

Tuberculosis farmacoresistente: Mecanismos moleculares de *Mycobacterium tuberculosis*

Drug-resistance tuberculosis: Molecular mechanisms of *Mycobacterium tuberculosis*

**¹Anaximandro Gómez-Velasco, ²René Armando Rodríguez-Suárez, ³Pilar E. Granja-Pérez,
³Salha M. Villanueva-Jorge, ⁴José Q. García-Maldonado**

¹Departamento de Ecología Humana, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional, Unidad Mérida, Km. 6 Antigua carretera a Progreso, C. P. 97310, Mérida, Yucatán, México. Correo electrónico: anaximandro.gomez@cinvestav.mx ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5297-5967>

²Programa de Micobacteriosis, Servicios de Salud de Yucatán, Calle 72 No. 463 por 53 y 55, Col. Centro. Mérida, Yucatán, México. Correo electrónico: renerodriguez79@hotmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3521-2620>

³Laboratorio Estatal de Salud Pública del estado de Yucatán, Servicios de Salud de Yucatán, Calle 39-C No. 345-A x 2-A y 4, Col. Mayapán, Mérida, Yucatán. Correo electrónico: pilar.granja@ssy.gob.mx; salha.villanueva@ssy.gob.mx ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-0156-4495>; <https://orcid.org/0009-0002-6898-9372>

⁴Laboratorio de Patología Acuática, Departamento de Recursos de Mar, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional, Unidad Mérida, Km. 6 Antigua carretera a Progreso C. P. 97310, Mérida, Yucatán, México. Correo electrónico: jose.garcia@cinvestav.mx ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7023-3916>

*Autor para correspondencia

Recibido: 20 de julio del 2023

Aceptado: 18 de enero del 2024

Publicado: 31 de enero del 2024

<https://doi.org/10.33064/iycuaa2024914559>
e4559

Resumen

Mycobacterium tuberculosis (*M. tb*), es un patógeno humano que puede evadir la respuesta inmunológica del hospedero, así como desarrollar fármaco-resistencia a prácticamente todos los antibióticos anti-tuberculosis que se emplean para el tratamiento de la enfermedad. El objetivo de este trabajo fue realizar una revisión descriptiva de los mecanismos del hospedero (heterogeneidad del granuloma, adhesión al tratamiento) y de *M. tb* (tasa de mutación *in vitro* e *in vivo*, diversidad genética, resistencia innata, tasa metabólica, heterogeneidad de las poblaciones del bacilo, y epistasis) que intervienen en el desarrollo de la fármaco-resistencia de la bacteria.

Palabras clave: *Mycobacterium tuberculosis*, mutación, tuberculosis fármaco-resistente, evolución.

Abstract

In this traditional review, we describe factors from both *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tb*) and the host that are associated for tuberculosis drug-resistant. We review mutation rate, genetic diversity, innate resistance, metabolic rate, bacilli population heterogeneity, epistasis of *M. tb* that promote its resistance against most anti-tuberculosis drug treatment. We also describe how granuloma heterogeneity affects the activity of anti-tuberculosis

drugs as well as non-compliance of drug treatment promotes the evolution of drug-resistance tuberculosis.

Key words: tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, mutation, drug-resistance tuberculosis, evolution

Introducción

La tuberculosis (TB) es una enfermedad curable y prevenible. En el último reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se reporta un 86% de curación con el tratamiento estándar (WHO 2022). Sin embargo, la aparición de cepas fármaco-resistentes de *M. tb* ha complicado el control de la TB a nivel global. La OMS utiliza las siguientes categorías para clasificar la tuberculosis fármaco-resistente: (i) tuberculosis resistente a isoniácida (TB-RI); (ii) tuberculosis resistente a rifampicina (TB-RR); (iii) tuberculosis-multi-drogo-resistente (TB-MDR), causada por cepas resistentes a los medicamentos de primera línea más importantes contra la TB: la isoniazida y la rifampicina (WHO 2019); (iv) tuberculosis pre-extensamente resistente (pre-TB-XDR) causada por cepas resistentes a rifampicina y con resistencia adicional a cualquier fluoroquinolona (WHO 2019); (v) tuberculosis extensamente resistente (TB-XDR) que son cepas resistentes a rifampicina, con resistencia a cualquier fluoroquinolona y al menos a una de los siguientes antibióticos bedaquilina y linezolida. Los primeros casos de TB-XDR fueron registrados en Italia en el 2003 (Migliori et al. 2007), posteriormente en Irán (Velayati et al. 2009) y en la India (Udwadia et al. 2012), y Sud África (Auld et al. 2018).

La estructura poblacional de *M. tb* es esencialmente clonal, por lo que la transferencia horizontal de genes (THG) al parecer no tiene un rol en la biología del bacilo; *M. tb* no alberga plásmidos de resistencia y se ha discutido la presencia de *pili* (Mann et al. 2016). El principal mecanismo de adquisición de resistencia a los antibióticos ocurre principalmente a través de mutaciones en genes específicos asociados a la resistencia de los fármacos anti-tuberculosis (Nguyen et al. 2018).

Las mutaciones asociadas a antibióticos en *M. tb* son muy diversas. Para algunos antibióticos, como la isoniácida y la rifampicina, se han identificado una gran cantidad de mutaciones en los aislamientos clínicos (McGrath et al. 2014). A nivel global, la prevalencia de resistencia encontrada en isoniácida y pirazinamida fueron de 35 y 14%, respectivamente, mientras que para nuevos fármacos (bedaquilina y delamanida) la prevalencia reportada fue de $\leq 1.2\%$ (Walker et al. 2022). Para otros fármacos, como la

estreptomycin, and the majority of the second-line drugs, the mutations associated with resistance occur only in a small proportion of resistant isolates (Nguyen et al. 2018).

Despite the great diversity of mutation patterns observed at the global level, only specific mutations predominate. For example, in the case of resistance to rifampin, hundreds of mutations in the *rpoB* gene (gene that encodes the subunit of the RNA polymerase), although not necessarily all are associated with resistance to rifampin, but more than 80% of the resistant strains show mutations in three codons *rpoB*- 531, -526 and -516. Different mutations in the same gene can produce diverse phenotypes, for example, mutations in the *rpoB* gene (- S531L, - H526Y, -H526D and -H526R), usually are associated with high levels of resistance to rifampin, while mutations in the same gene (- L511P, -H526L, -H526N, -L533P and -I572F) are generally related to low levels of resistance to this antibiotic. On the other hand, mutations in different regions of the same gene can be associated with different resistance phenotypes to different drugs. Mutations in the region 530 and the region 915 of the *rrs* gene (gene that encodes the 16S ribosomal RNA, component of the small subunit of the prokaryotic ribosome) are associated with resistance to streptomycin, while mutations in the region 1400-1500 are related to resistance to kanamycin, amikacin and capreomycin (Nguyen et al. 2018). In table 1 the main mutations associated with resistance to first and second line drugs in clinical isolates of *M. tb*.

Multiple factors, both of the host and of *M. tb*, influence the selection of drug-resistant strains during infection. In the host, the immune system, the pathology of the disease (heterogeneity of lesions and its effect on the spatial distribution of drugs), and the patient's behavior determine the mechanisms of drug resistance. On the other hand, in *M. tb* it has been determined that intrinsic resistance, errors during replication, and, recently, epistasis, are some of the mechanisms associated with drug resistance of the bacillus.

Tabla 1
 Polimorfismos genéticos asociados con la resistencia a fármacos de primera y segunda línea en aislados clínicos de *M. tb*. Se muestran las mutaciones más comunes encontradas para los principales grupos de medicamentos anti-tuberculosis

| | Antibiótico | Genes asociados a resistencia | |
|---------------|---------------------------|---|---|
| | | Reconocidos en el catálogo estándar | Reportados en la literatura y base de datos |
| Primera línea | Isoniacida | de la OMS (Walker et al. 2022) <i>inhA</i> : 5 codones reconocidos | <i>ahpC</i> , <i>ndh</i> , <i>fabG1</i> , Rv1258c, <i>mshA</i> , Rv2752c, Rv1258c (Dai et al. 2019; Ghosh y Saha 2020; Sandgren et al. 2009; WHO 2021) |
| | Rifampicina | <i>katG</i> : 3 codones reconocidos <i>rpoB</i> : 24 codones reconocidos | Rv2752c, <i>rpoA</i> , <i>rpoC</i> , <i>embB</i> (Dai et al. 2019; Ghosh y Saha 2020; Sandgren et al. 2009; WHO 2021) |
| | Etambutol | <i>embB</i> : 14 codones asociados | Rv0340, <i>iniB</i> , <i>iniA</i> , <i>iniC</i> , <i>embr</i> , Rv3124, Rv3125c, Rv3126, Rv3264c, Rv3266c, <i>ubiA</i> (Dai et al. 2019; Ghosh y Saha 2020; Sandgren et al. 2009; WHO 2021) |
| | Pirazinamida | <i>embA</i> : 1 codon <i>pncA</i> : se han determinado 105 variantes del gen | <i>rpsA</i> , <i>panD</i> (Shi et al. 2020; WHO 2021; Zhang et al. 2014) |
| Segunda línea | Amikacina | <i>eis</i> y <i>rrS</i> | <i>ahpB</i> , <i>ccsA</i> , <i>whiB6</i> , <i>whiB7</i> , <i>fprA</i> (Georghiou et al. 2012; Maus, Plikaytis, y Shinnick 2005; WHO 2021) |
| | Estreptomicina | <i>rrS</i> , <i>gid</i> , <i>rrS</i> | <i>whiB6</i> , <i>whiB7</i> , Rv2004c, <i>lipF</i> (Rv3487c), Rv1860, Rv1980c, Rv2140c, Rv1636, Rv1926c, <i>ppsA</i> , Rv3919c (Cohen et al. 2020; Rocha et al. 2021; WHO 2021) |
| | levofloxacina | <i>gyrA</i> : 8 variantes reconocidas | <i>gyrB</i> (Hameed et al. 2019; WHO 2021; Zhang et al. 2022) |
| | Moxifloxacina | <i>gyrA</i> : 8 variantes reconocidas <i>gyrB</i> : 1 variante reconocida | (Hameed et al. 2019; WHO 2021; Zhang et al. 2022) |
| | Bedaquilina y clofazimina | La OMS no asocia mutaciones para estos antibióticos. | Rv0678 (<i>mmpR</i>), <i>atpE</i> , <i>pepQ</i> y Rv1979c (Hartkoon, Uplekar, y Cole 2014; Ismail et al. 2019; Kaniga et al. 2022) |
| | Linezolid | <i>rplC</i> | <i>rrL</i> , <i>rrS</i> (Azimi et al. 2022; Zong et al. 2018) |
| | Ácido p-aminosalicílico | | <i>thyA</i> , <i>folC</i> , <i>ribD</i> (Rengarajan et al. 2004; Zhang et al. 2015) |
| | Delamanida | <i>ddN</i> | <i>fbiA</i> , <i>fbiB</i> , <i>fbiC</i> , <i>fgd1</i> , Rv2983 (Bloemberg et al. 2015; Reichmuth et al. 2020) |
| | Etionamida | <i>ethA</i> , <i>inhA</i> | Rv3083, <i>mshA</i> , <i>ethR</i> , <i>ndH</i> (Malinga et al. 2016; Rueda et al. 2015) |

Elaboración propia a partir de las referencias citadas.

Sistema inmunológico del hospedero

El nicho primario de *M. tb* son los macrófagos, aunque otros tipos de células pueden ser infectadas. Los macrófagos producen especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas del nitrógeno (ERN) como mecanismo de defensa antibacteriano. La interacción de ERO y ERN con el ADN tiene consecuencias mutagénicas, porque una vez producida la conversión de óxido nítrico en anhídrido nitroso y/o peroxinitrito puede provocar la desaminación de bases de ADN como la guanina y la citosina (Burney et al. 1999; Dartois 2014). Sin embargo, *M. tb* expresa genes de detoxificación como (AhpC, KatG, el regulon DosR), produce micotiol (agente reductor de bajo peso molecular), algunos de los mecanismos que le permiten la desintoxicación de EOR y ERN, y que le son esenciales para la supervivencia en el hospedero (Dartois 2014; Newton, Buchmeier, y Fahey 2008; Warner y Mizrahi 2006).

Experimentos *in vitro* han determinado que la tasa de mutación (frecuencia en la que se producen nuevas mutaciones en un gen o secuencia del genoma de un organismo en cada generación) de *M. tb* no es elevada en comparación con otras bacterias (Cohen et al. 2019). Por esta razón, se espera que las cepas de *M. tb* resistentes surjan como consecuencia de errores espontáneos en la replicación del ADN que posteriormente se seleccionan bajo la presión del antibiótico aplicado (McGrath et al. 2014). A pesar de esta baja tasa de mutación, el número de casos de TB resistente a los antibióticos, especialmente TB-MDR y TB-XDR, aumenta de manera constante en todo el mundo. En el último informe de la OMS se reportó 450,000 casos de MDR-TB y 23,038 casos de XDR-TB (WHO 2022).

La secuenciación del genoma completo de cepas de *M. tb* ha permitido: la identificación de casos de reciente transmisión, re-infección, generar información sobre la evolución de la fármaco-resistencia en pacientes, diferenciar la adquisición de resistencia *de novo* (cuando surgen mutaciones de resistencia dentro de un hospedero) así como de la transmisión de fármaco-resistencia (Cohen et al. 2019). Esta tecnología fue usada para detectar polimorfismos de nucleótido únicos (PNUs) de *M. tb* en muestras de esputo (Figura 1) obtenidas en una serie de tres pacientes durante el tratamiento anti-tuberculosis (Sun et al. 2012). Este estudio determinó el desarrollo entre 8 y 41 PNUs durante el tratamiento en cada muestra, y hasta 34 PNUs fueron exclusivos de una sola muestra. La mayoría de los PNUs se detectaron en frecuencias inferiores al 20% en cada muestra, lo que indica que la población bacilar de las muestras de esputo se caracterizó por una alta microheterogeneidad. En otro estudio se detectó diferentes mutaciones en los genes *rpsL* y *rrs* de cepas aisladas en muestras obtenidas en serie de un solo paciente. El estudio también

determinó la coexistencia transitoria de algunas mutaciones, así como sucesivos barridos clonales de otras mutaciones, lo que sugiere una interacción dinámica entre la variabilidad genética de las cepas de *M. tb* y las presiones selectivas asociadas del hospedero (Mariam et al. 2011).

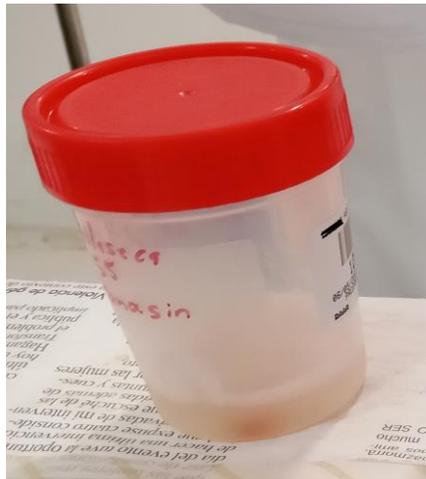


Figura 1. Muestra de esputo la cual es usada para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. La muestra corresponde a una persona con alta sospecha a fármaco-resistencia debido a que no está respondiendo al tratamiento de primera línea anti-tuberculosis.

Los niveles de diversidad genética asociadas a genes de resistencia identificados en los estudios anteriormente descritos implican que *M. tb* podría tener una tasa de mutación elevada dentro del hospedero en comparación con la calculada *in vitro* (Mariam et al. 2011; Sun et al. 2012). Sin embargo, es importante recordar que la fijación de mutaciones espontáneas ocurre durante la replicación, lo que supone que la tasa de mutación, depende de la tasa de replicación. Esto plantea la posibilidad de que la tasa de replicación puede ser mayor en el hospedero de lo que se pensaba anteriormente, lo que también implica un continuo crecimiento de las micobacterias en la fase latente de la infección (McGrath et al. 2014).

Heterogeneidad de las lesiones

La infección por *M. tb* es inicialmente contenida dentro del hospedero en estructuras organizadas llamadas granulomas, que son el sello patológico de la TB. La estructura clásica del granuloma consiste en un núcleo necrótico llamado cáseum (del latín caseum debido a su apariencia de queso) rodeado principalmente macrófagos, neutrófilos, células T y B, neutrófilos, fibroblastos, entre otras células (Figura 2A). El núcleo necrótico es el resultado de

la lisis bacteriana y de la acción de las células del hospedero. A medida que las lesiones pulmonares evolucionan, los granulomas celulares se convierten en granulomas necrotizantes y se pueden observar varias capas de fibroblastos, que funcionan para contener la infección. La formación de los granulomas es dinámica y esta heterogeneidad podría considerarse amigo-enemigo, ya que funciona para contener al patógeno, pero también hace que la erradicación quimioterapéutica sea extremadamente difícil debido al secuestro de bacilos dentro de compartimientos de lesiones remotas y protegidas con poca penetración de los fármacos (Lenaerts, Barry, y Dartois 2015). (Figura 2A).

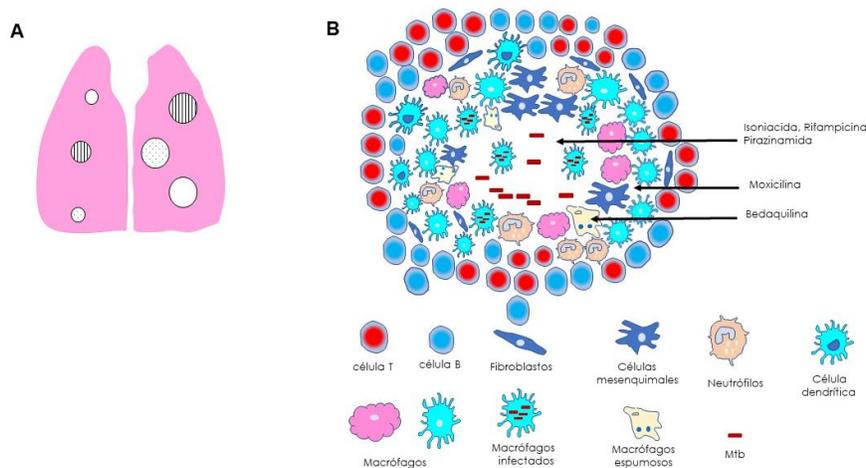


Figura 2. Granulomas y distribución de los fármacos-antituberculosis

Figura 2. A) El granuloma es una estructura importante para la contención de la infección por *M. tb*. La estructura clásica del granuloma consiste en un núcleo necrótico, el cáseum, rodeado por macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, células T y B, fibroblastos, y otras células. B) La composición y heterogeneidad de los granulomas influye en la penetración y localización de los fármacos anti-tuberculosis. Isoniacida, pirazinamida, rifampicina penetran y se localizan en el cáseum necrótico, mientras que la moxicilina suele concentrarse en el anillo del granuloma, y bedaquilina es concentrada en macrófagos espumosos. Adaptada de Cadena (2017).

Heterogeneidad espacial en la distribución de los fármacos

Estudios han demostrado que existe una considerable variabilidad en la penetración del fármaco en los granulomas, lo que genera una variación espacial en las concentraciones del fármaco dentro de la lesión infectada. Experimentalmente se ha demostrado que la isoniacida (Lavin y Tan 2022), pirazinamida y la rifampicina (Prideaux et al. 2015; Santucci et al. 2022) pueden difundirse y acumularse en el cáseum necrótico, mientras que otros

antibióticos no penetran esta estructura, como la moxifloxacina que se concentra en el anillo del granuloma (Blanc et al. 2018), y la bedaquilina que se acumula en macrófagos espumosos, denominados así por su alto contenido de colesterol y triglicéridos (Fearn et al. 2020; Santucci et al. 2021) (Figura 2B). Es probable que estos procesos generen variaciones espaciales y temporales en las concentraciones de los antibióticos, facilitando la evolución de la fármaco-resistencia.

Variabilidad fármaco-cinética entre los pacientes

El régimen de dosificación actual para el tratamiento de la TB no genera concentraciones esterilizantes de ciertos fármacos anti-tuberculosis en todos los pacientes lo cual puede contribuir al fracaso del tratamiento, así como facilitar la evolución de la fármaco-resistencia. Poco se sabe acerca de los factores que influyen en la distribución del fármaco desde el plasma a la variedad de tejidos, nódulos y cavidades que están habitadas por *M. tb* (Lenaerts et al. 2015). Por ejemplo, las concentraciones de isoniacida, rifampicina y pirazinamida en los granulomas celulares son más bajas que en el plasma, aunque la rifampicina parece acumularse en el tejido pulmonar no afectado (Ordóñez et al. 2020).

Resistencia innata de *M. tb*

La resistencia intrínseca de *M. tb* se ha atribuido tradicionalmente a su pared celular compleja, formada por ácidos micólicos y diversas familias de lípidos, que le proporciona baja permeabilidad para la mayoría de los antibióticos (Dulberger, Rubin, y Boutte 2020; Vilchère 2020). Otro mecanismo de resistencia innata son las bombas de eflujo de drogas (proteínas transmembranales responsables de mover los compuestos fuera de las células) también contribuye a la resistencia a los antibióticos bacterianos (Laws, Jin, y Rahman 2022; Poulton y Rock 2022). *M. tb* posee cinco superfamilias de estas bombas, lo cual indica que el bacilo puede mantener concentraciones sub-inhedoras de diversos antibióticos y como consecuencia podrían ayudar en la generación de mutaciones en la bacteria (Laws et al. 2022). Un mecanismo adicional es la modificación del antibiótico o de su blanco molecular debido a la acción de enzimas. Estas enzimas a menudo permiten la acetilación o la metilación del fármaco o de su objetivo molecular para evitar el reconocimiento y su interacción. *M. tb* y *M. bovis* contienen en su genoma el gen *erm37* que codifica una metiltransferasa de ARNr que bloquea las interacciones entre los macrólidos y el ribosoma (Al-Saeedi y Al-Hajoj 2017). Recientemente, se ha descrito que el producto del gene *cinA*

promueve tolerancia a isoniacida, etionamida, delamanida y pretomanida (Kreutzfeldt et al. 2022).

Tamaño y heterogeneidad de las poblaciones de *M. tb* durante la infección

Cuanto más grande es la población de *M. tb*, más eventos de división celular experimenta y, por lo tanto, mayor probabilidad de que surja una mutación con resistencia a los antibióticos. Además, si una mutación que confiere resistencia evoluciona temprano durante la expansión de la población, la gran mayoría de la población será resistente a un medicamento determinado, incluso antes del inicio del tratamiento. Se desconoce el número de células de *M. tb* presentes en los pulmones de humanos durante la infección. Las mejores estimaciones de células viables de *M. tb* se han obtenido de los pulmones de un modelo animal, el macaco cangrejero (*Macaca fascicularis*), en los que se ha determinado aproximadamente entre 10^5 y 5×10^8 células de *M. tb* por pulmón (Gygli et al. 2017).

M. tb puede formar subpoblaciones aisladas (heterogeneidad poblacional) dentro del hospedero, la cual está relacionada con el estado clínico de la enfermedad (latente, incipiente, subclínica, o activa), sitio de lesión, diversidad genética y tasa metabólica del bacilo, entre otros factores. Esta heterogeneidad poblacional puede dar origen a la fármaco-resistencia (Mitchison 1980; Ordonez et al. 2020). Durante el tratamiento anti-tuberculosis, pueden existir subpoblaciones de bacilos que pueden tolerar fenotípicamente mayores concentraciones de drogas: son los denominados bacilos persistentes (Mariam et al. 2011). Las subpoblaciones de bacilos que se encuentran en un estado de crecimiento lento o sin crecimiento (la acción de los fármacos requiere que los bacilos se estén replicando) son persistentes a la muerte por la mayoría de los antibióticos contra la TB, un fenómeno conocido como tolerancia fenotípica (Castro, Borrell, y Gagneux 2021). Sin embargo, no son genéticamente resistentes (es decir, la resistencia a los antibióticos no será heredada a las células hijas). La resistencia requiere una diferenciación fenotípica en células persistentes y a menudo está vinculada a un estado de crecimiento lento o de latencia. Este proceso puede ser desencadenado por varios factores, como la escasez de recursos, percepción de cuórum (quorum sensing), las señales intracelulares y el tratamiento con antibióticos, que en conjunto define la tasa metabólica de *M. tb*. Por ejemplo, se ha demostrado que poblaciones de *M. tb* que no se replican son resistentes a la isoniacida, mientras que los bacilos en división son susceptibles a la misma (Müller et al. 2013). Aunque los mecanismos de persistencia se han estudiado ampliamente *in vitro*, cuantificar el

alcance de este fenómeno en las lesiones y dilucidar su efecto *in vivo* es un desafío. Esta heterogeneidad poblacional también está mediada *in vivo*. En un estudio se examinaron siete cepas aisladas de tres pacientes distintos (Sun et al. 2012). El primer paciente estaba infectado con cepas de *M. tb* libres de resistencia a los medicamentos, pero después de 19 meses de tratamiento, se detectaron cuatro mutaciones independientes: tres mutaciones en *katG* y una mutación en la región reguladora del gen *inhA*. Después de 5 meses, la mayoría de las mutaciones se revirtieron y solo se detectó una mutación en el *katG*. El segundo paciente albergaba una cepa de *M. tb* con una mutación en *rpoB* (L533P) pero aún era sensible a rifampicina. Después de 18 meses, la mutación L533P fue reemplazada por una segunda mutación en *rpoB* (H526Y), lo que condujo a la cepa inicial a desarrollar resistencia a rifampicina. El tercer paciente fue un caso de recaída de TB con dos mutaciones no fijadas de *ethA* (L35R y A341E) después de 11 meses de tratamiento que no mostraron cambios en el estado de resistencia a etambutol (Sun et al. 2012). Estos estudios indican que la selección *in vivo* de mutaciones puede ocurrir a través de la competencia entre diferentes poblaciones con distintas mutaciones resistentes a los medicamentos.

El tipo de mutación se ha correlacionado con los antecedentes genéticos de los linajes de *M. tb*. Actualmente se reconocen nueve linajes. Por ejemplo, la mutación *katG* S315T (Tabla 1) prevalece en el linaje 2; por el contrario, la mutación *inhA*-15 está asociada principalmente con el linaje 1. La mutación S531L en el gen *rpoB* se observa principalmente en el linaje 2, mientras que la mutación *rpoB* D516V es más frecuente en el linaje 4 (familia LAM) (Nguyen et al. 2018). Estas diferencias podrían atribuirse a una alta tasa de mutaciones espontáneas acumuladas durante la replicación. Estudios epidemiológicos han determinado que las cepas del linaje 2 tienen mayor tasa de resistencia que varía entre 1.6×10^{-5} a 5.4×10^{-3} en comparación con el linaje 1 (Al-Saeedi y Al-Hajoj 2017).

Errores durante la replicación del ADN bajo la presión del antibiótico aplicado

Las polimerasas de ADN pueden tener una fidelidad reducida durante la replicación y producir mutaciones en un gen y/o secuencia en el genoma de *M. tb* en cada división celular. La frecuencia de las mutaciones nuevas y la tasa de mutación, por lo tanto, dependen principalmente de la actividad de las polimerasas de ADN. La tasa de mutación asociada a la resistencia a los antibióticos, se define como la frecuencia *in vitro* a la que surgen mutantes detectables en una población bacteriana en presencia de una concentración específica de un antibiótico (Warner et al. 2017).

Las mutaciones en los genes que codifican las proteínas metabólicas del ADN pueden conducir a la aparición de cepas mutantes que tienen una ventaja selectiva a corto plazo, debido a su capacidad para producir un mayor número de mutaciones adaptativas (hipermutante). En algunos casos, estos mutantes se mantienen debido a su asociación con otras mutaciones benéficas, pero solo mientras esta particularidad contrarresta (o excede) el costo inherente al mayor riesgo de generar mutaciones perjudiciales. Por ejemplo, se ha planteado la hipótesis de que las cepas "Beijing" podrían exhibir hipermutación porque esta familia de cepas alberga varias sustituciones no sinónimas en diversos genes. Experimentos *in vitro* determinaron que las cepas Beijing se asociaron con frecuencias de mutación significativamente más altas en comparación con las cepas aisladas de las Indias del Este de África (EAI) cuando se cultivaron en presencia de rifampicina. Sin embargo, la posible asociación de las cepas Beijing con la resistencia adquirida a los antibióticos podría atribuirse a otros factores distintos de la tasa de mutación. También podría depender de factores específicos *in vivo*, dentro del hospedero (aumento del estrés oxidativo y/o la exposición a fármacos anti-tuberculosis) y de la bacteria (5 familias de proteínas que actúan como bombas de eflujo, una mayor tasa de replicación o una mayor capacidad de adaptación), que en conjunto podrían inducir una tasa de mutación elevada (Laws et al. 2022; McGrath et al. 2014).

Por otro lado, algunas mutaciones son transitorias (fenotipo mutante transitorio), lo que podría aumentar su tasa de mutación con el tiempo. En este sentido, debe señalarse que la evolución de la resistencia a los medicamentos dentro de un hospedero no siempre es lineal y, en cambio, puede implicar una interacción compleja de poblaciones heterogéneas de *M. tb*. En particular, la diversidad genética transitoria puede existir antes de que emerja un clon dominante. Por ejemplo, en un estudio en el que siguió a un paciente con TB-XDR durante 3.5 años y realizó la secuenciación del genoma de nueve cepas distintas de *M. tb* aisladas del mismo paciente. Los autores observaron un alto nivel de heterogeneidad en las poblaciones aisladas: se identificaron 35 mutaciones, incluidas 20 mutaciones transitorias y 15 fijas. Finalmente, el estudio determinó que 12 mutaciones estaban relacionadas con la resistencia a los medicamentos, aunque solo siete de estas mutaciones alcanzaron la etapa de fijación (Eldholm et al. 2014). Estas observaciones sugieren que la competencia entre mutantes puede ser una característica común en poblaciones de *M. tb* que adquieren fármaco-resistencia *in vivo*. Aunque múltiples mutantes transitorios coexisten en el mismo espacio y tiempo, en última instancia, solo se seleccionará un único tipo de mutante.

Epistasis

La epistasis describe el fenómeno en el que la interacción de dos o más genes/alelos produce un efecto sobre el fenotipo, es decir, cuando la expresión de uno o más genes dependen de la expresión de otro gen (Jones et al. 2022). El tratamiento estándar contra la TB es una combinación de cuatro antibióticos, por lo tanto, podría existir una gran presión selectiva de cepas de *M. tb* que podrían adquirir resistencia a varios fármacos utilizados durante este tratamiento (Castro et al. 2021). El efecto de múltiples mutaciones de resistencia a los medicamentos en el fenotipo de *M. tb* depende de las interacciones epistáticas de las diferentes mutaciones de resistencia entre sí y de la diversidad genética de la cepa. Este mecanismo puede generar la combinación de un conjunto de alelos en diferentes *loci*, también llamado desequilibrio del ligamiento (propiedad de algunos genes de las poblaciones de no segregar de forma independiente). La propagación de estos conjuntos de alelos co-adaptados en la población se ve favorecida por el modo reproductivo clonal de *M. tb* (Gygli et al. 2017).

Los antibióticos contra *M. tb* tienen sus blancos moleculares sobre procesos celulares importantes, que van desde de la transferencia de información del ADN al ARNm, a las proteínas, al inhibir las enzimas clave involucradas en estos procesos. Las mutaciones en enzimas individuales o en combinación tienen efectos pleiotrópicos sobre la aptitud de *M. tb*. Por ejemplo, las micobacterias que llevan una mutación en la subunidad β de ARN polimerasa dirigida por ADN (RpoB), que causa resistencia a la rifampicina, y una mutación que confiere resistencia a la fluoroquinolona en la subunidad A de la girasa A (GyrA) de ADN, pueden tener una mayor aptitud competitiva que las cepas que solo tienen una de estas mutaciones (Gagneux 2018). Las infecciones con cepas de TB-MDR se tratan con regímenes farmacológicos que contienen fluoroquinolonas. Las mutaciones de resistencia a fluoroquinolona evolucionarán principalmente en cepas de *M. tb* resistentes a rifampicina. La epistasis, por lo tanto, puede conducir a la competencia con otras cepas, transmisión, nivel y amplificación de resistencia, con resultados clínicos diversos (Gygli et al. 2017).

Conclusiones

La emergencia global de las diferentes formas de tuberculosis fármaco-resistente hacen necesario comprender los mecanismos por las que *M. tb* adquiere resistencia a los fármacos anti-tuberculosis. En esta revisión describimos que la tasa de mutación *in vivo* e *in vitro*, heterogeneidad poblacional del bacilo, la resistencia innata mediada, la epistasis son

factores que modulan y mantienen la fármaco-resistencia de *M. tb*. Por otro lado, el sistema inmunológico del hospedero observado en la heterogeneidad de granulomas, variabilidad cinética de los fármacos anti-tuberculosis, son también factores que promueven el desarrollo de fármaco-resistencia de *M. tb*.

Dada la carga financiera y las dificultades logísticas asociadas con el tratamiento de los casos con fármaco-resistencia, es importante comprender los mecanismos evolutivos que promueven la aparición de *M. tb* altamente resistente a los fármacos anti-tuberculosis. Es necesario y urgente determinar la magnitud de estos casos para interrumpir la transmisión de cepas más difíciles de tratar.

Referencias.

- Al-Saeedi, Mashael, y Sahal Al-Hajoj. 2017. «Diversity and evolution of drug resistance mechanisms in *Mycobacterium tuberculosis*». *Infection and Drug Resistance* 10:333-42. doi: 10.2147/IDR.S144446.
- Auld, Sara C., N. Sarita Shah, Barun Mathema, Tyler S. Brown, Nazir Ismail, Shaheed Vally Omar, James C. M. Brust, Kristin N. Nelson, Salim Allana, Angela Campbell, Koleka Mlisana, Pravi Moodley, y Neel R. Gandhi. 2018. «Extensively Drug-Resistant Tuberculosis in South Africa: Genomic Evidence Supporting Transmission in Communities». *The European Respiratory Journal* 52(4):1800246. doi: 10.1183/13993003.00246-2018.
- Azimi, Taher, Saeed Khoshnood, Arezoo Asadi, Mohsen Heidary, Hassan Mahmoudi, Vahab Hassan Kaviar, Masoume Hallajzadeh, y Mohammad Javad Nasiri. 2022. «Linezolid Resistance in Multidrug-Resistant *Mycobacterium Tuberculosis*: A Systematic Review and Meta-Analysis». *Frontiers in Pharmacology* 13:955050. doi: 10.3389/fphar.2022.955050.
- Blanc, Landry, Isaac B. Daudelin, Brendan K. Podell, Pei-Yu Chen, Matthew Zimmerman, Amanda J. Martinot, Rada M. Savic, Brendan Prideaux, y Véronique Dartois. 2018. «High-Resolution Mapping of Fluoroquinolones in TB Rabbit Lesions Reveals Specific Distribution in Immune Cell Types». *eLife* 7:e41115. doi: 10.7554/eLife.41115.
- Bloemberg, Guido V., Peter M. Keller, David Stucki, Andrej Trauner, Sonia Borrell, Tsoygal Latshang, Mireia Coscolla, Thomas Rothe, Rico Hömke, Claudia Ritter, Julia Feldmann, Bettina Schulthess, Sebastien Gagneux, y Erik C. Böttger. 2015. «Acquired

Resistance to Bedaquiline and Delamanid in Therapy for Tuberculosis». *The New England Journal of Medicine* 373(20):1986-88. doi: 10.1056/NEJMc1505196.

- Burney, S., J. L. Caulfield, J. C. Niles, J. S. Wishnok, y S. R. Tannenbaum. 1999. «The Chemistry of DNA Damage from Nitric Oxide and Peroxynitrite». *Mutation Research* 424(1-2):37-49. doi: 10.1016/s0027-5107(99)00006-8.
- Cadena, Anthony M., Sarah M. Fortune, y JoAnne L. Flynn. 2017. «Heterogeneity in Tuberculosis». *Nature Reviews. Immunology* 17(11):691-702. doi: 10.1038/nri.2017.69.
- Castro, Rhastin A. D., Sonia Borrell, y Sebastien Gagneux. 2021. «The Within-Host Evolution of Antimicrobial Resistance in *Mycobacterium Tuberculosis*». *FEMS Microbiology Reviews* 45(4):fuaa071. doi: 10.1093/femsre/fuua071.
- Cohen, Keira A., Abigail L. Manson, Christopher A. Desjardins, Thomas Abeel, y Ashlee M. Earl. 2019. «Deciphering Drug Resistance in *Mycobacterium Tuberculosis* Using Whole-Genome Sequencing: Progress, Promise, and Challenges». *Genome Medicine* 11(1):45. doi: 10.1186/s13073-019-0660-8.
- Cohen, Keira A., Katharine E. Stott, Vanisha Munsamy, Abigail L. Manson, Ashlee M. Earl, y Alexander S. Pym. 2020. «Evidence for Expanding the Role of Streptomycin in the Management of Drug-Resistant *Mycobacterium Tuberculosis*». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 64(9):e00860-20. doi: 10.1128/AAC.00860-20.
- Dai, Enyu, Hao Zhang, Xu Zhou, Qian Song, Di Li, Lei Luo, Xinyu Xu, Wei Jiang, y Hong Ling. 2019. «MycoResistance: A Curated Resource of Drug Resistance Molecules in *Mycobacteria*». *Database: The Journal of Biological Databases and Curation* 2019. doi: 10.1093/database/baz074.
- Dartois, Véronique. 2014. «The Path of Anti-Tuberculosis Drugs: From Blood to Lesions to *Mycobacterial* Cells». *Nature Reviews. Microbiology* 12(3):159-67. doi: 10.1038/nrmicro3200.
- Dulberger, Charles L., Eric J. Rubin, y Cara C. Boutte. 2020. «The *Mycobacterial* Cell Envelope — a Moving Target». *Nature Reviews Microbiology* 18(1):47-59. doi: 10.1038/s41579-019-0273-7.
- Eldholm, Vegard, Gunnstein Norheim, Bent von der Lippe, Wibeke Kinander, Ulf R. Dahle, Dominique A. Caugant, Turid Mannsåker, Anne Torunn Mengshoel, Anne Ma Dyrhol-Riise, y Francois Balloux. 2014. «Evolution of Extensively Drug-Resistant *Mycobacterium Tuberculosis* from a Susceptible Ancestor in a Single Patient». *Genome Biology* 15(11):490. doi: 10.1186/s13059-014-0490-3.

- Fearn, Antony, Daniel J. Greenwood, Angela Rodgers, Haibo Jiang, y Maximiliano G. Gutierrez. 2020. «Correlative Light Electron Ion Microscopy Reveals in Vivo Localisation of Bedaquiline in Mycobacterium Tuberculosis-Infected Lungs». *PLoS Biology* 18(12):e3000879. doi: 10.1371/journal.pbio.3000879.
- Gagneux, Sebastien. 2018. «Ecology and Evolution of Mycobacterium Tuberculosis». *Nature Reviews Microbiology* 16(4):202-13. doi: 10.1038/nrmicro.2018.8.
- Georghiou, Sophia B., Marisa Magana, Richard S. Garfein, Donald G. Catanzaro, Antonino Catanzaro, y Timothy C. Rodwell. 2012. «Evaluation of Genetic Mutations Associated with Mycobacterium Tuberculosis Resistance to Amikacin, Kanamycin and Capreomycin: A Systematic Review». *PloS One* 7(3):e33275. doi: 10.1371/journal.pone.0033275.
- Ghosh, Abhirupa, Saran N, y Sudipto Saha. 2020. «Survey of Drug Resistance Associated Gene Mutations in Mycobacterium Tuberculosis, ESKAPE and Other Bacterial Species». *Scientific Reports* 10(1):8957. doi: 10.1038/s41598-020-65766-8.
- Gygli, Sebastian M., Sonia Borrell, Andrej Trauner, y Sebastien Gagneux. 2017. «Antimicrobial Resistance in Mycobacterium Tuberculosis: Mechanistic and Evolutionary Perspectives». *FEMS Microbiology Reviews* 41(3):354-73. doi: 10.1093/femsre/fux011.
- Hameed, H. M. Adnan, Yaoju Tan, Md Mahmudul Islam, Lingmin Guo, Chiranjibi Chhotaray, Shuai Wang, Zhiyong Liu, Yamin Gao, Shouyong Tan, Wing Wai Yew, Nanshan Zhong, Jianxiong Liu, y Tianyu Zhang. 2019. «Phenotypic and Genotypic Characterization of Levofloxacin- and Moxifloxacin-Resistant Mycobacterium Tuberculosis Clinical Isolates in Southern China». *Journal of Thoracic Disease* 11(11):4613-25. doi: 10.21037/jtd.2019.11.03.
- Hartkoorn, Ruben C., Swapna Uplekar, y Stewart T. Cole. 2014. «Cross-Resistance between Clofazimine and Bedaquiline through Upregulation of MmpL5 in Mycobacterium Tuberculosis». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 58(5):2979-81. doi: 10.1128/AAC.00037-14.
- Ismail, Nabila, Nazir A. Ismail, Shaheed V. Omar, y Remco P. H. Peters. 2019. «In Vitro Study of Stepwise Acquisition of Rv0678 and atpE Mutations Conferring Bedaquiline Resistance». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 63(8):e00292-19. doi: 10.1128/AAC.00292-19.

- Jones, Richard M., Kristin N. Adams, Hassan E. Eldesouky, y David R. Sherman. 2022. «The evolving biology of *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 12.
- Kaniga, Koné, Rumina Hasan, Ruwen Jou, Edita Vasiliauskienė, Charoen Chuchottaworn, Nazir Ismail, Beverly Metchock, Skaidrius Miliauskas, Nguyen Viet Nhung, Camilla Rodrigues, Soyoun Shin, Hulya Simsek, Saijai Smithtikarn, Anh Le Thi Ngoc, Jirakan Boonyasopun, Mubin Kazi, Seungmo Kim, Phalin Kamolwat, Greta Musteikiene, Catherine Ann Sacopon, Sabira Tahseen, Laima Vasiliauskaitė, Mei-Hua Wu, y Shaheed Vally Omar. 2022. «Bedaquiline Drug Resistance Emergence Assessment in Multidrug-Resistant Tuberculosis (MDR-TB): A 5-Year Prospective In Vitro Surveillance Study of Bedaquiline and Other Second-Line Drug Susceptibility Testing in MDR-TB Isolates». *Journal of Clinical Microbiology* 60(1):e0291920. doi: 10.1128/JCM.02919-20.
- Kreuzfeldt, Kaj M., Robert S. Jansen, Travis E. Hartman, Alexandre Gouzy, Ruojun Wang, Inna V. Krieger, Matthew D. Zimmerman, Martin Gengenbacher, Jansy P. Sarathy, Min Xie, Véronique Dartois, James C. Sacchetti, Kyu Y. Rhee, Dirk Schnappinger, y Sabine Ehrft. 2022. «CinA Mediates Multidrug Tolerance in *Mycobacterium Tuberculosis*». *Nature Communications* 13(1):2203. doi: 10.1038/s41467-022-29832-1.
- Lavin, Richard C., y Shumin Tan. 2022. «Spatial Relationships of Intra-Lesion Heterogeneity in *Mycobacterium Tuberculosis* Microenvironment, Replication Status, and Drug Efficacy». *PLoS Pathogens* 18(3):e1010459. doi: 10.1371/journal.ppat.1010459.
- Laws, Mark, Peiqin Jin, y Khondaker Miraz Rahman. 2022. «Efflux Pumps in *Mycobacterium Tuberculosis* and Their Inhibition to Tackle Antimicrobial Resistance». *Trends in Microbiology* 30(1):57-68. doi: 10.1016/j.tim.2021.05.001.
- Lenaerts, Anne, Clifton E. Barry, y Véronique Dartois. 2015. «Heterogeneity in Tuberculosis Pathology, Microenvironments and Therapeutic Responses». *Immunological Reviews* 264(1):288-307. doi: 10.1111/imr.12252.
- Malinga, L., J. Brand, C. Jansen van Rensburg, G. Cassell, y M. van der Walt. 2016. «Investigation of Isoniazid and Ethionamide Cross-Resistance by Whole Genome Sequencing and Association with Poor Treatment Outcomes of Multidrug-Resistant Tuberculosis Patients in South Africa». *International Journal of Mycobacteriology* 5 Suppl 1:S36-37. doi: 10.1016/j.ijmyco.2016.11.020.

- Mann, Katherine M., Aaron C. Pride, Kelly Flentie, Jacqueline M. Kimmey, Leslie A. Weiss, y Christina L. Stallings. 2016. «Analysis of the contribution of MTP and the predicted Flp pilus genes to *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis». *Microbiology*, 162(10):1784-96. doi: 10.1099/mic.0.000368.
- Mariam, Solomon H., Jim Werngren, Joakim Aronsson, Sven Hoffner, y Dan I. Andersson. 2011. «Dynamics of Antibiotic Resistant *Mycobacterium Tuberculosis* during Long-Term Infection and Antibiotic Treatment». *PLOS ONE* 6(6):e21147. doi: 10.1371/journal.pone.0021147.
- Maus, Courtney E., Bonnie B. Plikaytis, y Thomas M. Shinnick. 2005. «Molecular Analysis of Cross-Resistance to Capreomycin, Kanamycin, Amikacin, and Viomycin in *Mycobacterium Tuberculosis*». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49(8):3192-97. doi: 10.1128/AAC.49.8.3192-3197.2005.
- McGrath, M., N. C. Gey van Pittius, P. D. van Helden, R. M. Warren, y D. F. Warner. 2014. «Mutation Rate and the Emergence of Drug Resistance in *Mycobacterium Tuberculosis*». *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 69(2):292-302. doi: 10.1093/jac/dkt364.
- Migliori, G. B., G. De Iaco, G. Besozzi, R. Centis, y D. M. Cirillo. 2007. «First Tuberculosis Cases in Italy Resistant to All Tested Drugs». *Euro Surveillace: Bulletin Europeen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin* 12(5):E070517.1.
- Mitchison, D. A. 1980. «Treatment of Tuberculosis». *Journal of the Royal College of Physicians of London* 14(2):91-99.
- Müller, Borna, Sonia Borrell, Graham Rose, y Sebastien Gagneux. 2013. «The Heterogeneous Evolution of Multidrug-Resistant *Mycobacterium Tuberculosis*». *Trends in Genetics: TIG* 29(3):160-69. doi: 10.1016/j.tig.2012.11.005.
- Newton, Gerald L., Nancy Buchmeier, y Robert C. Fahey. 2008. «Biosynthesis and Functions of Mycothiol, the Unique Protective Thiol of Actinobacteria». *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR* 72(3):471-94. doi: 10.1128/MMBR.00008-08.
- Nguyen, Quang Huy, Lucie Contamin, Thi Van Anh Nguyen, y Anne-Laure Bañuls. 2018. «Insights into the Processes That Drive the Evolution of Drug Resistance in *Mycobacterium Tuberculosis*». *Evolutionary Applications* 11(9):1498-1511. doi: 10.1111/eva.12654.
- Ordonez, Alvaro A., Hechuan Wang, Gesham Magombedze, Camilo A. Ruiz-Bedoya, Shashikant Srivastava, Allen Chen, Elizabeth W. Tucker, Michael E. Urbanowski, Lisa

- Pieterse, E. Fabian Cardozo, Martin A. Lodge, Maunank R. Shah, Daniel P. Holt, William B. Mathews, Robert F. Dannals, Jogarao V. S. Gobburu, Charles A. Peloquin, Steven P. Rowe, Tawanda Gumbo, Vijay D. Ivaturi, y Sanjay K. Jain. 2020. «Dynamic Imaging in Patients with Tuberculosis Reveals Heterogeneous Drug Exposures in Pulmonary Lesions». *Nature Medicine* 26(4):529-34. doi: 10.1038/s41591-020-0770-2.
- Poulton, Nicholas C., y Jeremy M. Rock. 2022. «Unraveling the mechanisms of intrinsic drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 12.
 - Prideaux, Brendan, Laura E. Via, Matthew D. Zimmerman, Seokyeong Eum, Jansy Sarathy, Paul O'Brien, Chao Chen, Firat Kaya, Danielle M. Weiner, Pei-Yu Chen, Taeksun Song, Myungsun Lee, Tae Sun Shim, Jeong Su Cho, Wooshik Kim, Sang Nae Cho, Kenneth N. Olivier, Clifton E. Barry, y Véronique Dartois. 2015. «The Association between Sterilizing Activity and Drug Distribution into Tuberculosis Lesions». *Nature Medicine* 21(10):1223-27. doi: 10.1038/nm.3937.
 - Reichmuth, Martina L., Rico Hömke, Kathrin Zürcher, Peter Sander, Anchalee Avihingsanon, Jimena Collantes, Chloé Loiseau, Sonia Borrell, Miriam Reinhard, Robert J. Wilkinson, Marcel Yotebieng, Lukas Fenner, Erik C. Böttger, Sebastien Gagneux, Matthias Egger, y Peter M. Keller. 2020. «Natural Polymorphisms in *Mycobacterium Tuberculosis* Conferring Resistance to Delamanid in Drug-Naive Patients». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 64(11):e00513-20. doi: 10.1128/AAC.00513-20.
 - Rengarajan, Jyothi, Christopher M. Sasseti, Vera Naroditskaya, Alexander Sloutsky, Barry R. Bloom, y Eric J. Rubin. 2004. «The Folate Pathway Is a Target for Resistance to the Drug Para-Aminosalicylic Acid (PAS) in *Mycobacteria*». *Molecular Microbiology* 53(1):275-82. doi: 10.1111/j.1365-2958.2004.04120.x.
 - Rocha, Deisy M. G. C., Miguel Viveiros, Margarida Saraiva, y Nuno S. Osório. 2021. «The Neglected Contribution of Streptomycin to the Tuberculosis Drug Resistance Problem». *Genes* 12(12):2003. doi: 10.3390/genes12122003.
 - Rueda, Johana, Teresa Realpe, Gloria Isabel Mejia, Elsa Zapata, Juan Carlos Rozo, Beatriz Eugenia Ferro, y Jaime Robledo. 2015. «Genotypic Analysis of Genes Associated with Independent Resistance and Cross-Resistance to Isoniazid and Ethionamide in *Mycobacterium Tuberculosis* Clinical Isolates». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 59(12):7805-10. doi: 10.1128/AAC.01028-15.

- Sandgren, Andreas, Michael Strong, Preetika Muthukrishnan, Brian K. Weiner, George M. Church, y Megan B. Murray. 2009. «Tuberculosis Drug Resistance Mutation Database». *PLoS Medicine* 6(2):e2. doi: 10.1371/journal.pmed.1000002.
- Santucci, Pierre, Beren Aylan, Laure Botella, Elliott M. Bernard, Claudio Bussi, Enrica Pellegrino, Natalia Athanasiadi, y Maximiliano G. Gutierrez. 2022. «Visualizing Pyrazinamide Action by Live Single-Cell Imaging of Phagosome Acidification and Mycobacterium tuberculosis pH Homeostasis». *mBio* 13(2):e00117-22. doi: 10.1128/mbio.00117-22.
- Santucci, Pierre, Daniel J. Greenwood, Antony Fearn, Kai Chen, Haibo Jiang, y Maximiliano G. Gutierrez. 2021. «Intracellular Localisation of Mycobacterium Tuberculosis Affects Efficacy of the Antibiotic Pyrazinamide». *Nature Communications* 12(1):3816. doi: 10.1038/s41467-021-24127-3.
- Shi, Jie, Ruyue Su, Danwei Zheng, Yankun Zhu, Xiaoguang Ma, Shaohua Wang, Hui Li, y Dingyong Sun. 2020. «Pyrazinamide Resistance and Mutation Patterns Among Multidrug-Resistant Mycobacterium Tuberculosis from Henan Province». *Infection and Drug Resistance* 13:2929-41. doi: 10.2147/IDR.S260161.
- Sun, Gang, Tao Luo, Chongguang Yang, Xinran Dong, Jing Li, Yongqiang Zhu, Huajun Zheng, Weidong Tian, Shengyue Wang, Clifton E. Barry, III, Jian Mei, y Qian Gao. 2012. «Dynamic Population Changes in Mycobacterium Tuberculosis During Acquisition and Fixation of Drug Resistance in Patients». *The Journal of Infectious Diseases* 206(11):1724. doi: 10.1093/infdis/jjs601.
- Udawadia, Zarir F., Rohit A. Amale, Kanchan K. Ajbani, y Camilla Rodrigues. 2012. «Totally drug-resistant tuberculosis in India». *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 54(4):579-81. doi: 10.1093/cid/cir889.
- Velayati, Ali Akbar, Mohammad Reza Masjedi, Parissa Farnia, Payam Tabarsi, Jalladein Ghanavi, Abol Hassan ZiaZarifi, y Sven Eric Hoffner. 2009. «Emergence of New Forms of Totally Drug-Resistant Tuberculosis Bacilli: Super Extensively Drug-Resistant Tuberculosis or Totally Drug-Resistant Strains in Iran». *Chest* 136(2):420-25. doi: 10.1378/chest.08-2427.
- Vilchèze, Catherine. 2020. «Mycobacterial Cell Wall: A Source of Successful Targets for Old and New Drugs». *Applied Sciences* 10(7):2278. doi: 10.3390/app10072278.
- Walker, TM, Miotto P, Köser Cu, Fowler Pw, Knaggs J, Iqbal Z, Hunt M, Chindelevitch L, Farhat M, Cirillo Dm, Comas I, Posey J, Omar Sv, Peto Te, Suresh A, Uplekar S, Laurent

S, Colman Re, Nathanson Cm, Zignol M, Walker As, Crook Dw, Ismail N, y Rodwell Tc. 2022. «The 2021 WHO Catalogue of Mycobacterium Tuberculosis Complex Mutations Associated with Drug Resistance: A Genotypic Analysis». *The Lancet. Microbe* 3(4). doi: 10.1016/S2666-5247(21)00301-3.

- Warner, Digby F., y Valerie Mizrahi. 2006. «Tuberculosis Chemotherapy: The Influence of Bacillary Stress and Damage Response Pathways on Drug Efficacy». *Clinical Microbiology Reviews* 19(3):558-70. doi: 10.1128/CMR.00060-05.
- Warner, Digby F., Jeremy M. Rock, Sarah M. Fortune, y Valerie Mizrahi. 2017. «DNA Replication Fidelity in the Mycobacterium Tuberculosis Complex». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1019:247-62. doi: 10.1007/978-3-319-64371-7_13.
- WHO. 2019. «Farmacorresistencia a los antituberculosos». Recuperado (<https://www.who.int/tb/areas-of-work/drug-resistant-tb/es/>).
- WHO. 2021. «Catalogue of Mutations in Mycobacterium Tuberculosis Complex and Their Association with Drug Resistance». Recuperado 27 de septiembre de 2022 (<https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240028173>).
- WHO. 2022. *Global Tuberculosis Report 2022*. Geneva, Switzerland: WHO.
- Zhang, Xiaobing, Liguó Liu, Yan Zhang, Guangming Dai, Hairong Huang, y Qi Jin. 2015. «Genetic Determinants Involved in P-Aminosalicylic Acid Resistance in Clinical Isolates from Tuberculosis Patients in Northern China from 2006 to 2012». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 59(2):1320-24. doi: 10.1128/AAC.03695-14.
- Zhang, Xiaofu, Xi Chen, Bin Wang, Lei Fu, Fengmin Huo, Tianhui Gao, Yu Pang, Yu Lu, y Qi Li. 2022. «Molecular Characteristic of Both Levofloxacin and Moxifloxacin Resistance in Mycobacterium Tuberculosis from Individuals Diagnosed with Preextensive Drug-Resistant Tuberculosis». *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)* 28(3):280-87. doi: 10.1089/mdr.2021.0212.
- Zhang, Ying, Wanliang Shi, Wenhong Zhang, y Denis Mitchison. 2014. «Mechanisms of Pyrazinamide Action and Resistance». *Microbiology Spectrum* 2(4):MGM2-0023-2013. doi: 10.1128/microbiolspec.MGM2-0023-2013.
- Zong, Zhaojing, Wei Jing, Jin Shi, Shu'an Wen, Tingting Zhang, Fengmin Huo, Yuanyuan Shang, Qian Liang, Hairong Huang, y Yu Pang. 2018. «Comparison of In Vitro Activity and MIC Distributions between the Novel Oxazolidinone Delpazolid and Linezolid against Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant Mycobacterium Tuberculosis in China». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 62(8):e00165-18. doi: 10.1128/AAC.00165-18.