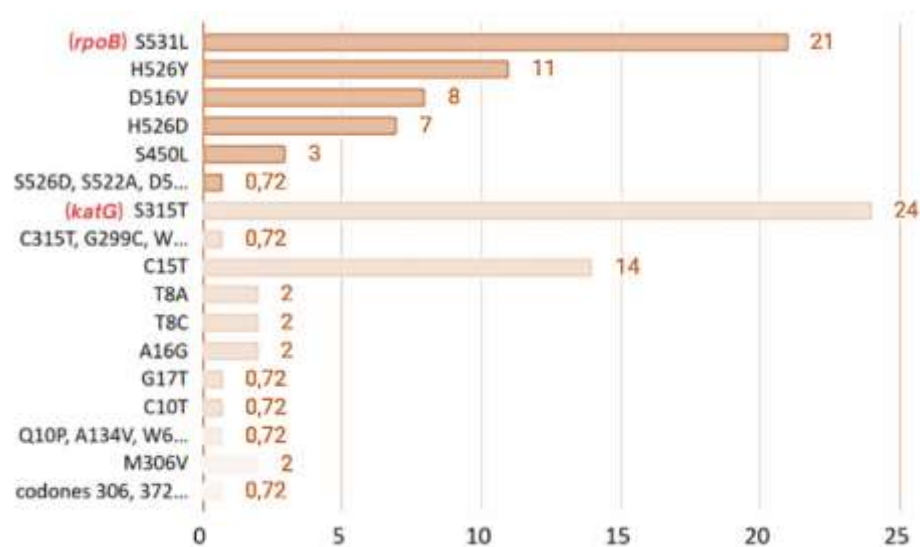


Figura 2: Frecuencia de variantes genéticas identificadas por los métodos moleculares que evalúan la heterorresistencia en *M. tuberculosis*



ANEXOS

Anexo 1: Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPOS Y ESCALA DE MEDICIÓN	INDICADOR
Método molecular para la detección de HTR	Técnicas basadas en el análisis del material genético (ADN o ARN) para identificar la presencia de diferentes poblaciones bacterianas dentro de un mismo cultivo	Tipo de prueba molecular empleada en el estudio que detecte la heterorresistencia en <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , como GeneXpert MTB/RIF, PCR digital, PCR digital de gotas, etc.	Cualitativa nominal	● Métodos basados en hibridación ● Métodos basados en secuenciamiento ● Métodos basados en PCR ● Métodos basados en el análisis de la curva de fusión ● Métodos basados en espectrometría de masas
Genes diana detectados	Secuencias específicas de ADN bacteriano que presentan cambios puntuales o inserciones/deleciones.	Registro de los genes específicas estudiados en los diferentes artículos, mediante métodos moleculares para detectar heterorresistencia en <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Cualitativa nominal	● <i>rpoB</i> ● <i>katG</i>, <i>inhA</i>, <i>ahpC</i> ● <i>pncA</i> ● <i>embA</i>, <i>embB</i>
Drogas de primera línea orales (antituberculoso)	Medicamentos que pertenecen al esquema estándar recomendado por OMS para el tratamiento de	Medicamentos de primera línea orales evaluados en los estudios y su relación con los genes Diana y mutación.	Cualitativa nominal	● Rifampicina (RIF) ● Isoniazida (INH) ● Pirazinamida (PZA) ● Etambutol (EMB)

s)	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>			
Características operativas	Atributos que describen el funcionamiento práctico, eficiencia y requisitos operativos de los métodos moleculares para detectar heterorresistencia.	Datos descriptivos reportados en los estudios sobre tiempo de respuesta, costos relativos por muestra, infraestructura requerida, origen del material genéticos y procesamiento de la muestra.	Cualitativa nominal	● Tiempo de respuesta ● Costo relativo ● Procesamiento de la muestra ● Tipo de material genético
Características técnico-analíticas	Atributos que describen el rendimiento y calidad de los métodos moleculares para detectar heterorresistencia.	Valores reportados en los artículos como límite de detección (% de poblaciones heterorresistentes detectado) y criterios bioinformáticos	Cuantitativa de intervalo	● Límite de detección ● Criterios bioinformáticos (conjunto de parámetros utilizados para el procesamiento, análisis y filtrado de datos de secuenciamiento. Incluyen umbrales de frecuencia alélica, profundidad de cobertura, criterios de calidad de lectura, estrategias de consenso y herramientas o pipelines bioinformáticos)

Anexo 2: Estrategia de búsqueda

Nº	Base de datos	Estrategia de búsqueda
Búsqueda 1	Ovid MEDLINE 1	("tuberculosis" mp. or "Mycobacterium tuberculosis" mp. or "MTB" mp. or "MeSH descriptor: [Tuberculosis] explode all trees". mp.) and ("heteroresistance" mp. or "hetero-resistance" mp. or "heteroresistant" mp. or "hetero-resistant" mp.)
	Ovid Cochrane 1	
	Ovid Embase 1	
Búsqueda 2	Ovid MEDLINE 2	(Mycobacterium tuberculosis/ or Tuberculosis/ or Tuberculosis, Multidrug-Resistant/ or Extensively Drug Resistant Tuberculosis. mp. or Extrapulmonary Tuberculosis. mp. or Infection. mp. or Multi-Drug Resistant Tuberculosis. mp. or Pulmonary Tuberculosis. mp. or mycobacterium tuberculosis mp. or mycobacterium tuberculosis h37rv mp.) and ((Rifampin or Rifampicin) mp. or Pyrazinamide/ or Rifampin/ or Ethambutol/ or Ethambutol. mp. or Isoniazid/ or Isoniazid. mp.) and (heteroresistance or hetero-resistance or heteroresistant or hetero-resistant or mixed resistance or heterogeneous resistance) mp. and (Early Diagnosis/ or Diagnosis/ or Diagnostic Tests, Routine/ or Molecular Diagnostic Techniques/ or Methods/ or diagnosis. mp. or detection. mp. or screening. mp. or molecular detection. mp.) [mp=title, book title, abstract, original title, name of substance word, subject heading word, floating sub-heading word, keyword heading word, organism supplementary concept word, protocol supplementary concept word, rare disease supplementary concept word, unique identifier, synonym, population supplementary concept word, anatomy supplementary concept word]
	Ovid Cochrane 2	(Mycobacterium tuberculosis/ or Tuberculosis/ or Tuberculosis, Multidrug-Resistant/ or Extensively Drug Resistant Tuberculosis. mp. or Extrapulmonary Tuberculosis. mp. or Infection. mp. or Multi-Drug Resistant Tuberculosis. mp. or Pulmonary Tuberculosis. mp. or mycobacterium tuberculosis. mp. or mycobacterium tuberculosis h37rv. mp.) and ((Rifampin or Rifampicin) mp. or Pyrazinamide/ or Rifampin/ or Ethambutol/ or Ethambutol. mp. or Isoniazid/ or Isoniazid. mp.) and (heteroresistance or hetero-resistance or heteroresistant or hetero-resistant or mixed resistance or heterogeneous resistance) mp. and (Early Diagnosis/ or
	Ovid Embase 2	(Mycobacterium tuberculosis/ or Tuberculosis/ or Tuberculosis, Multidrug-Resistant/ or Extensively Drug Resistant Tuberculosis. mp. or Multi-Drug Resistant Tuberculosis. mp. or mycobacterium tuberculosis. mp. or mycobacterium tuberculosis h37rv. mp.) and ((Rifampin or Rifampicin) mp. or Pyrazinamide/ or Rifampin/ or Ethambutol/ or Ethambutol. mp. or Isoniazid/ or Isoniazid. mp.) and (heteroresistance or hetero-resistance or heteroresistant or hetero-resistant or mixed resistance or heterogeneous resistance) mp. and (Early Diagnosis/ or Diagnosis/ or Diagnostic Tests, Routine/ or Molecular Diagnostic Techniques/ or Methods/ or diagnosis. mp. or detection. mp. or screening. mp. or molecular detection. mp.) [mp=title, abstract, heading word, drug trade name, original title, device manufacturer, drug manufacturer, device trade name, keyword heading word, floating subheading word, candidate term word]
Búsqueda 3	LILACS	("Mycobacterium tuberculosis" OR "M. tuberculosis" OR "MTB" OR "TB" OR "tuberculosis") AND (heteroresistan* OR heteroresistencia OR "mixed resistance" OR "heterogeneous resistance" OR "subpopulation resistance" OR "minor resistant population") AND ("rifampicin" OR "rifampin" OR "isoniazid" OR "ethambutol" OR "pyrazinamide")
Búsqueda 4	SCOPUS	(TITLE-ABS-KEY ("Mycobacterium tuberculosis" OR Tuberculosis OR MTB OR TB OR "Multidrug-Resistant Tuberculosis" OR "Extensively Drug Resistant Tuberculosis" OR "Multi-Drug Resistant Tuberculosis" OR "M. tuberculosis" OR "mycobacterium tuberculosis h37rv" OR "tuberculous infection" OR "MTB isolate" OR "M. tuberculosis isolate" OR "clinical MTB isolate" OR "clinical isolate of Mycobacterium tuberculosis" OR "M. tuberculosis strain") AND ALL (Rifampin OR Rifampicin OR Pyrazinamide OR Ethambutol OR Isoniazid) AND TITLE-ABS-KEY ("heteroresistance" OR "hetero-resistance" OR "heteroresistant" OR "hetero-resistant" OR "mixed resistance" OR "heterogeneous resistance") AND ALL ("Early Diagnosis" OR Diagnosis OR "Diagnostic Tests" OR "Molecular Diagnostic Techniques" OR Methods OR detection OR screening OR "molecular detection" OR "diagnostic accuracy" OR "molecular techniques" OR "molecular methods" OR "molecular detection" OR "molecular test" OR "genotypic methods" OR PCR OR "line probe assay" OR "GeneXpert" OR "next generation sequencing" OR "NGS"))
Búsqueda 5	SciELO	(("mycobacterium tuberculosis") OR (tuberculosis) OR (MTB) AND (heteroresistance) OR ("hetero-resistance") OR ("mixed resistance"))
Búsqueda 6	Google Scholar	("Mycobacterium tuberculosis" OR "M. tuberculosis" OR "MTB" OR "TB" OR "tuberculosis" OR "tuberculous infection" OR "MTB isolate" OR "M. tuberculosis isolate") + ("heteroresistance" OR "heteroresistant" OR "hetero-resistance" OR "hetero-resistant" OR "mixed resistance") + ("rifampicin" OR "rifampin" OR "isoniazid" OR "pyrazinamide" OR "ethambutol")
Búsqueda 7	Alicia (Concytec)	Mycobacterium tuberculosis AND heteroresistance
Búsqueda 8	Repositorio UPCH	Mycobacterium tuberculosis AND tuberculosis AND heteroresistance

Anexo 3: Flujograma PRISMA

