

## Tuberculosis farmacorresistente: Mecanismos moleculares de *Mycobacterium tuberculosis*

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

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

Gómez-Velasco, A., Rodríguez-Suárez, R. A., Granja-Pérez, P. E., Villanueva-Jorge, S. M., & García-Maldonado, J. Q. (2024). Tuberculosis farmacorresistente: Mecanismos moleculares de *Mycobacterium tuberculosis*. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 32(91), e4559, <https://doi.org/10.33064/iycuaa2024914559>

#### RESUMEN

*Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) es un patógeno humano que puede evadir la respuesta inmunológica del hospedero, así como desarrollar farmacorresistencia a prácticamente todos los antibióticos antituberculosis 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. tuberculosis* (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 farmacorresistencia de la bacteria.

**Palabras clave:** *Mycobacterium tuberculosis*; mutación; tuberculosis farmacorresistente; evolución.

#### ABSTRACT

*Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) is a human pathogen that can evade the host's immune response, as well as develop drug resistance to practically all anti-tuberculosis

Recibido: 20 de julio de 2023, Aceptado: 18 de enero de 2024, Publicado: 31 de enero de 2024

\*Departamento 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>

\*\*Programa 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>

\*\*\*Laboratorio 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, México. 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>

\*\*\*\*Laboratorio 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

antibiotics used to treat the disease. The objective of this work was to carry out a descriptive review of the mechanisms of the host (heterogeneity of the granuloma, adherence to treatment) and of *M. tuberculosis* (mutation rate in vitro and in vivo, genetic diversity, innate resistance, metabolic rate, heterogeneity of bacillus populations and epistasis) that intervene in the development of drug resistance of the bacteria.

**Keywords:** 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 86% de curación con el tratamiento estándar (OMS, 2022). Sin embargo, la aparición de cepas farmacorresistentes de *Mycobacterium tuberculosis* ha complicado el control de la TB a nivel global. La OMS utiliza las siguientes categorías para clasificar la tuberculosis farmacorresistente: (i) tuberculosis resistente a isoniácida (TB-RI); (ii) tuberculosis resistente a rifampicina (TB-RR); (iii) tuberculosis multidrogorresistente (TB-MDR), causada por cepas resistentes a los medicamentos de primera línea más importantes contra la TB: la isoniazida y la rifampicina (OMS, 2019); (iv) tuberculosis pre-extensamente resistente (pre-TB-XDR) causada por cepas resistentes a rifampicina y con resistencia adicional a cualquier fluoroquinolona (OMS, 2019); (v) tuberculosis extensamente resistente (TB-XDR), que son cepas resistentes a rifampicina, con resistencia a cualquier fluoroquinolona y al menos a uno de los siguientes antibióticos: bedaquilina y linezolida. Los primeros casos de TB-XDR fueron registrados en Italia en 2003 (Migliori, De Iaco, Besozzi, Centis, & Cirillo, 2007), posteriormente en Irán (Velayati et al., 2009), en la India (Udwadia, Amale, Ajbani, & Rodrigues, 2012) y Sudáfrica (Auld et al., 2018).

## DESARROLLO

La estructura poblacional de *M. tuberculosis* es esencialmente clonal, por lo que la transferencia horizontal de genes (THG) al parecer no tiene un rol en la biología del bacilo; *M. tuberculosis* 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 antituberculosis (Nguyen, Contamin, Nguyen, & Bañuls, 2018).

Las mutaciones asociadas a antibióticos en *M. tuberculosis* 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, Gey van Pittius, van Helden, Warren, & Warner, 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  $\approx$  1.2% (Walker et al., 2022). Para otros fármacos, como la estreptomina y la mayoría de los medicamentos de segunda línea, las mutaciones conocidas asociadas a resistencia ocurren sólo en una pequeña proporción de aislados resistentes (Nguyen et al., 2018).

A pesar de la gran diversidad de patrones de mutaciones observadas a nivel mundial, solo predominan mutaciones específicas. Por ejemplo, en el caso de la resistencia a la rifampicina, se han descrito cientos de mutaciones en el gen *rpoB* (gen que codifica la subunidad de la ARN polimerasa), aunque no necesariamente todas están asociadas con la resistencia a la rifampicina, pero más de 80% de las cepas resistentes muestran mutaciones en tres codones *rpoB*- 531, -526 y -516. Diferentes mutaciones en el mismo gen pueden producir fenotipos diversos, por ejemplo, mutaciones en el gen *rpoB* (-S531L, -526Y, -H526D y -H526R), a menudo se asocian con altos niveles de resistencia a la rifampicina, mientras que las mutaciones en el mismo gen (-L511P, -H526L, -H526N, -L533P e -I572F) generalmente están relacionadas con niveles bajos de resistencia a dicho antibiótico.

Por otro lado, las mutaciones en regiones del mismo gen pueden asociarse con fenotipos de resistencia a fármacos diferentes. Las mutaciones en la región 530 y la región 915 del gen *rrs* (gen que codifica el ARN ribosomal 16S, componente de la subunidad menor de los ribosomas procarionotas) están asociadas con la resistencia a la estreptomina; mientras que las mutaciones en la región 1400-1500 están relacionadas con la resistencia a la kanamicina, amikacina y capreomicina (Nguyen et al., 2018). En la tabla 1 se describen las principales mutaciones asociadas a resistencia a fármacos de primera y segunda línea en aislados clínicos de *M. tuberculosis*.

Son múltiples los factores, tanto del hospedero como de *M. tuberculosis*, que influyen en la selección de cepas farmacorresistentes durante la infección. En el hospedero el sistema inmunológico la patología de la enfermedad (heterogeneidad de las lesiones y su efecto en la distribución espacial de los fármacos) y la conducta del paciente determinan los mecanismos de emergencia de farmacorresistencia. Por otro lado, en *M. tuberculosis* se ha determinado que la resistencia intrínseca, errores durante la replicación y recientemente la epistasis son algunos de los mecanismos asociados a la resistencia de fármacos del bacilo.

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

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 & Saha, 2020; OMS, 2021; Sandgren et al., 2009)
	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 & Saha, 2020; OMS, 2021; Sandgren et al., 2009)
	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 & Saha, 2020; OMS, 2021; Sandgren et al., 2009)
	Pirazinamida	<i>embA</i> : 1 codon <i>pncA</i> : se han determinado 105 variantes del gen	<i>rpsA</i> , <i>panD</i> (OMS, 2021; Shi et al., 2020; Zhang et al., 2014)

Segunda línea	Amikacina	<i>eiS</i> y <i>rrS</i>	<i>affB</i> , <i>ccsA</i> , <i>whiB6</i> , <i>whiB7</i> , <i>fprA</i> (Georghiou et al., 2012; Maus et al., 2005; OMS, 2021)
	Estreptomycin	<i>rrS</i> , <i>gid</i> , <i>rrS</i>	<i>whiB6</i> , <i>whiB7</i> , <i>Rv2004c</i> , <i>lipF</i> ( <i>Rv3487c</i> ), <i>Rv1860</i> , <i>Rv1980c</i> , <i>Rv2140c</i> , <i>Rv1636</i> , <i>Rv1926c</i> , <i>ppsA</i> , <i>Rv3919c</i> (Cohen et al., 2020; OMS, 2021; Rocha et al., 2021)
	Levofloxacin	<i>gyrA</i> : 8 variantes reconocidas	<i>gyrB</i> (Hameed et al., 2019; OMS, 2021; Zhang et al., 2022)
	Moxifloxacin	<i>gyrA</i> : 8 variantes reconocidas <i>gyrB</i> : 1 variante reconocida	(Hameed et al., 2019; OMS, 2021; Zhang et al., 2022)
	Bedaquilina y Clofazimina	La OMS no asocia mutaciones para estos antibióticos.	<i>Rv0678 (mmpR)</i> , <i>atpE</i> , <i>pepQ</i> y <i>Rv1979c</i> (Hartkoorn et al., 2014; Ismail et al., 2019; Kaniga et al., 2022)
	Linezolid	<i>rplC</i>	<i>rL</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> , <i>Rv2983</i> (Bloemberg et al., 2015; Reichmuth et al., 2020)
Etionamida	<i>ethA</i> , <i>inhA</i>	<i>Rv3083</i> , <i>mshA</i> , <i>ethR</i> , <i>ndH</i> (Malinga et al., 2016; Rueda et al., 2015)	

Nota: Elaboración propia a partir de las referencias citadas.

### Sistema inmunológico del hospedero

El nicho primario de *M. tuberculosis* 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, Caulfield, Niles, Wishnok, & Tannenbaum, 1999; Dartois 2014). Sin embargo, *M. tuberculosis* expresa genes de detoxificación (*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, & Fahey, 2008; Warner & 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. tuberculosis* no es elevada en comparación con otras bacterias (Cohen, Manson, Desjardins, Abeel, & Earl, 2019). Por esta razón se espera que las cepas de *M. tuberculosis* 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 reportaron 450,000 casos de MDR-TB y 23,038 casos de XDR-TB (OMS, 2022).

La secuenciación del genoma completo de cepas de *M. tuberculosis* ha permitido la identificación de casos de reciente transmisión, reinfección, la generación de datos sobre la evolución de la farmacorresistencia en pacientes, diferenciación de la adquisición de resistencia *de novo* (mutaciones de resistencia dentro de un hospedero), así como de la transmisión de farmacorresistencia (Cohen et al., 2019). Esta tecnología fue usada para detectar polimorfismos de nucleótido únicos (PNU) de *M. tuberculosis* en muestras de esputo (figura 1) obtenidas en una serie de tres pacientes durante el tratamiento antituberculosis (Sun et al., 2012). Este estudio determinó el desarrollo entre 8 y 41 PNU durante el tratamiento en cada muestra, y hasta 34 PNU fueron exclusivos de una sola muestra.

La mayoría de los PNU se detectaron en frecuencias inferiores a 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 detectaron mutaciones en los genes *rpsL* y *rrs* de cepas aisladas en muestras obtenidas en serie de un 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. tuberculosis* y las presiones selectivas asociadas del hospedero (Mariam, Werngren, Aronsson, Hoffner, & Andersson, 2011).

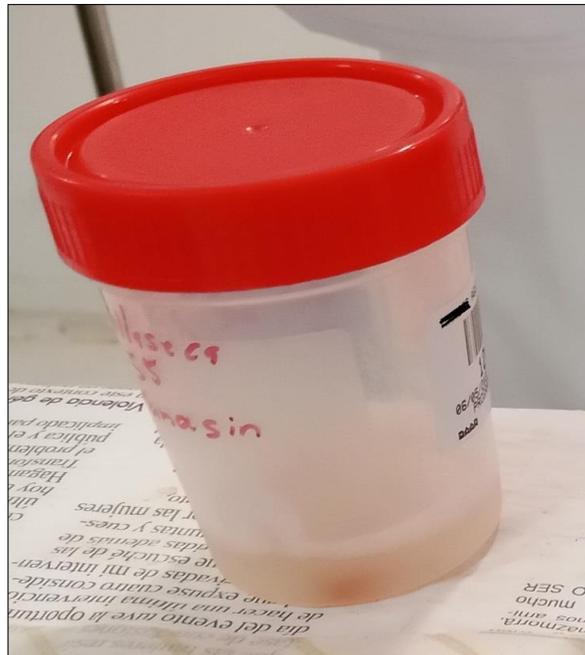


Figura 1. Muestra de esputo usada para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. La muestra corresponde a una persona con alta sospecha a farmacorresistencia debido a que no está respondiendo al tratamiento de primera línea antituberculosis.

Imagen proporcionada por el equipo de investigación.

Los niveles de diversidad genética asociados a genes de resistencia identificados en los estudios anteriormente descritos implican que *M. tuberculosis* 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. tuberculosis* 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 de macrófagos, neutrófilos, células T y B, neutrófilos, fibroblastos, entre otras células (figura 2 inciso a). 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, & Dartois, 2015); lo que puede observarse en la figura 2 inciso a.

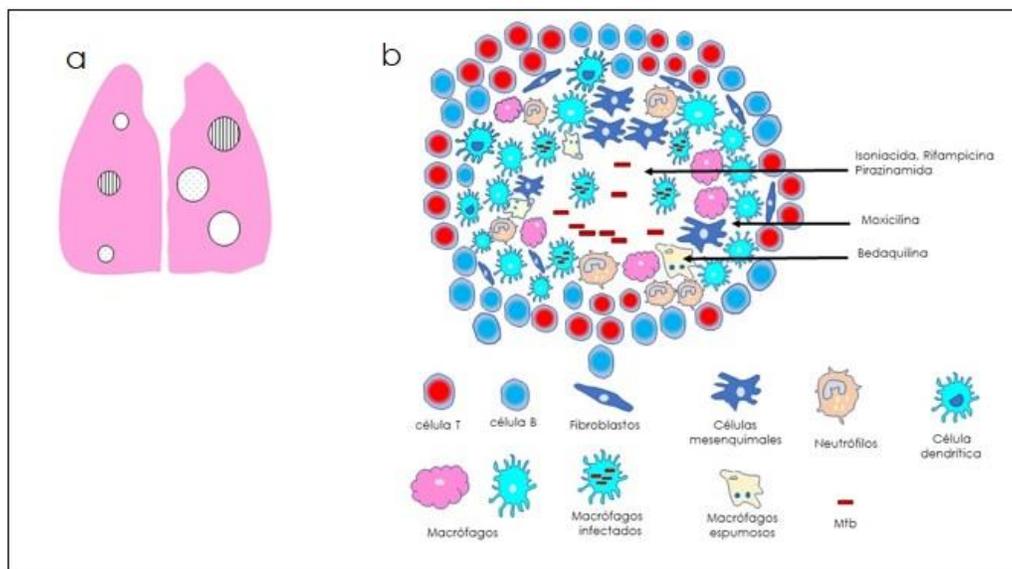


Figura 2. Granulomas y distribución de los fármacos antituberculosis. a) El granuloma es una estructura importante para la contención de la infección por *M. tuberculosis*. La estructura clásica del granuloma consiste en un núcleo necrótico, el cáseum, rodeado por macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, 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 antituberculosis. La isoniacida, la pirazinamida y la rifampicina penetran y se localizan en el cáseum necrótico; mientras que la amoxicilina suele concentrarse en el anillo del granuloma y la bedaquilina es concentrada en macrófagos espumosos.

Imagen adaptada de Cadena et al. (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 & 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, Greenwood, Rodgers, Jiang, & Gutierrez, 2020; Santucci et al., 2021); esto puede observarse en la figura 2 inciso b. Es probable que estos procesos generen variaciones espaciales y temporales en las concentraciones de los antibióticos, lo que facilita la evolución de la farmacorresistencia.

### **Variabilidad farmacocinética entre los pacientes**

El régimen de dosificación actual para el tratamiento de la TB no genera concentraciones esterilizantes de ciertos fármacos antituberculosis en todos los pacientes, lo cual puede contribuir al fracaso del tratamiento, así como facilitar la evolución de la farmacorresistencia. 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. tuberculosis* (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. tuberculosis***

La resistencia intrínseca de *M. tuberculosis* 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, & 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) que también contribuye a la resistencia a los antibióticos bacterianos (Laws, Jin, & Rahman, 2022; Poulton & Rock, 2022). *M. tuberculosis* posee cinco superfamilias de estas bombas, lo cual indica que el bacilo puede mantener concentraciones subinhibitorias 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. tuberculosis* y *M. bovis* contienen en su genoma el gen *erm37* que codifica una metil-transferasa de ARNr que bloquea las interacciones entre los macrólidos y el ribosoma (Al-Saeedi, Mashael, & Al-Hajj, 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. tuberculosis* durante la infección**

Cuanto más grande es la población de *M. tuberculosis* más eventos de división celular experimenta y, por 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. tuberculosis* presentes en los pulmones de humanos durante la infección. Las mejores estimaciones de células viables de *M. tuberculosis* se han obtenido de los pulmones de un modelo animal, el macaco cangrejero (*Macaca fascicularis*), en el que se ha determinado aproximadamente entre  $10^5$  y  $5 \times 10^8$  células de *M. tuberculosis* por pulmón (Gygli, Borrell, Trauner, & Gagneux, 2017).

*M. tuberculosis* 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 farmacorresistencia (Mitchison, 1980; Ordonez et al., 2020). Durante el tratamiento antituberculosis 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, & 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. tuberculosis*. Por ejemplo, se ha demostrado que poblaciones de *M. tuberculosis* que no se replican son resistentes a la isoniacida; mientras que los bacilos en división son susceptibles a la misma (Müller, Borrell, Rose, & Gagneux, 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. tuberculosis* 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 cinco 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. tuberculosis* 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. tuberculosis*. 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  $1.6 \times 10^{-5}$  a  $5.4 \times 10^{-3}$  en comparación con el linaje 1 (Al-Saeedi et al., 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. tuberculosis* en cada división celular. La frecuencia de las mutaciones nuevas y la tasa de mutación, por 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, Rock, Fortune, & Mizrahi, 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 sólo 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 antituberculosis) y de la bacteria (cinco 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. tuberculosis*. 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. tuberculosis* 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 sólo 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. tuberculosis* que adquieren farmacoresistencia in vivo. Aunque múltiples mutantes transitorios coexisten en el mismo espacio y tiempo, en última instancia, sólo se seleccionará un 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, Adams, Eldesouky, & Sherman, 2022). El tratamiento estándar contra la TB es una combinación de cuatro antibióticos, por tanto, podría existir una gran presión selectiva de cepas de *M. tuberculosis* 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. tuberculosis* 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 coadaptados en la población se ve favorecida por el modo reproductivo clonal de *M. tuberculosis* (Gygli et al., 2017).

Los antibióticos contra *M. tuberculosis* 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. tuberculosis*. Por ejemplo, las micobacterias que llevan una mutación en la subunidad  $\beta$  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 sólo 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. tuberculosis* resistentes a rifampicina. La epistasis, por 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 farmacoresistente hace necesario comprender los mecanismos por los que *M. tuberculosis* adquiere resistencia a los fármacos antituberculosis. 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 farmacoresistencia de *M. tuberculosis*. Por otro lado, el sistema inmunológico del hospedero observado en la heterogeneidad de granulomas, variabilidad cinética de los fármacos antituberculosis, son también factores que promueven el desarrollo de farmacoresistencia de *M. tuberculosis*.

Dada la carga financiera y las dificultades logísticas asociadas con el tratamiento de los casos con farmacoresistencia, es importante comprender los mecanismos evolutivos

que promueven la aparición de *M. tuberculosis* altamente resistente a los fármacos antituberculosis. Es necesario y urgente determinar la magnitud de estos casos para interrumpir la transmisión de cepas más difíciles de tratar.

## REFERENCIAS

- Al-Saeedi, Mashael, & Al-Hajoj, S. (2017). Diversity and evolution of drug resistance mechanisms in *Mycobacterium tuberculosis*. *Infection and Drug Resistance*, 10, 333-342. <https://doi.org/10.2147/IDR.S144446>
- Auld, S. C., Shah, N. S., Mathema, B., Brown, T. S., Ismail, N., Omar, S. V.,... & Gandhi, N. R. (2018). Extensively drug-resistant tuberculosis in South Africa: Genomic evidence supporting transmission in communities. *The European Respiratory Journal*, 52(4), 1800246. <https://doi.org/10.1183/13993003.00246-2018>
- Azimi, T., Khoshnood, S., Asadi, A., Heidary, M., Mahmoudi, H., Kaviar, V. H.,..., Nasiri, M. J. (2022). Linezolid resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 955050. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.955050>
- Blanc, L., Daudelin, I. B., Podell, B. K., Chen, P.-Y., Zimmerman, M., Martinot, A. J., ... Dartois, V. (2018). High-resolution mapping of fluoroquinolones in tb rabbit lesions reveals specific distribution in immune cell types. *eLife*, 7, e41115. <https://doi.org/10.7554/eLife.41115>
- Bloemberg, G. V., Keller, P. M., Stucki, D., Trauner, A., Borrell, S., Latshang, T.,... Böttger, E. C. (2015). Acquired resistance to bedaquiline and delamanid in therapy for tuberculosis. *The New England Journal of Medicine*, 373(20), 1986-1988. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1505196>
- Burney, S., Caulfield, J. L., Niles, J. C., Wishnok, J. S., & Tannenbaum, S. R. (1999). The chemistry of DNA damage from nitric oxide and peroxynitrite. *Mutation Research*, 424(1-2), 37-49. [https://doi.org/10.1016/s0027-5107\(99\)00006-8](https://doi.org/10.1016/s0027-5107(99)00006-8)
- Cadena, A. M., Fortune, S. M., & Flynn, J. (2017). Heterogeneity in tuberculosis. *Nature Reviews. Immunology*, 17(11), 691-702. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.69>
- Castro, R. A. D., Borrell, S., & Gagneux, S. (2021). The within-host evolution of antimicrobial resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *FEMS Microbiology Reviews*, 45(4), fuaa071. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa071>
- Cohen, K. A., Manson, A. L., Desjardins, C. A., Abeel, T., & Earl, A. M. (2019). Deciphering drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* using whole-genome sequencing: progress, promise, and challenges. *Genome Medicine*, 11(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s13073-019-0660-8>
- Cohen, K. A., Stott, K. E., Munsamy, V., Manson, A. L., Earl, A. M., & Pym, A. S. (2020). Evidence for expanding the role of streptomycin in the management of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(9), e00860-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.00860-20>
- Dai, E., Zhang, H., Zhou, X., Song, Q., Li, D., Luo, L.,... Ling, H. (2019). MycoResistance: A curated resource of drug resistance molecules in *Mycobacteria*. *Database. The Journal of Biological Databases and Curation*, 2019, baz074. <https://doi.org/10.1093/database/baz074>
- Dartois, V. (2014). The path of anti-tuberculosis drugs: from blood to lesions to mycobacterial cells. *Nature Reviews. Microbiology*, 12(3), 159-167. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3200>

- Dulberger, C. L., Rubin, E. J., & Boutte, C. C. (2020). The mycobacterial cell envelope — a moving target. *Nature Reviews Microbiology*, 18(1), 47-59. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0273-7>
- Eldholm, V., Norheim, G., von der Lippe, B., Kinander, W., Dahle, U. R., Caugant, D. A.,... Balloux, F. (2014). Evolution of extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* from a susceptible ancestor in a single patient. *Genome Biology*, 15(11), 490. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0490-3>
- Fearn, A., Greenwood, D. J., Rodgers, A., Jiang, H., & Gutierrez, M. G. (2020). Correlative light electron ion microscopy reveals in vivo localisation of bedaquiline in *Mycobacterium tuberculosis*-infected lungs. *PLoS Biology*, 18(12), e3000879. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000879>
- Gagneux, S. (2018). Ecology and evolution of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nature Reviews Microbiology*, 16(4), 202-213. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.8>
- Georghiou, S. B., Magana, M., Garfein, R. S., Catanzaro, D. G., Catanzaro, A., & Rodwell, T. C. (2012). Evaluation of genetic mutations associated with *Mycobacterium tuberculosis* resistance to amikacin, kanamycin and capreomycin: A systematic review. *PLoS One*, 7(3), e33275. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033275>
- Ghosh, A., N., S., & Saha, S. (2020). Survey of drug resistance associated gene mutations in *Mycobacterium tuberculosis*, ESKAPE and other bacterial species. *Scientific Reports*, 10(1), 8957. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65766-8>
- Gygli, S. M., Borrell, S., Trauner, A., & Gagneux, S. (2017). Antimicrobial resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: mechanistic and evolutionary perspectives. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(3), 354-373. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux011>
- Hameed, H., Tan, Y., Islam, M., Guo, L., Chhotaray, C., Wang, S.,... Zhang, T. (2019). Phenotypic and genotypic characterization of levofloxacin- and moxifloxacin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates in Southern China. *Journal of Thoracic Disease*, 11(11), 4613-4625. <https://doi.org/10.21037/jtd.2019.11.03>
- Hartkoorn, R. C., Uplekar, S., & Cole, S. T. (2014). Cross-resistance between clofazimine and bedaquiline through upregulation of MmpL5 in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(5), 2979-2981. <https://doi.org/10.1128/AAC.00037-14>
- Ismail, N., Ismail, N. A., Omar, S. V., & Peters, R. P. H. (2019). In vitro study of stepwise acquisition of Rv0678 and atpE mutations conferring bedaquiline resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(8), e00292-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.00292-19>
- Jones, R. M., Adams, K. N., Eldesouky, H. E., & Sherman, D. R. (2022). The evolving biology of *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 1027394. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1027394>
- Kaniga, K., Hasan, R., Jou, R., Vasiliauskien, E., Chuchottaworn, C., Ismail, N.,... Omar, S. V. (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. <https://doi.org/10.1128/JCM.02919-20>
- Kreuzfeldt, K. M., Jansen, R. S., Hartman, T. E., Gouzy, A., Wang, R., Krieger, I. V.,... Ehrt, S. (2022). CinA mediates multidrug tolerance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Nature Communications*, 13(1), 2203. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29832-1>
- Lavin, R. C., & Tan, S. (2022). Spatial relationships of intra-lesion heterogeneity in *Mycobacterium tuberculosis* microenvironment, replication status, and drug efficacy. *PLoS Pathogens*, 18(3), e1010459. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010459>

- Laws, M., Jin, P., & Rahman, K. M. (2022). Efflux pumps in *Mycobacterium tuberculosis* and their inhibition to tackle antimicrobial resistance. *Trends in Microbiology*, 30(1), 57-68. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.05.001>
- Lenaerts, A., Barry, C. E., & Dartois, V. (2015). Heterogeneity in tuberculosis pathology, microenvironments and therapeutic responses. *Immunological Reviews*, 264(1), 288-307. <https://doi.org/10.1111/imr.12252>
- Malinga, L., Brand, J., Jansen van Rensburg, C., Cassell, G., & van der Walt, M. (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-S37. <https://doi.org/10.1016/j.ijmyco.2016.11.020>
- Mann, K. M., Pride, A. C., Flentie, K., Kimmey, J. M., Weiss, L.A., & Stallings, C. L. (2016). Analysis of the contribution of MTP and the predicted Flp pilus genes to *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis. *Microbiology*, 162(10), 1784-1796. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000368>
- Mariam, S. H., Werngren, J., Aronsson, J., Hoffner, S., & Andersson, D. I. (2011). Dynamics of antibiotic resistant *Mycobacterium tuberculosis* during long-term infection and antibiotic treatment. *PLOS ONE*, 6(6), e21147. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021147>
- Maus, C. E., Plikaytis, B. B., & Shinnick, T. M. (2005). Molecular analysis of cross-resistance to capreomycin, kanamycin, amikacin, and viomycin in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(8), 3192-3197. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.8.3192-3197.2005>
- McGrath, M., Gey van Pittius, N. C., van Helden, P. D., Warren, R. M., & Warner, D. F. (2014). Mutation rate and the emergence of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(2), 292-302. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt364>
- Migliori, G. B., De Iaco, G., Besozzi, G., Centis, R., & Cirillo, D. M. (2007). First tuberculosis cases in Italy resistant to all tested drugs. *Euro Surveillance: Bulletin European Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin*, 12(5), E070517.1 <https://doi.org/10.2807/esw.12.20.03194-en>
- Mitchison, D. A. (1980). Treatment of tuberculosis. *Journal of the Royal College of Physicians of London*, 14(2), 91-99. PMID: 6767845; PMCID: PMC5373312
- Müller, B., Borrell, S., Rose, G., & Gagneux, S. (2013). The heterogeneous evolution of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends in Genetics*, 29(3), 160-169. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2012.11.005>
- Newton, G. L., Buchmeier, N., & Fahey, R. C. (2008). Biosynthesis and functions of Mycothiol, the unique protective thiol of *Actinobacteria*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72(3), 471-494. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00008-08>
- Nguyen, Q. H., Contamin, L., Nguyen, T. V. A., & Bañuls, A.-L. (2018). Insights into the processes that drive the evolution of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Evolutionary Applications*, 11(9), 1498-1511. <https://doi.org/10.1111/eva.12654>
- Ordonez, A. A., Wang, H., Magombedze, G., Ruiz-Bedoya, C. A., Srivastava, S., Chen, A.,... Jain, S. K. (2020). Dynamic imaging in patients with tuberculosis reveals heterogeneous drug exposures in pulmonary lesions. *Nature Medicine*, 26(4), 529-534. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0770-2>
- Organización Mundial de la Salud. (2019). *Farmacorresistencia a los antituberculosos* [Página electrónica]. <https://www.who.int/tb/areas-of-work/drug-resistant-tb/es/>

- \_\_\_\_\_ (2021). Catalogue of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex and their association with drug resistance. Recuperado el 27 de septiembre de 2022. <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240028173>
- \_\_\_\_\_ (2022). *Global Tuberculosis Report 2022*. Autor.
- Poulton, N. C., & Rock, J. M. (2022). Unraveling the mechanisms of intrinsic drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.997283>
- Prideaux, B., Via, L. E., Zimmerman, M. D., Eum, S., Sarathy, J., O'Brien, P.,... Dartois, V. (2015). The association between sterilizing activity and drug distribution into tuberculosis lesions. *Nature Medicine*, 21(10), 1223-1227. <https://doi.org/10.1038/nm.3937>
- Reichmuth, M. L., Hömke, R., Zürcher, K., Sander, P., Avihingsanon, A., Collantes, J.,... Keller, P. M. (2020). Natural polymorphisms in *Mycobacterium tuberculosis* conferring resistance to delamanid in drug-naive patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(11), e00513-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.00513-20>
- Rengarajan, J., Sasseti, C. M., Naroditskaya, V., Sloutsky, A., Bloom, B. R., & Rubin, E. J. (2004). The folate pathway is a target for resistance to the drug para-aminosalicylic acid (PAS) in mycobacteria. *Molecular Microbiology*, 53(1), 275-282. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04120.x>
- Rocha, D. M. G. C., Viveiros, M., Saraiva, M., & Osório, N. S. (2021). The neglected contribution of streptomycin to the tuberculosis drug resistance problem. *Genes*, 12(12), 2003. <https://doi.org/10.3390/genes12122003>
- Rueda, J., Realpe, T., Mejía, G. I., Zapata, E., Rozo, J. C., Ferro, B. E., & Robledo, J. (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), 7805-7810. <https://doi.org/10.1128/AAC.01028-15>
- Sandgren, A., Strong, M., Muthukrishnan, P., Weiner, B. K., Church, G. M., & Murray, M. B. (2009). Tuberculosis drug resistance mutation database. *PLoS Medicine*, 6(2), e2. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000002>
- Santucci, P., Aylan, B., Botella, L., Bernard, E. M., Bussi, C., Pellegrino, E.,... Gutiérrez, M. G. (2022). Visualizing pyrazinamide action by live single-cell imaging of phagosome acidification and *Mycobacterium tuberculosis* pH homeostasis. *mBio*, 13(2), e00117-22. <https://doi.org/10.1128/mbio.00117-22>
- Santucci, P., Greenwood, D. J., Fearn, A., Chen, K., Jiang, H., & Gutierrez, M. G. (2021). Intracellular localisation of *Mycobacterium tuberculosis* affects efficacy of the antibiotic pyrazinamide. *Nature Communications*, 12(1), 3816. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24127-3>
- Shi, J., Su, R., Zheng, D., Zhu, Y., Ma, X., Wang, S.,... Sun, D. (2020). Pyrazinamide resistance and mutation patterns among multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* from Henan Province. *Infection and Drug Resistance*, 13, 2929-2941. <https://doi.org/10.2147/IDR.S260161>
- Sun, G., Luo, T., Yang, C., Dong, X., Li, J., Zhu, Y.,... Gao, Q. (2012). Dynamic population changes in *Mycobacterium tuberculosis* during acquisition and fixation of drug resistance in patients. *The Journal of Infectious Diseases*, 206(11), 1724. <https://doi.org/10.1093/infdis/jis601>
- Udawadia, Z. F., Amale, R. A., Ajbani, K. K., & Rodrigues, C. (2012). Totally drug-resistant tuberculosis in India. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 54(4), 579-581. <https://doi.org/10.1093/cid/cir889>

- Velayati, A. A., Masjedi, M. R., Farnia, P., Tabarsi, P., Ghanavi, J., ZiaZarifi, A. H., & Hoffner, S. E. (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), 420-425. <https://doi.org/10.1378/chest.08-2427>
- Vilchèze, C. (2020). Mycobacterial cell wall: A source of successful targets for old and new drugs. *Applied Sciences*, 10(7), 2278. <https://doi.org/10.3390/app10072278>
- Walker, T. M., Miotto P, Köser Cu, Fowler Pw, Knaggs J, Iqbal Z,... Puyen, Z. M. (2022). The 2021 WHO catalogue of *Mycobacterium tuberculosis* complex mutations associated with drug resistance: A genotypic analysis. *The Lancet. Microbe*, 3(4), e265-e273. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(21\)00301-3](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00301-3)
- Warner, D. F., & Mizrahi, V. (2006). Tuberculosis chemotherapy: The influence of bacillary stress and damage response pathways on drug efficacy. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 558-570. <https://doi.org/10.1128/CMR.00060-05>
- Warner, D. F., Rock, J. M., Fortune, S. M., & Mizrahi, V. (2017). DNA replication fidelity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1019, 247-262. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-64371-7\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-64371-7_13)
- Zhang, X., Liu, L., Zhang, Y., Dai, G., Huang, H., & Jin, Q. (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), 1320-1324. <https://doi.org/10.1128/AAC.03695-14>
- Zhang, X., Chen, X., Wang, B., Fu, L., Huo, F., Gao, T,... Li, Q. (2022). Molecular characteristic of both Levofloxacin and Moxifloxacin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* from individuals diagnosed with preextensive drug-resistant tuberculosis. *Microbial Drug Resistance*, 28(3), 280-287. <https://doi.org/10.1089/mdr.2021.0212>
- Zhang, Y., Shi, W., Zhang, W., & Mitchison, D. (2014). Mechanisms of Pyrazinamide action and resistance. *Microbiology Spectrum*, 2(4), MGM2-0023-2013 <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MGM2-0023-2013>
- Zong, Z., Jing, W., Shi, J., Wen, S., Zhang, T., Huo, F,... Pang, Y. (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 <https://doi.org/10.1128/AAC.00165-18>



Esta obra está bajo una licencia internacional [Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Usted es libre de Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

Adaptar — remezclar, transformar y construir a partir del material

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Atribución — Usted debe dar crédito de manera adecuada, brindar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.

NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con propósitos comerciales.

CompartirIgual — Si remezcla, transforma o crea a partir del material, debe distribuir su contribución bajo la misma licencia del original.