



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**MECANISMOS DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS- REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO

EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

PRESENTA

VEGA PEÑA MISAEL EZBAÍ

ASESOR

DR. SALVADOR FONSECA CORONADO

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2023.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

**DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**



VOTO APROBATORIO

ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de tesis y examen profesional**

Mecanismos de resistencia a antibióticos de Mycobacterium tuberculosis-revisión bibliográfica.

Que presenta el pasante: **Misael Ezbai Vega Peña**

Con número de cuenta: **315093126** para obtener el título de: **Licenciado en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 15 de noviembre de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Andrea A. Becerril Osnaya	
VOCAL	Q.F.B. Gabriela Escalante Reynoso	
SECRETARIO	Dr. Salvador Fonseca Coronado	
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Dulce María Ruvalcaba Sil	
2do. SUPLENTE	M.F.C. Cecilia Hernández Barba	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/cga*

Dedicatorias y agradecimientos.

A mi familia, particularmente a mis padres; Maritza Peña y Héctor Vega, a mis hermanas Areli Vega y Eunice Vega, quienes a pesar de las dificultades me apoyaron durante estos años.

A mis amigos de la Universidad Nacional Autónoma de México; Daniela, Brandon, Liliana, Denisse, Fernando, Gamma, Montse, Carlos Daniel, Axell, Daniel y otros tantos que han sido parte de mi vida durante estos años, por sus consejos (no solo en cuanto a la tesis, si no a la vida en general) y su amistad. Haciendo mención especial a:

Brandon Torres, quién me enseñó ciertas cosas importantes sobre la vida.

Daniela Vera, mi primera amiga de la universidad, por su gran amistad, consejos y compañía durante estos años.

Estela Fernández, quien de muchas formas me ayudó a encontrar el camino para ser quien soy el día de hoy, así como el que debo recorrer para convertirme en quién quiero ser.

Por último, pero no menos importante, a mis compañeros en el instituto de química, que hicieron esa experiencia más llevadera.

“Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa”

-Mahatma Gandhi

Índice

Introducción	7
Objetivos.....	9
1. La tuberculosis	10
1.1 Patogenia general	12
1.2 Epidemiología de la tuberculosis	15
2. Generalidades de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	18
3 Tuberculosis farmacorresistente	19
4 Tratamientos de la tuberculosis: fármacos de primera y segunda línea	22
4.1 Fármacos de primera línea	24
4.1.1 Rifampicina	24
4.1.2 Pirazinamida.....	26
4.1.3 Isoniazida.....	27
4.1.4 Etambutol.....	29
4.1.5 Estreptomicina	30
4.2 Fármacos de segunda línea.....	31
4.2.1 Ácido paraaminosalicílico	31
4.2.2 Cicloserina	33
4.2.3 Fluoroquinolonas.....	34
5 Mecanismos de resistencia de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	36
5.1 Mecanismos intrínsecos.....	36
5.1.1 La envoltura celular	36
5.1.2 Modificación enzimática del objetivo farmacológico.....	41
5.1.3 Mimetismo molecular	43
5.1.4 Degradación del antibiótico	45
5.1.5 Inactivación.....	48
5.1.6 Expulsión del antibiótico	50
5.2 Mecanismos adquiridos.....	56
5.2.1 Alteración de la diana farmacológica.....	57
5.2.2 Derogación de la activación del profármaco.....	59
5.2.3 Sobreexpresión de dianas farmacológicas	61
6 Nuevos tratamientos	62
6.1 Bedaquilina.....	63
6.2 Delamanida.....	66
6.3 Nuevos regímenes, fármacos y tratamientos en desarrollo.....	67
Conclusiones	71
Referencias	72

Abreviaturas.

Abreviatura	Significado	Abreviatura	Significado
Mtb	Mycobacterium tuberculosis	OL	Capsula
OMS	Organización mundial de la salud	MM	Micomembrana
MDR	Tuberculosis multiresistente	AG	Arabinogalactano
XDR	Tuberculosis extremadamente resistente	PG	Peptidoglicano
TB	Tuberculosis	PM	Bicapa lipidica
MTBc	Mycobacterium tuberculosis complex	CIM	Concentración mínima inhibitoria
BCG	Bacilo de Calmette-Guérin	EIS	proteínas de supervivencia intracelular mejorada
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa.	AMG	Aminoglucosidos
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana.	CAP	Capreomicina
ROS	Especies reactivas de oxígeno	ABC	Casette de unión a ATP
CENAPRECE	Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades	SMR	pequeña resistencia a múltiples fármacos
RR	Resistencia a rifampicina	RND	modulación de resistencia
RNA	Ácido ribonucleico	MFS	superfamilia de facilitadores principales
PZA	Pirazinamida	MATE	extrusión de compuestos tóxicos de múltiples fármacos
FAZI	sintasa de ácidos grasos tipo I	DMT	superfamilia de transportadores de metabolitos de fármacos
DNA	Ácido desoxirribonucleico	ATP	Adenosín Trifosfato
FDA	Food and drug administration		

Índice de figuras

Figura 1. “Estructura y constituyentes celulares del granuloma tuberculoso”	14
Figura 2. “Mapa de la incidencia esperada de la tuberculosis para el año 2020”	16
Figura 3. “Incidencia de todas las formas de tuberculosis en la república mexicana en el año 2017”	17
Figura 4. “Incidencia para la tuberculosis pulmonar según cada estado”	17
Figura 5. “Mecanismo de acción de la rifampicina”	25
Figura 6. “Mecanismo de acción de la Pirazinamida”	27
Figura 7. “Mecanismo de acción de la isoniazida”	29
Figura 8. “Mecanismo de acción de Etambutol y estreptomina”	31
Figura 9. “Mecanismo de acción del ácido P-aminosalicílico”	32
Figura 10. “Mecanismo de acción de la D-cicloserina”	34
Figura 11. “Mecanismo de acción de las fluoroquinolonas”	35
Figura 12. “Resumen de los mecanismos de los fármacos de primera y segunda línea”	35
Figura 13. “Modelo de la envoltura celular de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ”	38
Figura 14. Difusión de medicamentos en <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	41
Figura 15. Mecanismos de modificación estructural del objetivo	43
Figura 16. Diagrama de cinta del dímero MfpA de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	45
Figura 17. Mecanismos generales de las betalactamasas	47
Figura 18. 6'-N-acetilación de capreomicina	49
Figura 19. Estructuras representativas de las bombas de eflujo.....	51
Figura 20. Mecanismo propuesto de Rv1819c	53
Figura 21. Cambio conformacional de la bomba Rv1258c	54
Figura 22. Esquema resumen de los mecanismos de resistencia intrínsecos.....	56
Figura 23. Mecanismos de resistencia adquiridos.....	62
Figura 24. Mecanismo de acción de la Bedaquilina.....	66

Introducción

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa cuyo principal agente etiológico es el bacilo *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) el cual resulta ser resistente a gran variedad de antibióticos. Según la organización mundial de la salud (OMS) es considerada la primera causa de muerte por un solo agente infeccioso; tan solo en el año 2020 la tuberculosis causó 1.3 millones de muertes y presentó una incidencia mundial de 9.9 millones de casos, presentándose entre estos de 2.1 a 3 millones de casos de resistencia a la rifampicina, de los cuales 132, 000 fueron multirresistentes y 25, 681 extremadamente resistentes. (OMS, 2021)

Por lo tanto, es importante tener en cuenta que la resistencia bacteriana se está volviendo una epidemia silenciosa cobrando un excesivo número de víctimas por año. La organización mundial de la salud reporta que se producen más de 700 mil muertes anuales, estimándose podría causar más de 10 millones de muertes al año, durante los próximos 25 años, dejando además una pérdida de 100 billones de dólares para 2050. (OMS, 2022).

Las causas de la resistencia bacteriana son variadas y en muchas ocasiones multifactoriales, pero podemos destacar las principales:

- 1) La prescripción errónea de tratamientos, además de la cultura de automedicación. En diversos estudios se ha demostrado una relación directa entre dichas prácticas y la generación y diseminación de cepas resistentes (Read y Woods, 2014). De hecho, estudios también han demostrado que la indicación del tratamiento, elección del

antibiótico o duración del tratamiento son correctos únicamente en el 30-50% de los casos. (CDC, 2013; Luyt et al., 2014).

2) La explotación de los antibióticos a nivel industrial. Se sabe que cerca del 80% de los antibióticos vendidos son para uso en la agricultura/ganadería, cuyo uso principal es potenciar el crecimiento y evitar las infecciones. (Spellberg et al., 2014; Gross, 2014). Esto afecta de dos formas distintas; directa e indirectamente.

A) Directamente: El uso inadecuado de los antibióticos, ayuda a la selección artificial de las cepas resistentes, las cuales son transmitidas a través de la comida (principalmente productos cárnicos) a los seres humanos, causando así enfermedades. (Bartlett et al., 2013)

B) Indirectamente: Cerca del 90% de los antibióticos empleados son segregados mediante la orina u otros desechos al medio ambiente, luego se dispersan ampliamente a través de los fertilizantes, la escorrentía superficial y las aguas subterráneas, causando un gran impacto a nivel del microbioma ambiental. (Wright, 2010).

En cuanto al caso particular de *Mycobacterium tuberculosis*, es importante mencionar; antiguamente sólo se consideraban dos tipos de cepas resistentes, las cuales son; multiresistente a los antibióticos (MDR, por sus siglas en inglés) y extremadamente resistentes a los antibióticos (XDR, por sus siglas en inglés). Sin embargo, en la última

década, se han encontrado las primeras cepas totalmente resistentes a los antibióticos (TDR) en India e Israel (Udwadia, 2012)

Los mecanismos por los cuales Mtb presenta resistencia se dividen clásicamente en intrínsecos y adquiridos. En relación con mecanismos intrínsecos, los ejemplos más relevantes resultan ser la pared celular inusualmente gruesa y las bombas de eflujo, por otra parte, en los mecanismos los adquiridos, el ejemplo más relevante y frecuente resulta ser la modificación de los blancos de los antibióticos.

Objetivo general.

- Describir, integrar e ilustrar los mecanismos de resistencia a los antibióticos que presenta *Mycobacterium tuberculosis* (intrínsecos y adquiridos).

Objetivos particulares.

- Recopilar una actualización e integración de los mecanismos de resistencia intrínsecos y adquiridos que presenta *Mycobacterium tuberculosis*.
- Reunir la información actual sobre los mecanismos de los fármacos antituberculosos.
- Compilar información sobre el futuro del tratamiento de la tuberculosis.

1. La tuberculosis.

La tuberculosis (TB) es una antigua enfermedad con presentación principalmente pulmonar, la cual representa la novena causa de muerte y la primera por un sólo agente infeccioso a nivel mundial (OMS, 2019). Esta importante patología es causada por las especies de micobacterias miembros del *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC), entre las que encontramos a: *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), el agente etiológico de la TB en humanos; *M. africanum*, el cual causa tuberculosis en humanos sólo en ciertas regiones de África; *M. bovis*, *M. caprae* y *M. pinnipedii*, causantes de TB en mamíferos salvajes y domesticados, finalmente se encuentra *M. microti*, agente causal de TB solo en campañoles (Delogu et al., 2013).

La tuberculosis era y muy posiblemente vuelva a ser una de las grandes calamidades que ha atormentado al ser humano. De hecho, se sospecha su coevolución con el ser humano tras la aparición de este último. (Gutiérrez et al, 2005). Entre los registros más antiguos de la enfermedad, se encuentra la existencia de momias egipcias del año 5000 a. C con deformidades características de la tuberculosis espinal (Zimmerman, 1979), posteriormente en la antigua Grecia y mucho después en la época medieval las diversas presentaciones de la tuberculosis fueron conocidas como “ftisis” (tuberculosis ocular), “escrófula” o “mal del rey” (lifoadenitis tuberculosa), creyéndose que solo sería curada con el toque del algún monarca, un dato interesante sobre este contexto es que Sócrates fue el primero en pensar en el posible origen infeccioso de la enfermedad. Es fascinante mencionar la presencia de la tuberculosis en la biblia, específicamente en los pasajes de Deuteronomio y Levítico (Sharma, 1981).

Mucho tiempo después, en el año 1839 J. Schönbein bautizó a esta enfermedad como tuberculosis, esto debido a los conocidos “tubérculos”, lesiones pulmonares características de la enfermedad. Fue hasta el año 1882 cuando Robert Koch presentó los primeros resultados identificando al agente causal de la tuberculosis, aislándolo y cultivándolo en suero animal, además de inocular el agente causal en animales de laboratorio, siguiendo los postulados de Koch. (Riccardi et al, 2020; Barberis et al, 2017).

Durante un largo periodo de tiempo la tuberculosis causó pérdidas de innumerables vidas, esto empezó a controlarse en 1921 cuando Albert Calmette y Jean-Marie Camille Guérin crearon la vacuna BCG (utilizando cepas atenuadas de *Mycobacterium bovis*) la cual disminuyó considerablemente la mortalidad de esta enfermedad; sin embargo, este padecimiento recuperó importancia con la epidemia de VIH ocurrida entre los años 80-90's, adicionalmente el movimiento antivacunas y la resistencia a antibióticos, han potenciado el peligro que implica *Mycobacterium tuberculosis* para el ser humano y la sociedad en general.

El diagnóstico actual de esta enfermedad se basa en el seguimiento de tres estrategias: 1) la evaluación de los síntomas y su evolución, 2) el estudio de baciloscopia (frotis y crecimiento en agar) y 3) la evaluación de imagenología. estrategias adicionales usadas son: la microscopía de fluorescencia, la prueba de la tuberculina y la PCR (esta última sólo es solicitada con una baciloscopia positiva). (Cudahy y Shenois et al., 2016)

1.1 Patogenia general.

La tuberculosis en humanos es causada principalmente por *M. tuberculosis*, un patógeno condicional/oportunista, ya que en la mayoría de los casos se presenta la enfermedad cuando existe un cuadro de inmunodeficiencia, teniéndose un control esporádico en cerca del 90% de los casos; esto podría estar relacionado directamente con las campañas de vacunación a nivel nacional e internacional. (Cambier et al., 2014)

Este bacilo utiliza como método de entrada las vías aéreas superiores en forma de aerosoles, estableciéndose en primer lugar en el parénquima pulmonar en donde es fagocitado por los macrófagos alveolares (Delogu et al., 2013), sin embargo, si logra sobrevivir se replicará dentro del macrófago, para posteriormente causar una invasión generalizada a los tejidos cercanos (incluyendo tejido epitelial y endotelial) y se difundirá a diversos órganos por vía linfática o hemática (Delogu et al., 2013). Estudios recientes han demostrado que *M. tuberculosis* no limita su invasión a las células inmunes, sino también a una amplia gama de líneas celulares tales como los fibroblastos, adipocitos y células neuronales, este gran espectro de invasividad de células blanco, justificaría la gran variedad de presentaciones de la tuberculosis. (Randall et al., 2015)

Posterior a la invasión de los tejidos cercanos, ocurre la llegada de células inmunes (neutrófilos, linfocitos y otras líneas celulares), las cuales intentan encapsular a los bacilos invasores formando el conocido granuloma, un agregado compacto y organizado de células compuesto principalmente por: macrófagos que transformaron sus membranas celulares los cuales son capaces de unirse a células adyacentes, como células epiteliales

que poseen gran capacidad fagocítica, macrófagos que se han fusionado convirtiéndose en células gigantes o células espumosas (también llamados macrófagos altamente cargados de lípidos), estos dos tipos de células suelen contener bajas cantidades de bacterias fagocitadas. Los bacilos por su parte suelen encontrarse mayoritariamente presentes en las áreas necróticas centrales, en las cuales se encuentran poblaciones celulares muertas, macrófagos en apoptosis y macrófagos en necrosis (figura 1). Otras líneas celulares también presentes son; neutrófilos, células dendríticas, linfocitos T y B, células NK, fibroblastos y células que secretan componentes de la matriz extracelular. Es importante mencionar que la estructura del granuloma se encuentra rodeado de células epiteliales (Ramakrishnan, 2012).

Dentro del granuloma (en las áreas necróticas centrales) se encuentran los bacilos en estado de latencia a largo plazo (estado de baja actividad metabólica), sin causar daño o permitir la transmisión, siendo capaces de activarse en situaciones de inmunosupresión, por ejemplo, infección con VIH. (Chai et al., 2018). Se sabe que el estado de latencia en el cual permanece *M. tuberculosis* es debido a una gran gama de proteínas efectoras las cuales utilizan una variedad de estrategias para permitir la supervivencia intracelular, un ejemplo de esto es la proteína ESX1, la cual por una parte puede causar la inhibición de la protón-ATPasa encargada de la acidificación del fagolisosoma, o bien causa directamente la ruptura de la membrana del fagosoma. (Gröschel, et al, 2016).

El microambiente del granuloma es regulado principalmente por dos poblaciones de macrófagos; por una parte, los M1 (que promueve la eliminación bacteriana mediante producción de ROS y citocinas proinflamatorias tales como TNF, IL-1 β e IL-6) y por

otra los M2 (que se cree promueve la supervivencia intracelular de los bacilos) (Chai et al., 2018).

Posterior a la formación del granuloma, sí el sistema inmune funciona adecuadamente, los componentes fibrosos del granuloma se calcifican formando una estructura llamada complejo de Ghon (Ghon, 1923)

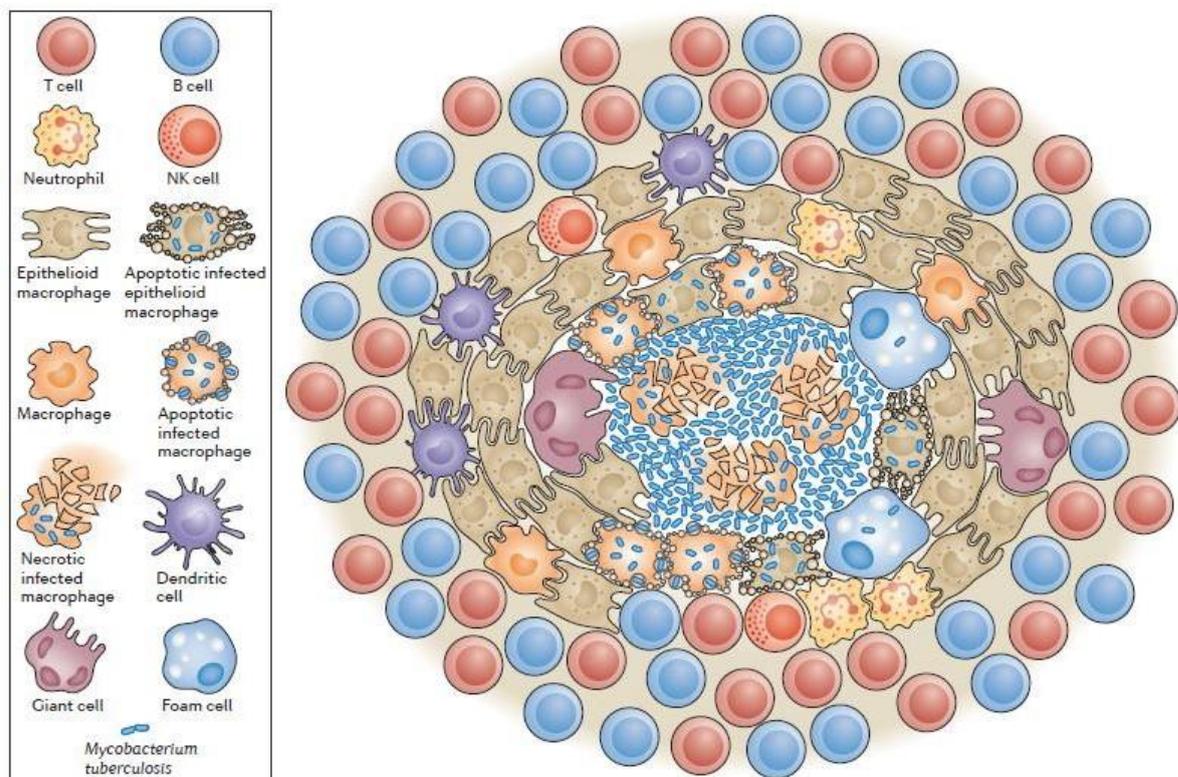


Figura 1. Estructura y constituyentes celulares del granuloma tuberculoso. Se observa la distribución de las líneas celulares. (Tomado de Ramakrishnan, 2012)

1.2 Epidemiología de la tuberculosis.

Una idea común es pensar que la tuberculosis es una enfermedad antigua y sin impacto en el mundo actual, sin embargo, resulta errónea, tan solo en 2020 hubo un estimado de 9.9 millones de casos de tuberculosis activa y 1.3 millones de muertes por tuberculosis, dicho de otra forma, había un caso nuevo de tuberculosis cada 3.18 segundos y una muerte por tuberculosis cada 2 minutos. (OMS, 2021). La mayoría de los casos de tuberculosis se distribuyen entre 22 países cubriendo así el 80% de la incidencia mundial, encontrándose la mayor incidencia entre medio oriente y África, esto se puede visualizar en la figura 2. (OMS, 2021; MacNeil et al., 2019). Es importante mencionar; debido a la emergencia sanitaria de COVID-19, disminuyó la notificación de casos de tuberculosis por parte de los gobiernos mundiales, es por esto por lo que a pesar de que la cifra podría considerarse mejor con respecto a otros años, realmente no hay certeza para confirmarlo. (OMS, 2021)

En los entornos con una alta carga de tuberculosis es normal observar una mayor presencia de la enfermedad entre los grupos de edad económicamente más productivos (adultos y adultos jóvenes), mientras que en los países con una baja carga y un mejor sistema de salud se presenta frecuentemente entre los grupos más vulnerables; adultos mayores, inmigrantes y población socialmente desfavorecida. Es relevante mencionar

que a pesar de esto, se considera que existe una proporción 2:1 de infección de hombres con respecto a las mujeres. (MacNeil et al., 2019)

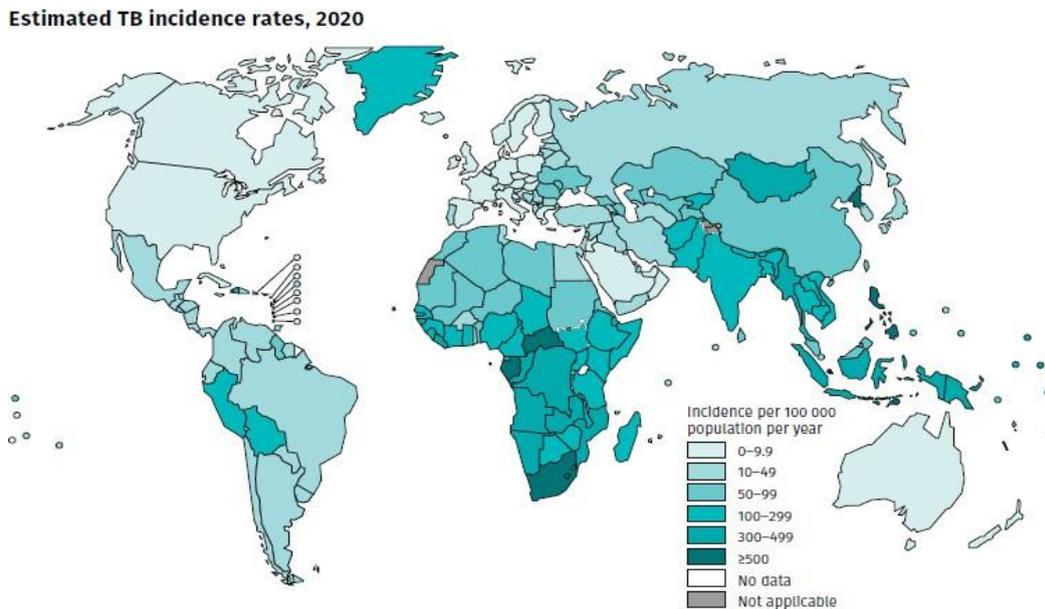


Figura 2. Mapa de la incidencia esperada de la tuberculosis para el año 2020, se muestra la incidencia con un código de colores de tono azul, siendo la incidencia por cada 100.000 personas. (Tomado del reporte mundial de tuberculosis OMS, 2021)

Centrándonos en territorio mexicano, se suele presentar una incidencia intermedia. En el año 2017 se registraron 21,696 nuevos casos de tuberculosis (en todas sus presentaciones) a nivel nacional siendo Veracruz, Baja California Norte, Guerrero, Chiapas y Nuevo León los estados que contabilizaron los números más altos: 2,327; 2,094; 1,196; 1,365 y 1,459, respectivamente (CENAPRECE, S.F). Por otra parte en el año 2019 se reportaron 19 mil nuevos casos, siendo más frecuente entre los 25 y 44 años, además se registraron 1982 defunciones asociadas en su mayoría a la forma pulmonar de la tuberculosis (Secretaría de Salud, 2020). En la figura 3 y 4 se muestra la incidencia reportada de todas las formas

de tuberculosis y la tuberculosis pulmonar durante el año 2017, además de la distribución según los estados de la República.

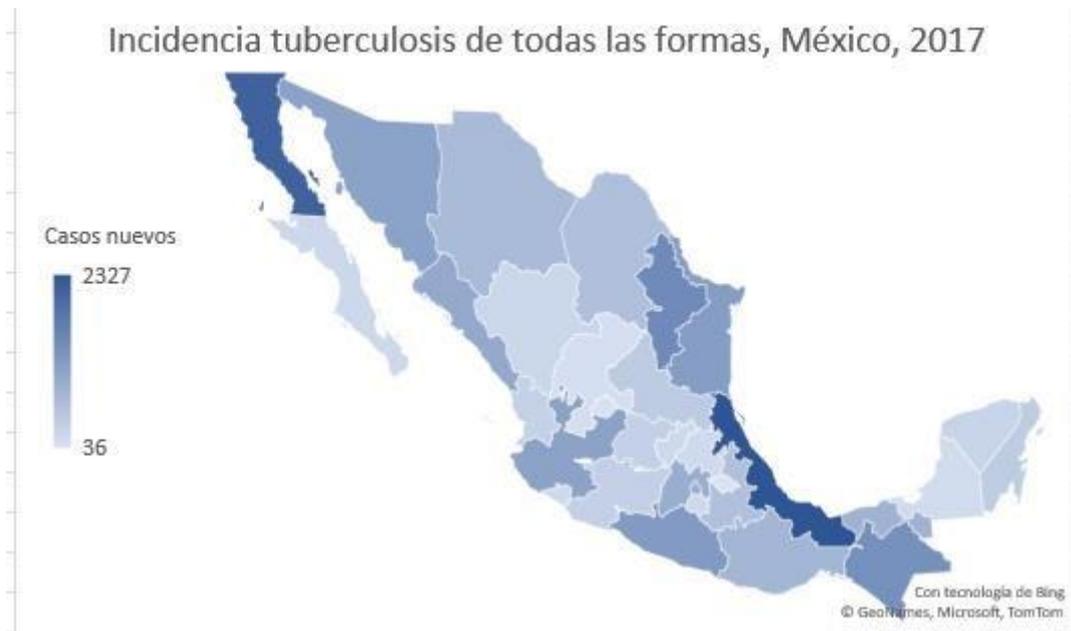


Figura 3. Incidencia de todas las formas de tuberculosis en la República Mexicana en el año 2017, mostrándose como los estados con mayor incidencia, se muestra que los estados con mayor incidencia son Baja California Norte, Veracruz, Chiapas, Nuevo León y Guerrero. (Imagen propia creada en Excel con datos de CENAPRECE, SF).

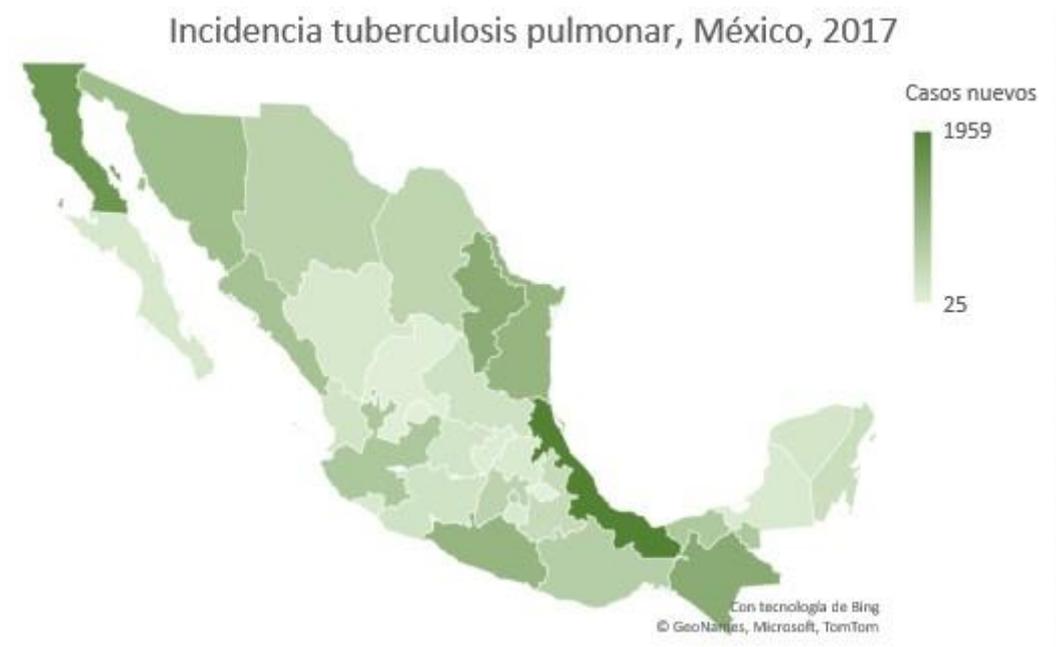


Figura 4. Incidencia para la tuberculosis pulmonar según cada estado, se muestran los estados con mayor incidencia: Veracruz, Baja California Norte, Nuevo León, Chiapas y Guerrero. (Imagen propia creada en Excel con datos de CENAPRECE, SF).

2. Generalidades de *Mycobacterium tuberculosis*.

M. tuberculosis es una bacteria ácido-alcohol resistente intracelular no formadora de esporas, inmóvil, aeróbica obligada, catalasa negativa, con un crecimiento significativo en aproximadamente 6 semanas (Adigun, 2022).

Este bacilo presenta dos tipos de morfología, en los tejidos se muestran como finas estructuras rectas cilíndricas que miden aproximadamente $0.4 \times 3 \mu\text{m}$; mientras que, en medios de cultivo presentan una morfología cocoide y filamentosa. (Brooks et al., 2014). Entre los medios de cultivo utilizados para su aislamiento se encuentra el medio

Löwenstein-Jensen y medio Middlebrook, para los cuales se utiliza preferentemente una muestra de esputo o sangre. (Brooks et al., 2014).

Entre las características más distintivas que presenta se encuentran: la complicación del tratamiento debido a su pared celular única y su gran capacidad de adquirir resistencia a los antituberculosos clásicos. Los recientes descubrimientos sobre Mtb indican que además de causar las múltiples presentaciones de la enfermedad pulmonar y extrapulmonar (pleural, ocular, esquelética y gastrointestinal) (Shah y Chida, 2017), tiene participación en otras patologías tales como: complicaciones pulmonares, enfermedades autoinmunes y síndromes metabólicos (Chai et al., 2018)

3. Tuberculosis farmacorresistente.

La tuberculosis farmacorresistente, como su nombre lo indica es una variante de la enfermedad en la cual los antituberculosos resultan menos eficientes, la OMS clasifica el rango resistencia de la siguiente manera (OMS, SF):

1. Monoresistente: Una cepa únicamente resistente a un solo fármaco antituberculoso de primera línea.
2. Poliresistencia: Resistencia a más de un fármaco de primera línea, además de la isoniazida y la rifampicina.
3. MDR (multi drug resistance): Resistencia al menos a rifampicina e isoniazida.

4. XDR (Extensive drug resistance): Resistencia a rifampicina, isoniazida, cualquiera de las fluoroquinolonas y cuando menos uno de los medicamentos inyectables de segunda línea (capreomicina, kanamicina y amikacina).
5. RR (Rifampicin resistance): Resistencia a la rifampicina, puede entrar en cualquiera de las clasificaciones antes mencionadas.

Las cepas pertenecientes a esta clasificación tienen una distribución mundial, se considera han conseguido esta propagación debido a varias razones, destacándose las siguientes:

- 1) Tratamiento caótico: Debido a que a mediados de los años 80 's, muchos países no utilizaban los regímenes establecidos y la terapia contra la tuberculosis era de difícil acceso para los pacientes. Esto causó el incumplimiento de los regímenes adecuados en la mayoría de los casos. (Seung et al., 2015)
- 2) Terapia de corta duración. En los casos de poliresistencia, utilizar tratamientos cortos se ha relacionado con la adquisición de nuevas formas de resistencia, de tal forma que en cierto número de casos, se sumaron las rasgos de resistencia hasta que se presentó resistencia a todos los medicamentos de primera línea. (Seung et al., 2015)
- 3) Transmisión comunitaria: Anteriormente se creía que las mutaciones que se relacionaban con la resistencia causaban deficiencias, siendo así que las infecciones resultarían autolimitadas, sin embargo en la práctica real, contrario a

lo que se pensaba muchos pacientes han sido infectados con tuberculosis MDR, en lugar de adquirir lentamente la resistencia debido al incumplimiento de los regímenes. (Seung et al., 2015)

- 4) Transmisión nosocomial: Al igual que muchas otras infecciones resistentes a medicamentos, los hospitales resultan lugares ideales para contraer cepas resistentes de tuberculosis, esto es un riesgo principal para los pacientes de VIH o bien los que están siendo tratados por tuberculosis susceptible a medicamentos. (Seung et al., 2015)

Es importante recalcar la tasa de éxito presente en el tratamiento de estas cepas, encontrándose una tasa de éxito bajo, 54% para las cepas MDR (multi drug resistance) y 28% para las cepas XDR (extremadamente resistentes a medicamentos) comparándolos claro está con el 83% de respuesta en las cepas susceptibles a medicamentos. (Gygli et al, 2017).

Otro de los problemas que causa la farmacorresistencia es en términos del crecimiento económico (Reid et al., 2019), principalmente para los países en vías de desarrollo, particularmente la tuberculosis multirresistente (TB MDR), la cual se estima produce un gasto de aproximadamente 10 veces el costo del tratamiento para tuberculosis susceptible a medicamentos, esto implica grandes problemas en regiones tales como África, ya que el dinero empleado en los tratamientos es un gran costo para el sector salud y las personas en particular. (Ayles et al., 2013), aunque los casos de TB MDR implican el 3% de los

detectados anualmente, estos consumen cerca del 35% del presupuesto anual dedicado al sector salud. (Pooran et al., 2013)

Ahora bien, centrándonos en particular en las estrategias de resistencia de *Mycobacterium tuberculosis*, se pueden dividir las mismas en dos grupos: las adquiridas, es decir ocasionadas mediante la presión selectiva de la exposición a un medicamento y las intrínsecas, características de resistencia propias de la especie.

4. Tratamiento de la tuberculosis; fármacos de primera y segunda línea.

El tratamiento de la tuberculosis activa, además de costoso incluye regímenes largos y complicados de seguir, los cuales presentan un considerable grado de toxicidad para el paciente debido a la aparición de efectos secundarios como son: cambio en el color de la orina (ocurre universalmente), intolerancia gástrica (en el 40% de los pacientes), cambios en la piel (en el 20%), ictericia (en el 15%) y dolor en las articulaciones (en 4%). (Rabahi et al., 2017).

Los pacientes diagnosticados con tuberculosis pulmonar activa (sensible a los medicamentos) son prescritos con un régimen farmacológico de seis meses de duración, el cual se divide en dos instancias, una fase intensiva y una de continuación.

En la fase intensiva el tratamiento incluye: etambutol, isoniazida, pirazinamida y rifampicina por dos meses, todos ellos administrados por vía oral diariamente. En la fase

de continuación (los siguientes 4 meses) se reduce a isoniazida y rifampicina, dichos medicamentos deben ser administrados a diario para mantener niveles estables plasmáticos de los principios activos, y así poder presentar una mejoría clínica progresiva. (Sotgiu et al., 2015) Es por esto por lo que resulta indispensable el desarrollo de nuevos medicamentos con regímenes más cortos y una menor toxicidad.

Por otra parte, a los pacientes con tuberculosis latente (sensible a los medicamentos) se les administra un tratamiento con isoniazida por 9 meses, este puede ser seguido por un tratamiento combinado de isoniazida y rifampicina, o una monoterapia con rifampicina por 4 meses, es importante recalcar que presenta una eficiencia del 90% siempre y cuando sea administrado una vez terminados los 9 meses iniciales. (Parekh y Schluger, 2013).

Finalmente, para el tratamiento de la tuberculosis MDR o XDR, es necesario en primera instancia identificar a qué fármacos resulta resistente el bacilo, para esto es recomendado utilizar kits comerciales de PCR, que permiten amplificar selectivamente los genes de resistencia más comunes, o bien, el método tradicional del antibiograma, una vez determinado el tipo de resistencia se prescribirá el tratamiento y la posología adecuados. (Sotgiu et al., 2015)

Los fármacos utilizados se pueden dividir en 2 tipos: fármacos de primera línea y fármacos de segunda línea.

4.1 Fármacos de primera línea.

Son los fármacos que presentan un grado máximo de eficiencia, con un grado aceptable de toxicidad, este tipo de fármacos permite el tratamiento de la mayoría de los casos de tuberculosis activa; se incluyen en este grupo: rifampicina, pirazinamida, isoniazida, etambutol y estreptomina. (Lozano, 2002) Los mecanismos de acción se presentan resumidos en la fig. 10.

4.1.1 Rifampicina.

La rifampicina es un medicamento antituberculoso ampliamente utilizado, el cual actúa uniéndose a la unidad β de la RNA polimerasa, bloqueando directamente la elongación de RNA cuando la transcripción únicamente ha alcanzado 2-3 nucleótidos, también puede disminuir la afinidad de la RNA polimerasa por los transcritos cortos de RNA (figura 5) (Campbell et al., 2001). Es importante mencionar que la rifampicina actúa igualmente sobre los bacilos en estado de latencia como en los metabólicamente activos, esta característica ayuda entre otras cosas a disminuir el tiempo del tratamiento a 6 meses. (Coll, 2009)

La rifampicina es administrada en dosis de 10 a <600 mg/Kg/día, no se recomienda su administración con alimento, ya que reduce la absorción en aproximadamente un 30%. (FDA, S.F). La mayoría de los efectos secundarios frecuentes no son de importancia clínica, entre estos encontramos; el aumento de la concentración sérica de ácidos biliares, coloración anaranjada de los fluidos corporales (incluyendo lágrimas, sudor, orina y

heces), sin embargo entre los efectos secundarios de importancia clínica son raros ($\geq 1/10\ 000$, $< 1/1000$) o muy raros ($< 1/10\ 000$), entre los de rara aparición encontramos: reacciones alérgicas menores (síndrome cutáneo, gastrointestinal o similar a la influenza) mientras que entre los de muy rara aparición encontramos: mayores (anemia hemolítica, shock o insuficiencia renal aguda), también puede causar hepatitis o enfermedad hepática en pacientes con antecedentes.

Finalmente resulta importante mencionar, la presencia de interferencia con varios medicamentos como son: antirretrovirales inhibidores de la proteasa, anticonceptivos orales, anticoagulantes orales, digoxina, corticoides, ciclosporina, tacrolimús y sulfonilurea. (Grosset y Leventis, 1983)

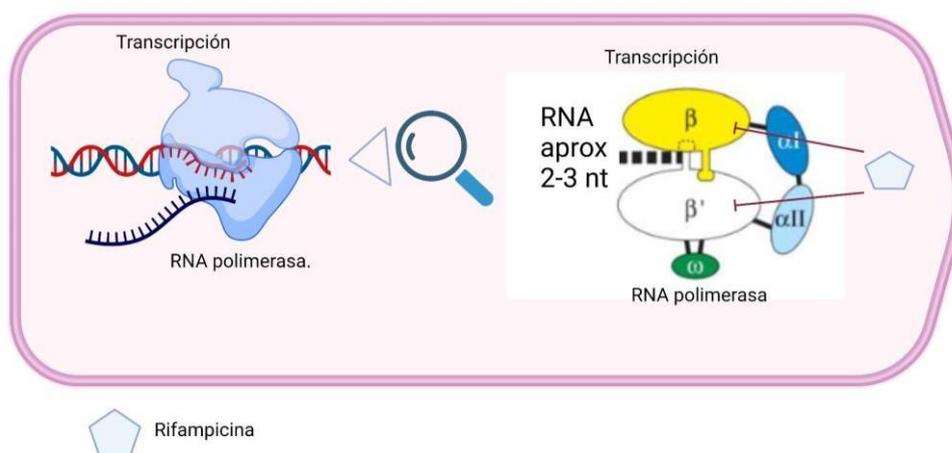


Figura 5. Mecanismo de acción de la rifampicina. La rifampicina actúa bloqueando a la subunidad beta de la RNA polimerasa. (Imagen propia creada con Biorender).

4.1.2 Pirazinamida

La pirazinamida (PZA) es un profármaco derivado de la nicotinamida, el cual es convertido por la enzima pirazinamidasa en su forma activa que es el ácido pirazinoico. Esta forma activa presenta un mayor efecto a pH bajo (5.5) como el existente en el interior del macrófago (Zhang et al, 2003; 2008).

El ácido pirazinoico actúa de varias formas; en primer lugar, uno de sus objetivos es la sintasa de ácidos grasos tipo I (FASI) implicada en la síntesis de ácidos micólicos, por una parte, inhibiéndola directamente y por otra disminuyendo el pH por debajo del rango tolerado por la enzima (Zimhony et al, 2007). Además el ácido pirazinoico puede desprenderse de sus protones (H⁺) para causar una desestabilización de la membrana, así como una acidificación citoplasmática afectando la síntesis de proteínas y RNA (figura 6) (Zhang et al, 2003).

Al igual que la rifampicina, la PZA presenta un mayor efecto sobre los bacilos en estado de latencia, lo cual le adjudica un excelente efecto esterilizante. (Hu et al, 2006). De hecho, la concentración mínima inhibitoria para *Mycobacterium tuberculosis* es de 20 µg/ml, la cual se obtiene después de una dosis oral de un gramo.

Los efectos adversos asociados a pirazinamida son raros ($\geq 1/10\ 000$, $< 1/1000$) o muy raros ($< 1/10\ 000$.), excepto los gastrointestinales que son poco frecuentes ($\geq 1/1000$, $< 1/100$) (Asociación Española de pediatría, S.F). Entre los reportados encontramos:

hiperuricemia, hepatotoxicidad y alteraciones gastrointestinales. En casos raros se puede presentar exantema y fotosensibilidad (Zierski et al., 1980).

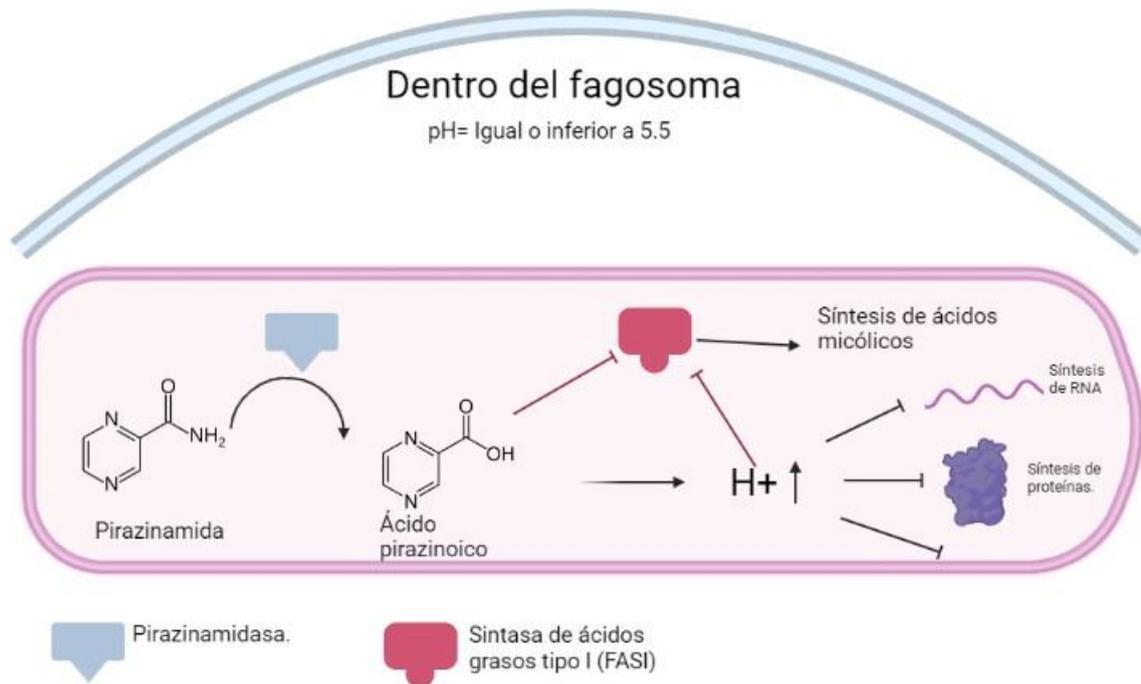


Figura 6. Mecanismo de acción de la Pirazinamida. La Pirazinamida es transformada a su forma activa, el ácido pirazinoico, este actúa de diversas formas, por una parte, inhibiendo a FASI, por otra parte, el ácido pirazinoico se puede desprotonar alterando el pH intracelular, lo cual afecta a las enzimas para el resto de las funciones vitales (Imagen propia creada con Biorender).

4.1.3 Isoniazida.

La isoniazida es un profármaco cuya activación es realizada por la enzima catalasa peroxidasa codificada por el gen KatG. Los metabolitos activos (radicales) actúan bloqueando la síntesis de los ácidos micólicos, mediante la inhibición de algunos objetivos, siendo el más relevante de estos la reductasa codificada por el gen InhA, cuya

inactivación provoca la acumulación de ácido hexacosanoico, lo cual causa la alteración de la morfología celular y la muerte del bacilo como consecuencia (figura 7) (Vilchèze et al., 2000). Es importante mencionar que la Isoniazida únicamente es activa sobre las poblaciones metabólicamente activas, es decir tiene una baja eficiencia sobre las poblaciones latentes. (Coll, 2009).

La isoniazida es administrada en regímenes de 5 a 300 mg/Kg/día en una dosis única, presenta además una elevada absorción oral y gastrointestinal, sin embargo no debe ser administrada con alimentos ya que reducen considerablemente la absorción (FDA, 2016) una distribución rápida y una excreción del 75 al 95% por orina. Entre los efectos adversos reportados, encontramos hepatotoxicidad (en el 10-15% de los pacientes) y polineuropatía por interferencia con el metabolismo de la vitamina B6. Esto último es debido a que por una parte inactiva los metabolitos de piridoxina y por otra inhibe a la enzima piridoxina fosfoquinasa, la cual convierte a la piridoxina en su forma activa. (Badrinath y John et al., 2021).

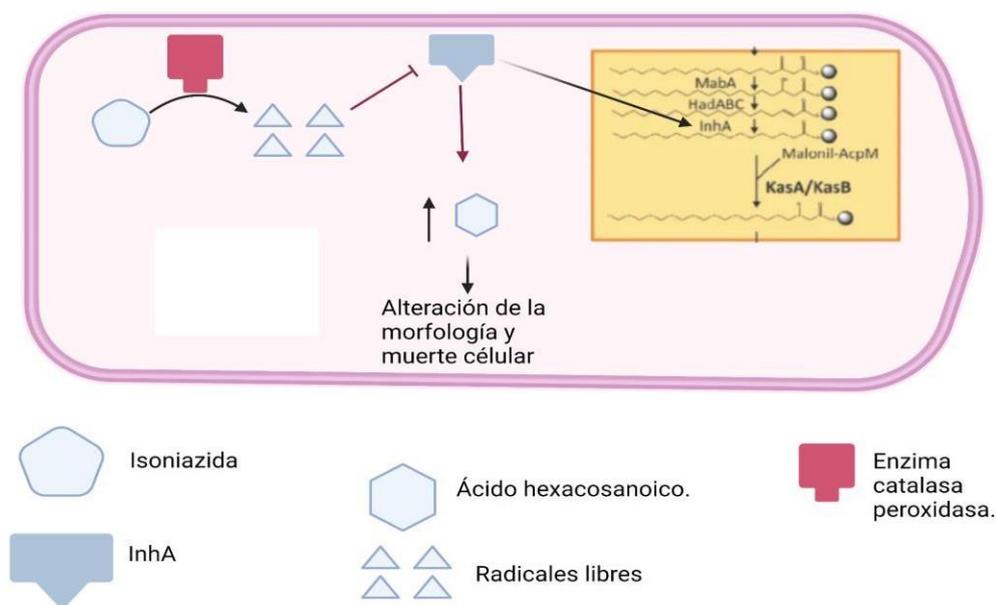


Figura 7. Mecanismo de acción de la isoniazida. La isoniazida es un profármaco que requiere activación por la enzima catalasa-peroxidasa, formando radicales libres los cuales inhiben la síntesis de ácidos micólicos a través de la inhibición de la enzima inhA, eso causa acumulación de ácido hexacosanoico, lo cual altera la morfología celular causando la muerte. (Imagen propia creada con Biorender)

4.1.4 Etambutol.

El etambutol (etilen-diamino-dibutanol), es un derivado de la etilendiamina, cuya actividad necesita de forma indispensable el crecimiento activo de las células susceptibles, por otra parte presenta una actividad variable sobre las diversas micobacterias de crecimiento lento; su objetivo principal es la inhibición específica de la biosíntesis de la pared micobacteriana, esto a través del bloqueo de las arabinosil transferasas (figura 8), las cuales están relacionadas con la síntesis del arabinogalactano y el lipoarabinomano, estas enzimas son codificadas por el operón *embCAB*, el cual recibe la mayoría de las mutaciones que generan resistencia a este fármaco. (Alcaide et al., 1997).

La dosis utilizada en adultos varía en un rango de 100 a 400 mg/Kg/día, sin embargo en niños la dosis recomendada es de 15-20 mg/kg de peso/día (Donald et al., 2006), la administración de este fármaco no se ve afectada por el consumo de alimentos. (FDA, 2007) Entre los efectos adversos reportados para este medicamento se encuentra la disminución de la agudeza visual, neuropatía óptica, escotoma, daltonismo, neuropatía periférica, hepatotoxicidad, confusión, alucinaciones y psicosis. (Lee y Nguyen., 2021).

4.1.5 Estreptomicina.

La estreptomicina es un aminoglucósido, el cual interfiere con la síntesis de proteínas bloqueando la traducción del RNAm, mediante la unión al RNA 16S, inhibiendo así la formación de enlaces peptídicos (figura 8) (Waters y Tadi, 2022). Presenta una baja absorción gastrointestinal, por lo tanto, su administración es preferentemente por vía intramuscular o intravenosa. La distribución se realiza principalmente a través del tejido magro.

Se describen los efectos adversos frecuentes (1-10%), o de relevancia clínica. Entre los efectos secundarios frecuentes se encuentran: ototoxicidad vestibular, parestesias en la cara, fiebre, urticaria, edema angioneurótico, eosinofilia, reacciones de hipersensibilidad, hipomagnesemia y convulsiones. (Asociación Española de Pediatría, 2020). En casos extremos se ha reportado: encefalopatía y anemia hemolítica inmunoalérgica, no se ha definido la frecuencia. (Waters y Tadi, 2022)

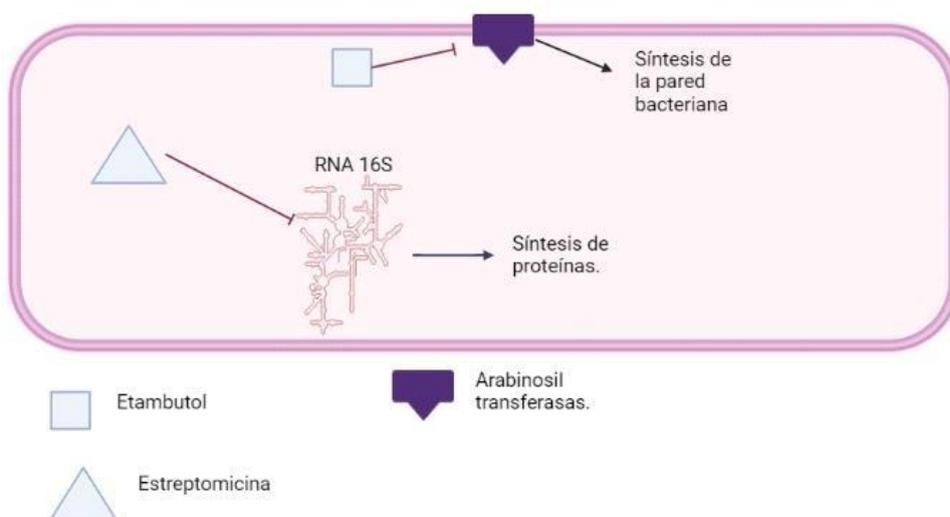


Figura 8. Mecanismo de acción de etambutol y estreptomicina. El etambutol actúa bloqueando a las arabinosil transferasas, encargadas de la síntesis del arabinogalactano de la pared celular, por su parte la estreptomicina bloquea al RNA 16s impidiendo la formación del enlace peptídico durante la síntesis de proteínas (Imagen propia creada con Biorender).

4.2 Fármacos de segunda línea.

Se clasifican en este grupo a los fármacos cuya relación toxicidad/ beneficio no es ideal, y por tanto menos satisfactorios que los de primera línea; sin embargo, suelen ser utilizados en casos de presentarse resistencia a los fármacos de primera línea, figuran en este grupo: etionamida, ácido paraaminosalicílico, cicloserina, amikacina, capreomicina y rifabutina. (Lozano, 2002)

4.2.1 Ácido paraaminosalicílico.

El ácido paraaminosalicílico, es un profármaco considerado como tratamiento de segunda línea para la tuberculosis, es principalmente efectivo contra los bacilos de crecimiento extracelular (Coll, 2009). Existen varias hipótesis del mecanismo de acción, encontrándose entre los más aceptados su interferencia con el metabolismo del ácido fólico mediante la inhibición competitiva de la dihidrofolato reductasa. Esto ocurriría de la siguiente manera, en primer lugar es activado por las enzimas dihidropteroato sintasa y dihidrofolato sintasa, generando el antimetabolito hidroxilo dihidrofolato (análogo estructural del ácido *P*-aminobenzoico), el cual inhibiría la actividad enzimática de la

dihidrofolato reductasa (figura 9) (Zheng et al, 2013; Zhang et al, 2019), también se conoce su participación en la inhibición del transporte de hierro.

El ácido paraaminosalicílico se absorbe de forma incompleta en el tracto digestivo, por lo tanto la dosis oral resulta elevada (10-12 g/día), esto aunado a una intolerancia gastrointestinal se ha relacionado con el incumplimiento del tratamiento (Coll, 2009). Entre los efectos adversos reportados (frecuencia no definida), encontramos: anorexia, náuseas, vómitos, acidez y diarrea. También puede presentarse otros efectos (de frecuencia no conocida) toxicidad renal, hepática (elevación de las transaminasas), tiroidea (hipotiroidismo) y sanguínea (hiperplasia linfoide y síndrome mononucleósico). (Asociación Española de Pediatría, 2021)

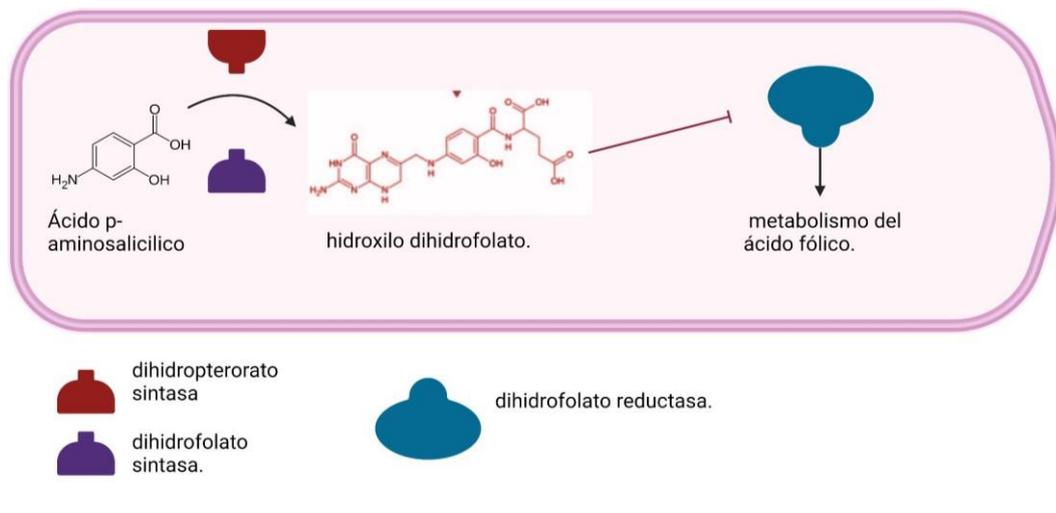


Figura 9. Mecanismo de acción del ácido P-aminosalicílico. El ácido P-aminosalicílico es transformado a su forma activa (un antimetabolito) por las enzimas dihidropterato sintasa y dihidrofolato sintasa, el antimetabolito resultante actúa como un inhibidor competitivo de la dihidrofolato-reductasa. (Imagen propia creada con Biorender)

4.2.2 Cicloserina.

La D-cicloserina es un análogo de la D-alanina la cual inhibe de forma competitiva las enzimas D-alanil-D-alanina sintetasa, alanina racemasa y alanina permeasa, inhibiendo así la síntesis de la pared micobacteriana, específicamente la síntesis del peptidoglicano (Fig. 10). (Li et al., 2019).

La cicloserina es administrada por vía oral y presenta una variedad de efectos adversos, principalmente a nivel del sistema nervioso, incluyendo neuropatía periférica y alteraciones del sistema nervioso central, como son: confusión, irritabilidad, cefalea, disartria, vértigo o convulsiones y alteraciones psicóticas que incluyen la depresión grave con ideas suicidas. (Coll, 2009)

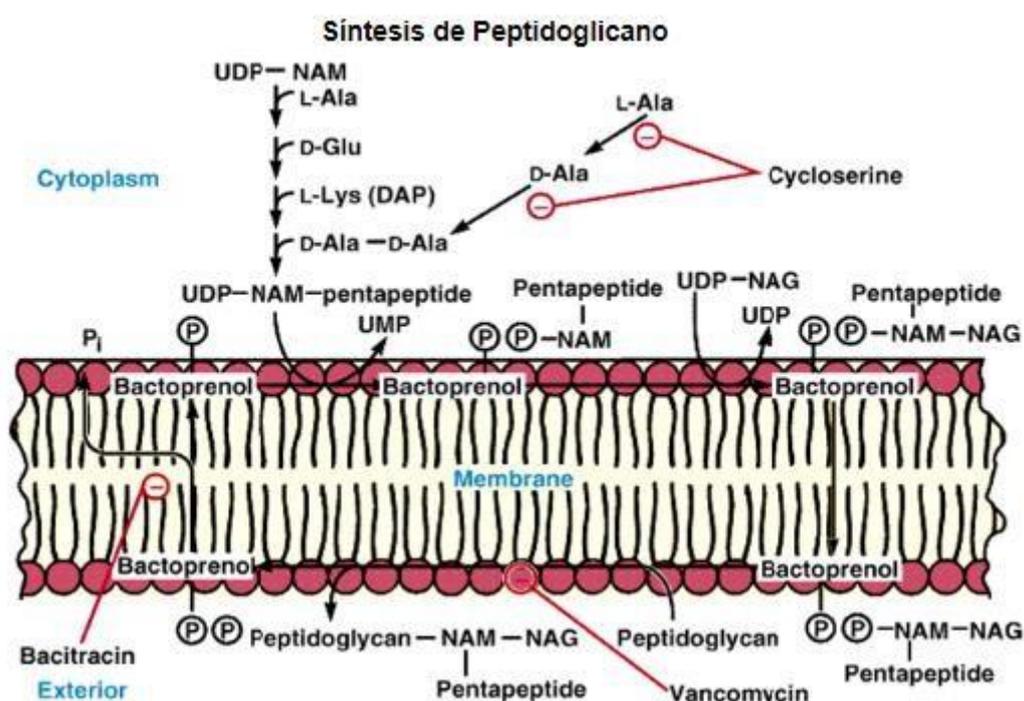


Figura 10. Mecanismo de acción de la D-cicloserina. La D-cicloserina actúa inhibiendo la síntesis del peptidoglicano a través de la desactivación de las enzimas L-Alanina sintetasa, alanina racemasa y alanina permeasa (Traducido de Willey et al., 2013)

4.2.3 Fluoroquinolonas.

La actividad de las quinolonas ocurre principalmente sobre la DNA-girasa y la topoisomerasa IV, estas participan en la transcripción, traducción y replicación del DNA bacteriano creando microrroturas del DNA; las quinolonas estabilizan los complejos enzima-DNA, de tal forma que se genera la rotura del cromosoma bacteriano causando así la muerte celular (figura 11) (Aldred et al., 2014).

Las quinolonas se suelen administrar por vía oral o intravenosa principalmente, suelen poseer una amplia biodisponibilidad y una alta distribución entre los tejidos. Entre los efectos adversos reportados se encuentran principalmente alteraciones gastrointestinales. En algunos casos se suele presentar hipersensibilidad leve (en forma de un sarpullido menor o fotosensibilidad), Síndrome de Stevens-Johnson, necrólisis epidérmica tóxica y/o la rotura de tendones, siendo el tendón de Aquiles el principal afectado. (Yan y Bryant., 2021)

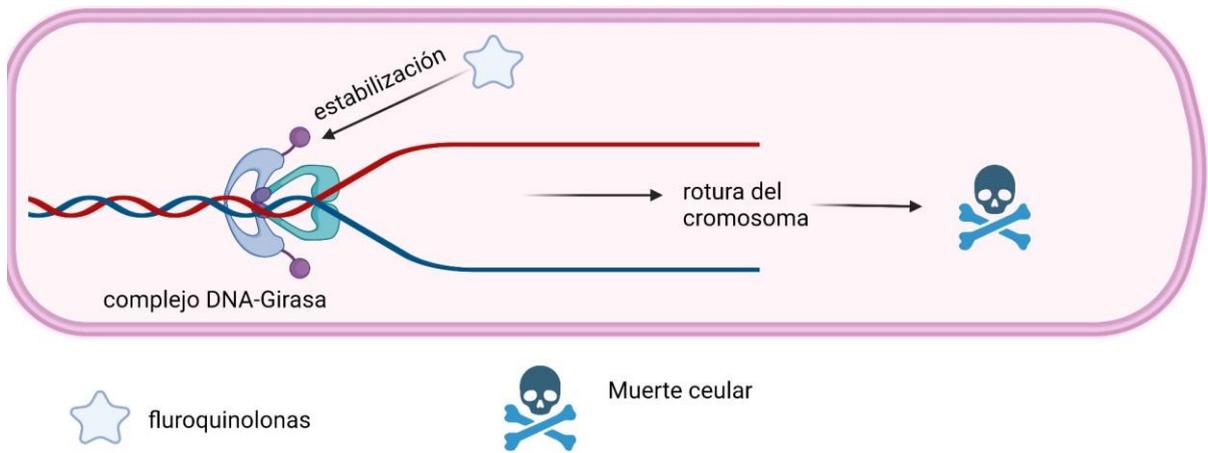


Figura 11. Mecanismo de acción de las fluoroquinolonas. Las fluoroquinolonas actúan estabilizando los complejos de DNA-girasa, volviéndola un tóxico intracelular que termina causando la rotura del cromosoma bacteriano y la muerte celular. (Imagen propia creada con Biorender)

En la siguiente imagen se resumen los mecanismos de los antibióticos de primera y segunda línea.

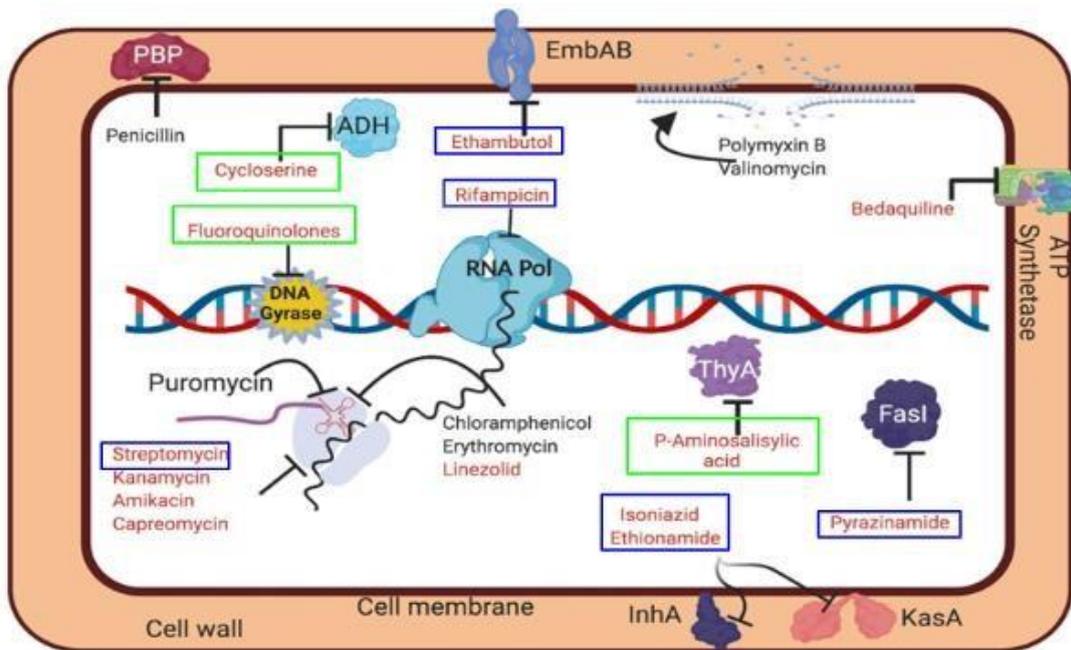


Figura 12. Resumen de los mecanismos de los fármacos de primera y segunda línea. Se muestran un resumen conjunto de los distintos mecanismos de los antituberculosos de primera y segunda línea, en azul

se muestran los fármacos de primera línea, mientras que en verde se muestran los fármacos de segunda línea. (Tomado de Chauhan, 2021)

5. Mecanismos de resistencia de *Mycobacterium tuberculosis*.

5.1 Mecanismos intrínsecos.

Podemos definir como mecanismo intrínseco, todo aquel rasgo que se comparte dentro de las características propias de la especie, es independiente de la exposición previa a los antibióticos y no está relacionada con la transferencia horizontal de genes (Reygaert, 2018) , entre estos mecanismos se encuentran: La envoltura celular, modificación de la estructura del objetivo, mimetismo molecular, degradación del antibiótico, inactivación del antibiótico y expulsión del antibiótico.

5.1.1 La envoltura celular.

Los miembros del género *Mycobacterium* siempre se han destacado por su envoltura celular inusualmente gruesa y rica en lípidos (Jarlier y Nikaido, 1994) de hecho, se sabe dichos lípidos constituyen hasta el 40% del peso seco del bacilo tuberculoso; además, la pared celular micobacteriana, se compone aproximadamente en un 60% de lípidos comparado con el 20% estimado para las bacterias Gram negativas (Chiaradia et al, 2017). Entre las características que aporta esta distintiva pared celular, se encuentra la elevada resistencia a antibióticos de amplio espectro, además de su considerablemente baja permeabilidad a los nutrientes (100 a 1000 veces menos permeable que *Escherichia coli* o *Pseudomonas aeruginosa*) (Wayne, 1986).

Esta característica de la membrana ha sido tema de estudio por un tiempo considerable, un hallazgo particularmente interesante es el realizado por Zuber et al en 2008 con el descubrimiento de una micomembrana (estudio realizado en cepas de *Mycobacterium; bovis, smegmatis y corynebacterium glutamicum*), este descubrimiento cambio el modelo que se tenía de la pared celular. (Zuber et al., 2008)

En el modelo actual se consideran tres capas distintas; una capa externa (también denominada cápsula en las especies más patógenas), una pared celular y una membrana plasmática (figura 13).

La cápsula o capa externa se compone principalmente de polisacáridos tales como el glucano además de proteínas y una baja cantidad de lípidos (figura 13), sin embargo, la disposición exacta se desconoce. (Daffé y Draper, 1998; Chiaradia et al., 2017). Es importante recalcar la participación de los componentes de la cápsula en la patogenia de la enfermedad, por ejemplo entre sus componentes tenemos proteínas inmunoreguladoras (α -glucano capsular y H37RAM) los cuales impiden la linfoproliferación de los macrófagos, además presenta enzimas detoxificadoras que ayudan a la supervivencia intracelular (catalasa y peroxidasa) (Daffé y Etienne., 1999)

La pared celular está compuesta de tres biomoléculas principales: 1) ácidos micólicos formando la micomembrana, 2) peptidoglicano y 3) arabinogalactano (figura 13). La micomembrana presenta una organización de bicapa la cual está formada por ácidos micólicos de cadena larga unidos a arabinogalactano el cual se encuentra unido

covalentemente al peptidoglicano. Existe un espacio periplasmático que separa la pared celular de la membrana plasmática (Daffé et al, 2017). Es importante recalcar; la micomembrana forma una barrera cerosa no fluida que restringe el acceso de las moléculas hidrofóbicas e hidrofílicas. (Liu et al 1995). De hecho, Liu et al en 1995 y posteriormente Gao et al en 2003, realizaron estudios utilizando mutagénesis dirigida, para crear cepas deficientes en ácidos micólicos, encontrando un marcado aumento en la susceptibilidad de los antibióticos lipofílicos y las moléculas antimicrobianas del huésped (defensina y lisozima).

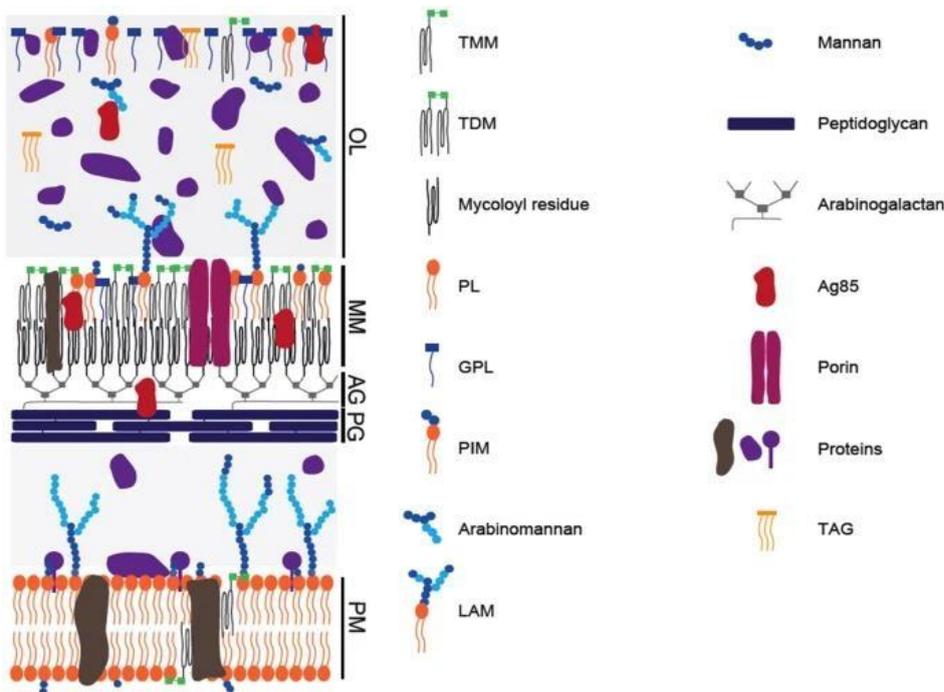


Figura 13. Modelo de la envoltura celular de *Mycobacterium tuberculosis*. Se muestra la cápsula (OL), compuesta principalmente por proteínas, pequeñas cantidades de carbohidratos y una pequeña cantidad de lípidos., la pared celular compuesta por la micomembrana (MM), arabinogalactano (AG) y peptidoglicano (PG), un espacio periplasmático separa la pared celular de la bicapa lipídica convencional (PM) (Tomado de Chiaradia et al., 2017)

Esta composición complica la entrada de nutrientes y fármacos hacia el interior de las células, ralentizando enormemente su paso; hablando en particular sobre los mecanismos de entrada, ocurren a través de dos medios de transporte principales: el transporte lipídico o hidrofóbico y el transporte hidrofílico.

Con respecto al transporte lipídico, se puede decir que los agentes antimicrobianos más lipofílicos tales como las rifamicinas, macrólidos y fluoroquinolonas tienen más probabilidad de difundirse a través de la membrana, este transporte pasivo se caracteriza por la interacción entre los lípidos estructurales y las moléculas pequeñas, sin embargo, dicha difusión se ve convenientemente ralentizada por la baja fluidez y el grosor de la pared celular (figura 14) (Sarathy et al, 2012). Estudios variados han demostrado la exposición de *M. smegmatis* (modelo más utilizado para estudiar a *M. tuberculosis*) a concentraciones sub-inhedorias de etambutol aumentan la fluidez de la membrana, situación que sugiere que la combinación de fármacos a distintas dosis podría ser de ayuda para el tratamiento de *M tuberculosis*, sin embargo, cabe destacar el modelo es una bacteria ambiental con un genoma 1.5 veces más grande que *M. tuberculosis*, por lo que se debe tener cuidado al extrapolar los resultados de una especie a otra. (Abate y Hoffner 1997; Bosne-David et al, 2000).

Por otra parte, se tiene al transporte hidrofílico, donde la difusión hacia el interior de las bacterias ocurre mediante canales llamados “porinas”, los cuales se encuentran llenos de agua, estos permiten la penetración de pequeñas moléculas hidrofílicas (figura 14). Se han estudiado varios tipos de porinas en bacterias Gram negativas y algunas Gram positivas, no obstante, hasta la fecha únicamente se han identificado y caracterizado dos

clases putativas de porinas en micobacterias: porinas similares a *MspA* y *OmpA* en *M. smegmatis* y *M. tuberculosis*, respectivamente.

OmpA fue la primera molécula similar a porina identificada en *M. tuberculosis*, según la estructura de la misma funcionaria formando canales similares a porina que permitirían el paso de iones en la célula, confiriéndole además un papel clave en la supervivencia de *M. tuberculosis* a condiciones ácidas. (Sarathy et al, 2012). Si *OmpA* formará unidades de porina funcionales el rango de estos sería de aproximadamente 600-800 Da, esto implicaría; fármacos tales como rifampicina y macrólidos serían demasiado grandes para utilizar esta vía de acceso. (Sarathy et al, 2012)

En estudios realizados por Stephan et al, en 2004, encontró que *M. tuberculosis* se volvió significativamente más sensible a la isoniazida, etambutol y estreptomycinina tras la expresión de *mspA*, una porina principal de *M. smegmatis*; por otra parte la eliminación de la expresión de *mspA* o *mspC* aumentó la resistencia de los antibióticos hidrofílicos e hidrofóbicos como la rifampicina, vancomicina y eritromicina (aumentando la concentración mínima inhibitoria 16 veces) (Danilchanka et al., 2008; Stephan et al., 2004).

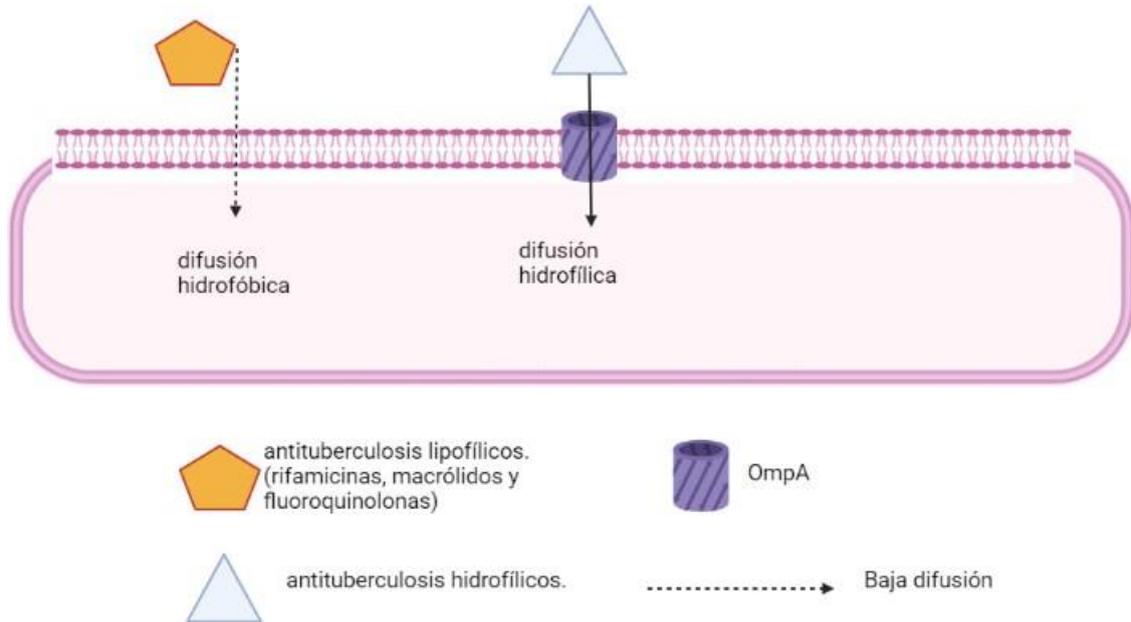


Figura 14. Difusión de medicamentos en *Mycobacterium tuberculosis*. Los fármacos lipofílicos se difunden a través de la interacción entre los lípidos y las moléculas del fármaco, los fármacos hidrofílicos se transportan a través de canales de agua llamados porinas, en el caso del *Mycobacterium tuberculosis* el más estudiado es el canal OmpA.

5.1. 2 Modificación enzimática del objetivo farmacológico.

Una de las estrategias usadas por las micobacterias y otras bacterias es la modificación enzimática del blanco, evitando que sea reconocido, un ejemplo de esto ocurre con los macrólidos y las lincosamidas, dichos antibióticos se unen específicamente y de forma reversible a los ribosomas (en la subunidad 50S), inhibiendo así la síntesis de proteínas. La posible estrategia utilizada por *M. tuberculosis* es la expresión de una metiltransferasa

de RNAr, (Erm37), la cual confieren resistencia a los macrólidos-lincosamida-estreptogramina (MLS) por metilación del RNAr 23S, mediante la monometilación en las posiciones 2057–2059 (fig. 9) (Buriánková et al, 2004). Curiosamente dicha enzima además de conferir resistencia presenta un papel estelar en la supervivencia del bacilo ya que metila la histona H3 en H3R42 lo que suprime la primera línea de defensa contra las micobacterias. (Yaseen et al., 2015). Sorprendentemente se ha demostrado que la exposición a niveles sub-inhibitorios de claritromicina inducen la expresión de Erm37, lo que causa el aumento de la CMI de claritromicina de 4 a 8 veces. (Andini y Nash., 2006)

Un mecanismo opuesto (pérdida de una metilación) ocurre con *tlyA* una metiltransferasa cuya misión principal es metilar al RNA ribosomal 16s y 23s, en los nucleótidos C1409 y C1920 respectivamente (fig. 15), cuya presencia indica el sitio de acción para la capreomicina y viomicina en la interfaz de la subunidad del ribosoma, de tal forma que, en las cepas mutantes se encuentra interrumpido el gen para *tlyA*, ausentándose así el sitio de acción. (Maus et al, 2005; Johansen et al 2006). De hecho, en estudios realizados por Maus et al en 2005 y Johansen et al en 2006, se encontró la ausencia (o interrupción) del gen Rv1694 (*tlyA*) estaba asociado con una mayor resistencia a la capreomicina y neomicina, sin embargo, la presencia de este gen se asociaba a una mayor susceptibilidad.

Como último ejemplo se tiene a la proteína de unión a la RNA polimerasa (RbpA) la cual Interactúa con la subunidad beta de la RNA polimerasa, sitio de acción de la rifampicina (antibiótico que inhibe la actividad de transcripción de la polimerasa), disminuyendo así la susceptibilidad a dicho antibiótico (fig. 15). (Dey et al., 2010)

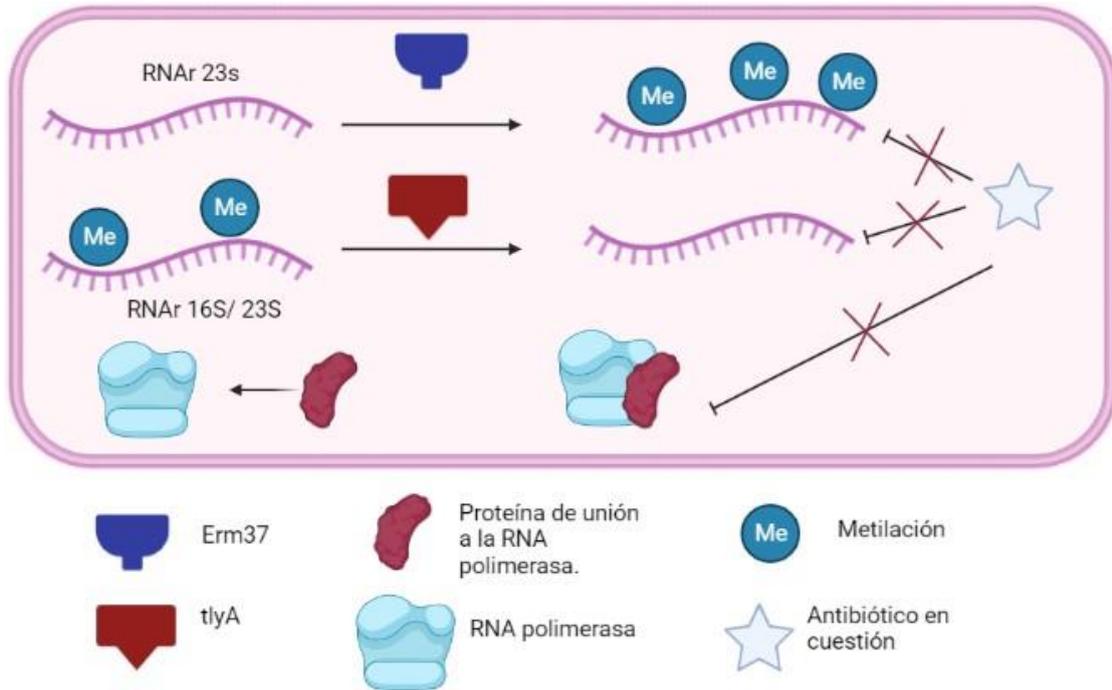


Figura 15. Mecanismos de modificación estructural del objetivo. Se ilustra los mecanismos por los cuales actúan Erm37 (metilando el RNA ribosomal 23 S) tlyA (retirando las metilaciones del RNA ribosomal 16 S y 23 S) y la proteína de unión a la RNA polimerasa, evitando así el reconocimiento por parte del antituberculoso en cuestión. (Imagen propia creada con Biorender)

5.1.3 Mimetismo molecular del objetivo.

El mimetismo molecular es un mecanismo en el cual se produce un objetivo el cual desvía la acción del antibiótico. En el caso de *M. tuberculosis* se utiliza para neutralizar la acción de las fluoroquinolonas, que actúan inhibiendo la replicación, transcripción y reparación del DNA, estos antibióticos tienen como blanco a la DNA girasa en sus

complejos con el DNA, de tal forma que resulta la degradación de DNA y la muerte celular. (Andriole, 2005).

El mecanismo de resistencia por otra parte se atribuye principalmente a un pentapéptido llamado *MfpA*. Un estudio en *M. smegmatis* y *M. bovis* demostró lo siguiente: la expresión de dicho péptido se correlaciona con la resistencia de las fluoroquinolonas, encontrándose considerablemente disminuida al ser suprimida (Montero, 2001). Se encontró además que la estructura 3D del péptido, (en el cual cada quinto aminoácido es leucina o fenilalanina) se parece mucho a una doble hélice de DNA en estructura β (figura 16) (Ferber, 2005; Hegde et al, 2005), el mecanismo propuesto, mediante el cual genera la resistencia es mediante la unión a la DNA girasa, inhibiendo la capacidad de desenrollar y enrollar el DNA, si bien esto disminuye la eficiencia de la misma volviéndola más lenta, también priva a las fluoroquinolonas de su objetivo (Ferber, 2005)

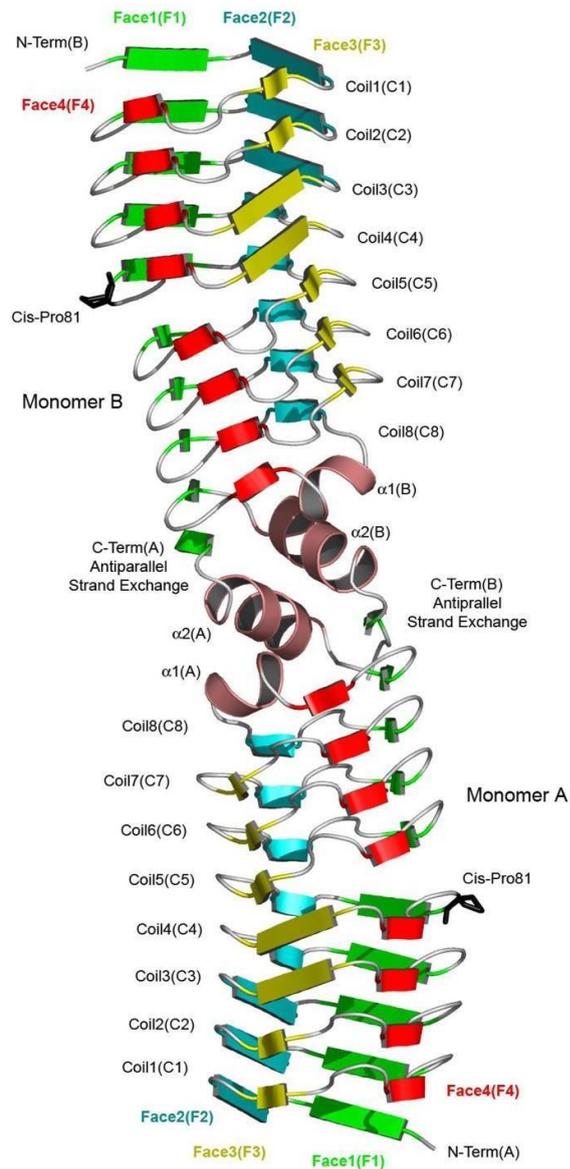


Figura 16. Diagrama de cinta del dímero MfpA de *Mycobacterium tuberculosis*. Las cuatro caras del cuadrilátero β -hélice son de color verde (cara 1), azul (cara 2), amarillo (cara 3) y rojo (cara 4). (Tomado de Vetting et al, 2006)

5.1.4 Degradación enzimática del antibiótico.

Este mecanismo se basa en la escisión enzimática para volver ineficaces a los antibióticos, el principal ejemplo de este mecanismo ocurre con los antibióticos

betalactámicos los cuales actúan sobre las proteínas de unión a penicilina (transpeptidasas, enzimas clave que participan en la biosíntesis del peptidoglicano). La degradación de los anillos beta lactámicos ocurre por unas enzimas denominadas B-lactamasas, gracias a Chambers y colaboradores (1995) se sabe existen cuando menos cuatro beta lactamasas presentes en *M. tuberculosis* *blaS*, *rv0406c* y *rv3677c* (las cuales presentan baja actividad) y *BlaC* (enzima principal de este mecanismo de resistencia).

BlaC es una betalactamasa de tipo A la cual se deduce se expresa en el espacio periplásmico. (Abraham, 1941; Flores et al; 2005). La expresión de *BlaC* resulta ser inducible por β -lactámicos, dicha expresión está regulada por *BlaI* un regulador de héliceel cual funciona como represor transcripcional, en ausencia de β -lactámicos *BlaI* forma un homodímero que inhibe al promotor del gen para *BlaC* inhibiendo la transcripción, sin embargo, cuando se encuentra en presencia de β -lactámicos se disocia de su sitio activando así la transcripción (Sala et al, 2009)

En general existen dos mecanismos por los cuales pueden actuar las β -lactamasas: a través de la acción de un nucleófilo de Ser en el sitio activo, o mediante inactivación haciendo uso de un centro de Zn. (Wright, 2005). El mecanismo usado por *BlaC* ocurre a través del ataque nucleofílico, por un residuo de serina del sitio activo, causando la rotura del anillo β -lactámico (figura 17) (Tremblay et al., 2010) Por otra parte, si bien *BlaC* tiene un increíble parecido a otras betalactamasas, esta presenta un amplio espectro de dianas, encontrándose entre sus objetivos a los carbapenémicos, esto se podría deber a cambios de ciertos aminoácidos clave en su estructura tales como N132G, R164A, R244A y R276E (cambios principales en el sitio activo) (Wang et al. 2006; Hugonnet y Blanchard 2007 ; Tremblay et al. 2010).

Por otra parte, es importante mencionar; en general, se considera que las betalactamasas de las micobacterias presentan acción lenta, sin embargo, esto se compensan con la baja difusión de la membrana lo que permite la acción de las betalactamasas. (Jarlier, 1991).

Finalmente vale la pena mencionar la utilidad del ácido clavulánico como el único inhibidor estable de BlaC, de tal forma que administrarlo en conjunto con carbapenémicos podría funcionar como una opción de tratamiento, de hecho en estudios se ha encontrado administrados en conjunto disminuyeron la CIM entre 16 a 32 veces. (Hugonnet, 2009)

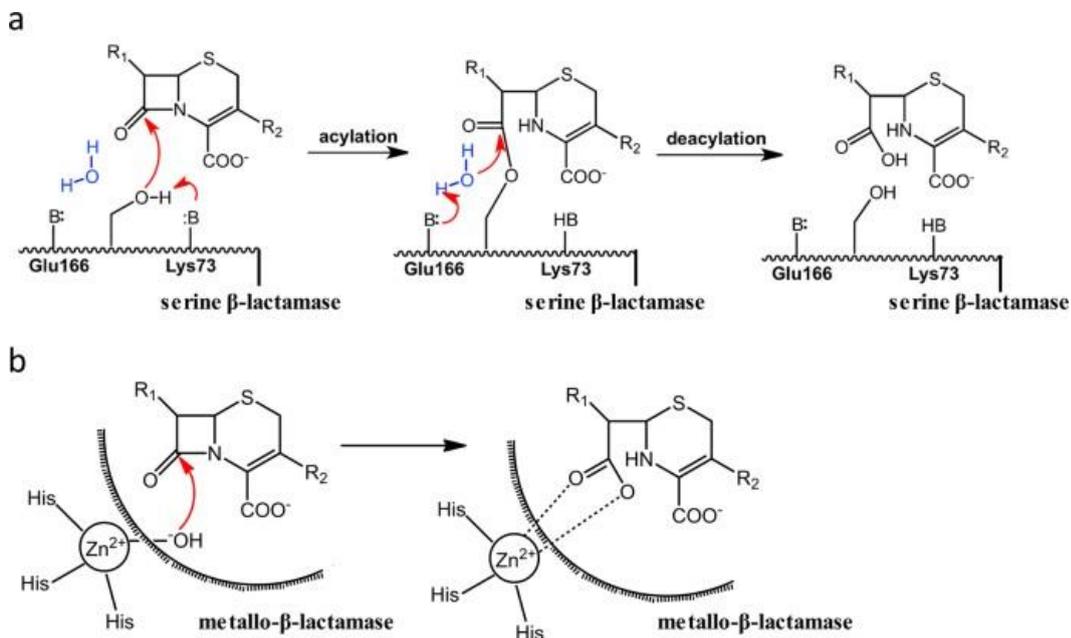


Figura 17. Mecanismos generales de las betalactamasas. A) Serina betalactamasas B) metalo betalactamasas. (tomado de He et al, 2020)

5.1.5 Inactivación.

A) Acetilación.

La inactivación es la modificación de la estructura química de los antibióticos con el fin de reducir o evitar la función del mismo, este mecanismo ocurre principalmente a través de un grupo de enzimas conocida como “proteínas de supervivencia intracelular mejorada” (EIS), dichas enzimas son homólogas a las acetiltransferasas de aminoglucósidos presentes en otras especies del género *Mycobacterium* (Al-Saeedi et al, 2017) ; por lo tanto acetilan a los grupos amino de diversos antibióticos utilizando Acetil-CoA como donante de grupos acilo, (en la figura 18 se muestra el posible mecanismo de acción) (Chen et al., 2011).

Entre sus objetivos se encuentran principalmente aminoglucósidos (AMG) pero también capreomicina y otros antibióticos con residuos de lisina (Houghton et al, 2013), es importante mencionar; presenta una gran capacidad para modificar múltiples sitios del AMG, lo cual se deduce sería debido a la presencia de dos sitios de N-acetilación. (Chen et al., 2011). Resulta curioso pensar la doble función de la proteína de supervivencia intracelular, ya que por una parte funciona inactivando a los antibióticos y por otra permite la supervivencia al sistema inmune. (Zaunbrecher et al., 2009; Chen et al., 2011; Houghton et al., 2013)

Otra enzima encargada de la acetilación resulta ser la aminoglucósido-N-acetiltransferasa (AAC 2'), la cual posee la habilidad de acetilar todos los

aminoglucósidos conocidos que llevan el grupo amino 2', incluidos: neomicina, kanamicina, gentamicina, tobramicina y ribostamicina. (Vetting et al, 2002), es relevante mencionar dicha enzima fue identificada en *M. smegmatis*, sin embargo, se cree que presenta un homólogo en *Mycobacterium tuberculosis* el cual actuaría en menor cantidad que EIS.

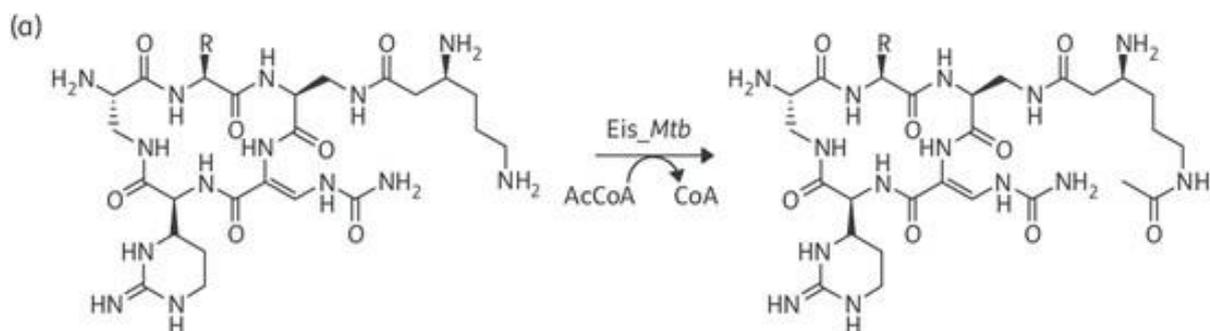


Figura 18. 6'-N-acetilación de capreomicina (CAP) por Eis. (tomado de Houghton., 2013)

B) Metilación.

Este resulta ser un mecanismo relativamente novedoso. En estudios realizados por Warriar et al, se determinó *Mycobacterium tuberculosis* puede metilar fármacos mediante la N-metilación, esto se demostró con el fármaco conocido como “14” el cual fue metilado en la posición N-5, en dicho estudio se encontró *M. tuberculosis* utiliza una metiltransferasa codificada por *Rv0560c*, al ser metilado 14, este no puede reconocer y por tanto inhibir a su objetivo DprE1 (Warriar et al., 2016)

5.1.6 Expulsión del antibiótico (bombas de eflujo).

Las bombas de eflujo son un mecanismo de transporte, las cuales participan en la homeostasis celular y la regulación del paso de nutrientes; están presentes en una gran variedad de células, tanto procariotas como eucariotas, en el caso particular de las bacterias patógenas, se sabe tienen una amplia relación con la resistencia bacteriana expulsan al medio los antibióticos evitando así el contacto con los objetivos.

Se han encontrado cuando menos 18 bombas de eflujo que confieren resistencia a antibióticos de bajo nivel en *Mtb* (Viveiros et al., 2012), dichas bombas presentan algunas peculiaridades como son; la gran variedad de sustratos que pueden extraer, además de resultar importantes en el crecimiento intracelular dentro de los macrófagos, añadido a esto presentan una expresión inducible según el medio ambiente en el cual se encuentre (por ejemplo dentro de un macrófago o en un medio con altas concentraciones de antibiótico). (Lamichhane et al, 2005; Maling et al., 2016). Un ejemplo de esto son las bombas codificadas por *IniBAC* (participantes en la resistencia a isoniazida y etambutol) y *efpA* (transportador no específico de la familia MFS), dichas bombas son reguladas negativamente por el regulador de transcripción *Lsr2*, en presencia de isoniazida o etambutol se induce la expresión de dichas bombas. (Colangeli et al, 2007)

En términos generales se puede decir existen 6 grandes familias de bombas de eflujo según la fuente de energía, tamaño de la bomba y sustratos que utiliza, estas familias son: cassette de unión a ATP (ABC), pequeña resistencia a múltiples fármacos (SMR), nodulación de resistencia (RND) , superfamilia de facilitadores principales (MFS),

extrusión de compuestos tóxicos de múltiples fármacos (MATE) y la superfamilia de transportadores de metabolitos de fármacos (DMT) (Al-Saeedi et al, 2017) (figura 19)

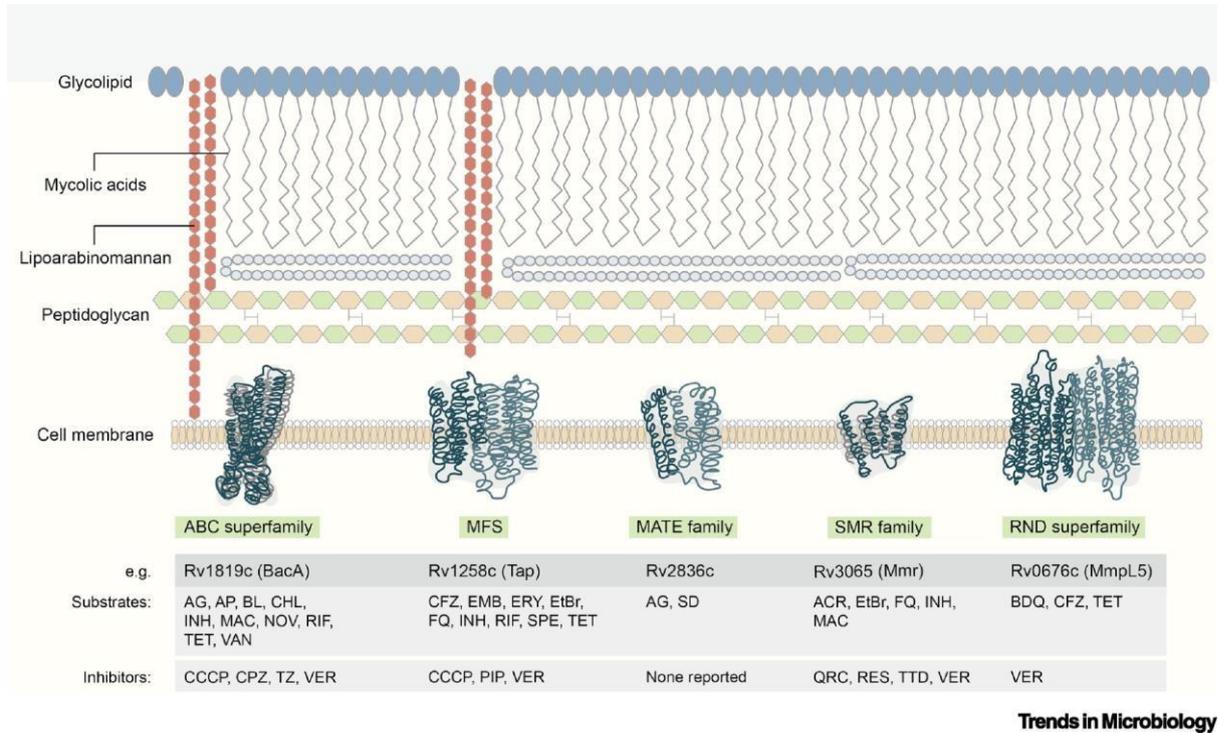


Figura 19. Estructuras representativas de las bombas de eflujo que pertenecen a la superfamilia del casete de unión de ATP (ABC), superfamilia de facilitadores principales (MFS), familia de extrusión de compuestos tóxicos y multifármacos (MATE), familia pequeña de resistencia a múltiples fármacos (SMR) y superfamilia de nodulación de resistencia (RND) que se encuentra en *Mycobacterium tuberculosis*, con ejemplos de cada uno junto con sus sustratos e inhibidores conocidos. (Tomado de Laws et al, 2022)

En el genoma de *Mycobacterium tuberculosis* se encuentran codificadas una gran variedad de bombas de eflujo pertenecientes a estas familias, particularmente, un gran número de las correspondientes a ABC y MSF se encuentran implicadas en la resistencia bacteriana (Machado et al, 2018). Se hablará a detalle de dichas familias, ejemplos de bombas de eflujo y características distintivas.

A) ABC

Se considera aproximadamente el 2.5% del genoma de *Mycobacterium tuberculosis*, corresponde a bombas de eflujo de la familia ABC (Braibant et al, 2000), entre algunos ejemplos encontramos a Rv0194, Rv1819c (BacA) y Rv2936/Rv2937/Rv2938 (DrrABC) las cuales participan activamente en la resistencia a antibióticos principalmente para cloranfenicol, macrólidos y tetraciclinas (Danilchanka et al., 2008).

Un caso de particular interés es Rv1819c, la cual funcionaria como una bomba bidireccional, por una parte permitiendo la entrada de ciertos compuestos hidrofílicos y por otra expulsando a algunos otros. El mecanismo propuesto implica la unión de ATP en el lado citoplásmico de la membrana permitiera que la bomba formase una conformación de dímero cerrado, y a su vez permite que los sustratos ingresaran a la cavidad interna desde el lado extracelular mientras se mantiene cerrado el lado intracelular. La hidrólisis y desfosforilación del ATP sería clave, al impulsar un cambio conformacional que cierra la puerta extracelular y abre la intracelular, lo que permite la internalización del sustrato, un cambio que se invierte con la unión de ATP de novo (figura 20). (Rempel et al, 2020)

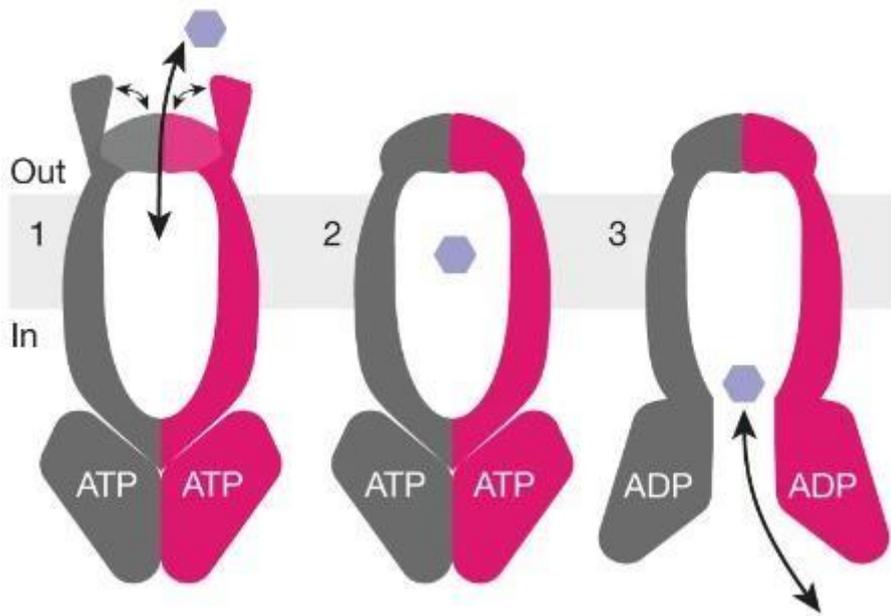


Figura 20. Mecanismo propuesto de Rv1819c. El transportador se encuentra representado de forma transversal. En gris y rosa se muestran los monómeros, en gris claro se muestra la membrana. 1) En el estado unido a ATP, se forma la conformación de dímero cerrado, posteriormente las puertas extracelulares se abren en tiempos cortos para permitir la entrada de sustratos. 2) El lado intracelular se mantiene cerrado, impidiendo así la entrada de metabolitos. 3) Tras la hidrólisis de ATP y la liberación de fosfato inorgánico el dímero se disocia y conduce a la apertura de la puerta intracelular lo que permite que el sustrato ingrese a la célula. 1)La unión posterior de ATP restablece el transportador. (Tomado de Rempel et al., 2020)

B) MSF

En una reciente revisión se encontraron 30 transportadores de tipo MSF de los cuales 19 se correlacionan fuertemente a la resistencia. (Li et al, 2017), entre las características distintivas de este grupo se encuentra la conformación de entre 10 y 16 dominios transmembranales. Un ejemplo de interés resulta Rv1258c (Tap), una de dichas bombas es capaz de expulsar una amplia gama de fármacos entre ellos: clofazimina, etambutol,

eritromicina, bromuro de etidio, fluoroquinolonas, isoniazida, rifampicina, espectinomomicina y tetraciclina. (Machado et al., 2018).

El mecanismo propuesto sería el siguiente: 1) Protonación inicial de los residuos del transportador 2) la unión al sustrato en el lado citoplásmico de la membrana, impulsando así 3) un cambio conformacional desde un estado orientado hacia adentro hacia un estado orientado hacia afuera lo que permite la expulsión de este. (figura 21) (Huang et al., 2003)

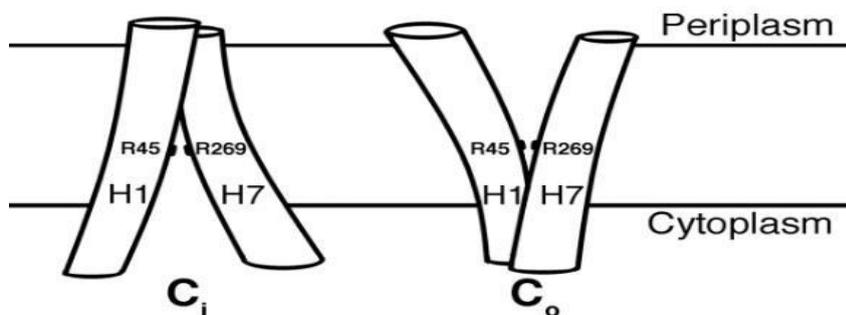


Figura 21. Cambio conformacional de la bomba Rv1258c, donde se muestran únicamente las hélices H1 y H7 para la facilidad de comprensión (tomado de Huang et al., 2003)

C) OTROS.

En cuanto a la familia SMR, se conoce únicamente una bomba relacionada con la resistencia antimicrobiana: Rv3065 (Mmr), entre sus sustratos se encuentra acriflavina, bromuro de etidio, fluoroquinolonas, isoniazida y macrólidos, además de algunos fármacos de moléculas pequeñas tales como quercetina, reserpina, tetrandrina y verapamilo (Machado et al, 2018), sin embargo, vale la pena mencionar no se ha informado acerca de su estructura cristalina o su mecanismo de expulsión.

Finalmente, en cuanto a la familia MATE, únicamente se ha encontrado a Rv2836c (DinF), de hecho siendo el único miembro de esta familia codificado por *Mycobacterium tuberculosis*, igualmente se desconocen su estructura cristalina o su posible mecanismo de expulsión.

Teniendo en cuenta la indudable importancia de las bombas de eflujo en la resistencia bacteriana y la supervivencia intracelular en el macrófago, muchos estudios se han centrado en evaluar el uso de inhibidores de las bombas de eflujo, en conjunto de los fármacos como estrategia para combatir su resistencia, algunos ejemplos de dichos inhibidores son la reserpina, verapamilo, 2,4-dinitrofenol (DNP) y derivados del pirrol los cuales aumentan la susceptibilidad a la norfloxacin, RIF e INH al inhibir las bombas de expulsión (Rv1258c y MmpL3), utilizarlos en conjunto con los fármacos ayudará cuando menos en teoría a acortar y mejorar los tratamientos contra la tuberculosis. (Nasiri et al, 2017)

En el siguiente esquema (figura 22) se muestra el resumen de los mecanismos de resistencia intrínsecos en *Mycobacterium tuberculosis*.

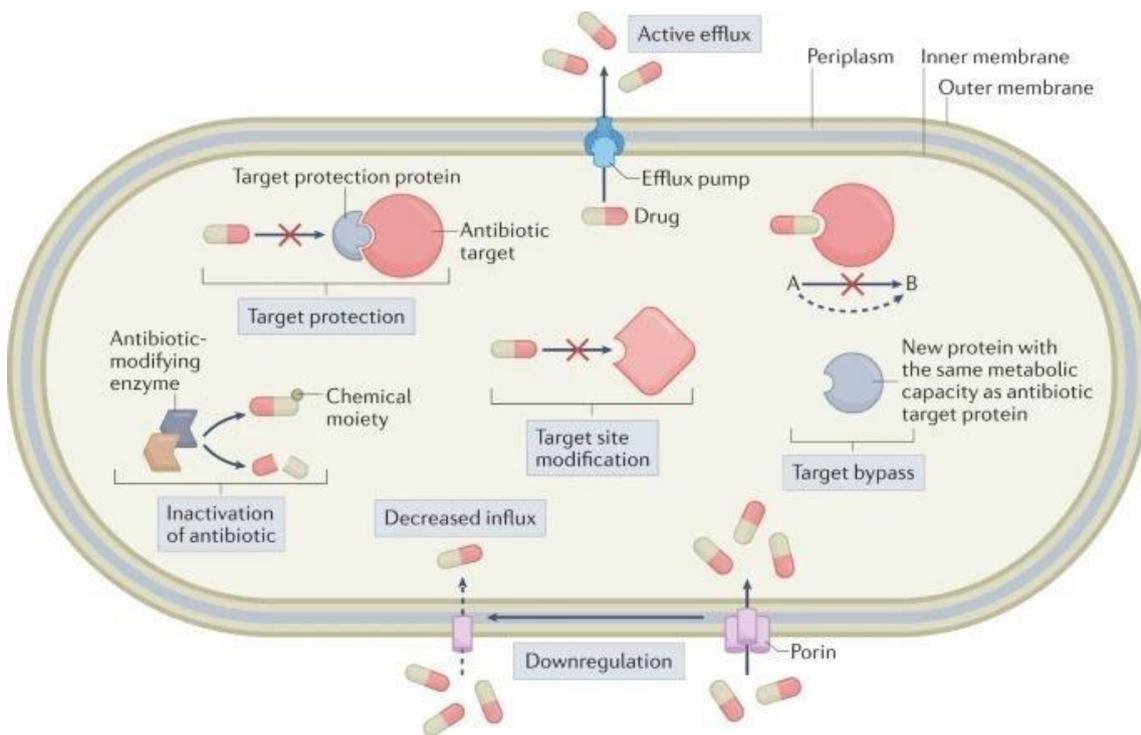


Figura 22. Esquema resumen de los mecanismos de resistencia intrínsecos. (Tomado de Singh et al, 2019)

5.2 Mecanismos adquiridos.

Podemos definir como mecanismo adquirido todo aquel que debido a mutaciones recientemente identificadas o bien transferencia horizontal de genes. Curiosamente en *Mycobacterium tuberculosis* no se ha encontrado transferencia horizontal de genes mediante plásmidos, la mayoría de los mecanismos de resistencia adquiridos, que son clínicamente relevantes están asociados a mutaciones cromosómicas generadas bajo la presión selectiva del uso de los antibióticos (Smith et al, 2013). Estudios realizados por Kohanski et al, en 2010 y 2007 sugieren la causa de aparición de dichas mutaciones es debido a las especies reactivas de oxígeno, sin importar el mecanismo del antibiótico. Esto se puede explicar con el ejemplo de la isoniazida y la etionamida las cuales requiere

activación mediante enzimas redox en el citoplasma de las micobacterias para volverse inhibitorias, dicho proceso termina en la producción de especies reactivas que ejercen la actividad antituberculosa, pero cuando miembros de la cepa sobreviven, por una parte se vuelve resistentes a dichos fármacos y por otra las especies reactivas mejoran la mutabilidad del DNA consiguiendo así resistencia adicional a fármacos (Ito et al, 1992; Wang et al, 1998).

En general resulta difícil clasificar a estos mecanismos de resistencia, debido a que en su mayoría dependen del fármaco, sin embargo, según la clasificación usada por Gygli et al, 2017 el cual los divide en 3 clases principales; 1) Alteración de la diana farmacológica 2) Derogación de la activación del profármaco y 3) Sobreexpresión de la diana farmacológica.

5.2.1 Alteración de la diana farmacológica.

El mecanismo más frecuente identificado es la modificación de la diana farmacológica. Las interacciones entre el fármaco y su objetivo son muy específicas, por tanto, los cambios en los sitios de interacción pueden reducir o eliminar por completo la unión de los fármacos. (Figura 22) (Gygli et al., 2017). Entre los mecanismos que engloban a esta clasificación encontramos:

A) La resistencia a la rifampicina.

La rifampicina es un antituberculoso, el cual se une a la RNA polimerasa, inhibiéndola y causando así la muerte del bacilo, sin embargo, en la sección del genoma de *M. tuberculosis* que corresponde a la codificación de dicha polimerasa, particularmente en el gen *rpoB* (el cual codifica a la subunidad B de la RNA polimerasa), se presentan la mayoría de las mutaciones asociadas a resistencia. (Campbell et al., 2001)

B) Resistencia a aminoglucósidos.

El mecanismo más común de resistencia se ha asociado fuerte y principalmente a la mutación A1401G del gen *rrs* que codifica para el RNAr 16s (Jugheli et al, 2009). Debido a que el gen *rrs* presenta una única copia en micobacterias, las mutaciones se asocian a un alto nivel de resistencia. (Nasiri et al, 2017)

C) Resistencia a fluoroquinolonas.

Los principales mecanismos de resistencia a las fluoroquinolonas están asociadas a mutaciones en los genes *GyrA* y *GyrB*. Las mutaciones más comúnmente aisladas implican sustituciones en los codones 90 (A90V) y 94 (D94G, D94A, D94Y, D94N y D94H) (Sirgel et al, 2012). Una alta resistencia se suele asociar con al menos dos mutaciones en *GyrA* o *GyrA* y *GyrB*, cabe destacar las mutaciones dobles de *GyrA* expresan el nivel más alto de resistencia. (Nasiri et al., 2017)

D) Resistencia a Etambutol.

El etambutol es un fármaco ampliamente usado para el tratamiento de la tuberculosis multirresistente, este tiene varios mecanismos incluyendo la inhibición de la pared celular. El mecanismo principal de resistencia está mediado por la mutación de los genes *embB* y *ubiA*, codifican arabinosiltransferasas. (Lingaraju, 2016)

E) Resistencia a nuevos fármacos.

Increíblemente y por desgracia también se han reportado mecanismos de resistencia a nuevos antituberculosos, un ejemplo es la bedaquilina, el fármaco actúa inhibiendo la ATP sintasa codificada por el gen *atpE* (Andries et al, 2005). El mecanismo de resistencia está mediado por mutaciones del gen *atpE*, siendo las posiciones más comúnmente mutadas la 63 (A63P) y la 66 (I66M). (Petrella et al., 2006)

5.2.2 Derogación de la activación del profármaco.

Cierta cantidad de fármacos resultan ser profármacos, que necesitan ser metabolizados a su forma activa, por tanto, la anulación o inactivación del metabolismo de estos conduce

a la resistencia. Esto ocurre principalmente por mutaciones en las enzimas que activan al fármaco, dichas mutaciones pueden disminuir la actividad de forma parcial o completa ya sea modificando la cantidad de enzima expresada, la afinidad de esta por el profármaco o inhibiendo la expresión totalmente. (Figura 17) (Gygli et al., 2017) Se han identificado dos mecanismos principales de resistencia de este tipo:

A) Resistencia a pirazinamida.

La pirazinamida (PZA) es un medicamento clave, en el tratamiento de corta duración de la tuberculosis, dicho fármaco es de hecho un profármaco y la conversión a su forma activa (ácido pirazinoico), es catalizada por la enzima pirazinamidasa, codificada por el gen *pncA*, la pérdida de la actividad de esta enzima tiene como resultado la aparición de resistencia (Scorpio, 1997). En un estudio realizado por Gu et al en 2016 se trataron de identificar a las principales mutaciones asociadas a la resistencia de PZA, encontrando que el 85.4% de las cepas resistentes se encontraban mutaciones puntuales únicas, no sinónimas, además de deleciones e inserciones, de tal forma que el cambio del marco de lectura afecta la estructura de PncA. En otro estudio realizado por Bamaga et al en 2002, en cambio se encontró la mutación más frecuente, resultaba ser un cambio del nucleótido 381 del codón 127, de tal forma que se veía afectada la función de la pirazinamidasa, causando además una resistencia independiente de la concentración de PZA administrada.

B) Resistencia a isoniazida.

La isoniazida es otro profármaco requiere activación, en este caso se requiere de una enzima catalasa/peroxidasa. La mayoría de las mutaciones asociadas a resistencia se encuentran en los genes, inhA, ahpC, kasA, ndh y katG, siendo este último, el que presenta una mayor prevalencia en las muestras clínicas. (Pym et al, 2002). De hecho, el producto de katG resulta además una enzima constitutiva de vital importancia para la supervivencia dentro de los macrófagos, esto debido a que participa en la detoxificación del fagolisosoma. (Pym et al, 2002). La mutación más aislada resulta ser S315T que retiene la mayoría de las funciones catalasa/peroxidasa, confiere un alto nivel de resistencia e increíblemente al mismo tiempo presenta un nivel de actividad significativo que permite la supervivencia dentro del macrófago. (Pym et al, 2002) Una posible explicación de por qué se encuentran una mayor cantidad de mutaciones en katG sería, porqué hecho este gen se encuentra en una zona altamente inestable del genoma. (Bergval et al, 2009)

5.2.3 Sobreexpresión de dianas farmacológicas.

El último mecanismo adquirido de gran relevancia resulta ser la sobreexpresión de objetivo, en este caso grandes cantidades del objetivo pueden superar la inhibición del fármaco en cuestión (figura 17). Este caso si bien podría ser superado simplemente aumentando la dosis, hay que tener en cuenta el hecho de que usualmente los tratamientos son largos y con efectos secundarios considerables. Un ejemplo de este tipo son las mutaciones en el promotor de inhA, las cuales dan como resultado una sobre expresión de inhA, lo que confiere un bajo nivel de resistencia. (Nasiri et al., 2017). Otro ejemplo

es el objetivo secundario del ácido pirazinoico, la proteína *RpsA*, la sobreexpresión de *RpsA* da como resultado un mayor nivel de resistencia a la pirazinamida (Shi et al, 2011)

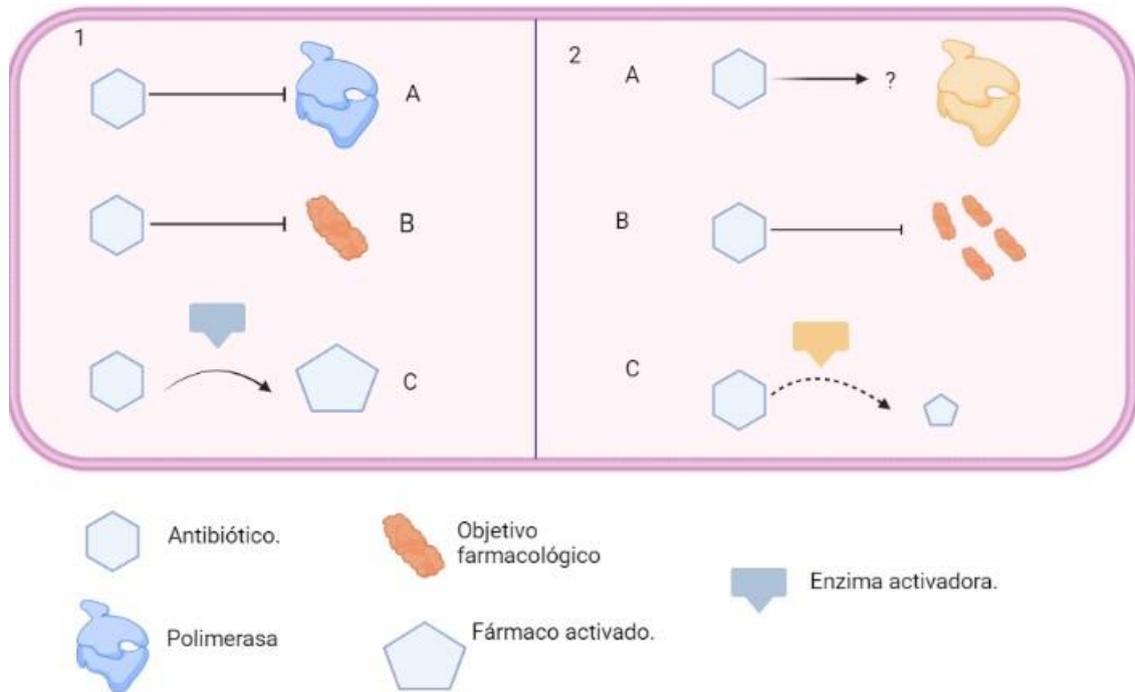


Figura 23. Mecanismos de resistencia adquiridos. 1) Muestra la reacción normal del antibiótico. 2) Mecanismos de resistencia. A) Las modificaciones estructurales de la enzima evitan que el antibiótico actúe. B) La sobreexpresión del objetivo farmacológico impide la inhibición por parte del antibiótico C) Las modificaciones en la enzima activadora inhiben la transformación del profármaco.

6. Nuevos tratamientos.

Como se ha mencionado anteriormente, es necesario el desarrollo de nuevos regímenes de tratamiento y fármacos para reducir la toxicidad a largo plazo de los tratamientos actuales, además de conseguir una mayor efectividad en un menor tiempo, y combatir la resistencia bacteriana.

En el informe anual de la tuberculosis del año 2020 se menciona, el tratamiento exitoso de la tuberculosis sensible a medicamentos ocurre en el 85% de los casos, mientras la eficiencia contra los diversos grados de resistencia a los medicamentos es menor al 57%, esto debido a dificultades multifactoriales, entre las que se encuentran: 1) el incumplimiento de la terapia médica por parte de los pacientes debido a la dificultad del tratamiento, 2) las interacciones con otros medicamentos (principalmente para los pacientes infectados con VIH) y otras circunstancias. Es por esto que la OMS ha optado principalmente por los regímenes orales siempre que sea posible, ya que en primer lugar tienen una mejor relación costo-efectividad y en segundo lugar permiten un mayor apego al tratamiento por parte del paciente. (OMS, 2020)

En la última década únicamente han sido aprobados tres fármacos de administración oral para el tratamiento de la tuberculosis; bedaquilina, delamanid y pretomanid (Tiberi et al., 2021) los dos con más estudios disponibles bedaquilina y delamanid, además de los nuevos tratamientos en desarrollo.

6.1 Bedaquilina

La bedaquilina es una diarilquinolona tiene una fuerte actividad bactericida, actuando principalmente en la inhibición de la ATP sintasa micobacteriana mediante una estrategia particular, sin embargo para comprender dicho mecanismo es necesario entender cómo funciona la ATP sintasa.

Durante la fosforilación oxidativa, la cadena de transporte de electrones a través de algunos de sus complejos realiza un bombeo de protones desde el citoplasma al periplasma, esto genera un gradiente de pH transmembrana y contribuye al potencial de membrana (fuerza protón-motriz), dicha fuerza impulsa la rotación del anillo C de la F-ATP sintasa, la cual es transmitida por las subunidades γ y ϵ al cabezal $\alpha_3 \beta_3$ donde impulsa la síntesis de ATP (Sarathy et al, 2019).

Ahora bien, la Bedaquilina actúa esencialmente a tres niveles

- 1) Como antiportador H^+/K^+ lo cual altera el gradiente de pH transmembranal, evitando así la rotación del anillo C (figura 24-1).
- 2) Inhibiendo la rotación del anillo C directamente (figura 24-2).
- 3) Inhibiendo a la subunidad ϵ , de tal forma que la señal de rotación no es extendida al cabezal $\alpha_3 \beta_3$ (24-3) (Sarathy et al, 2019).

Todo esto se manifiesta mediante el agotamiento interno del ATP y desequilibrio homeostático del pH lo que causa un mayor efecto bacteriostático que la rifampicina. (Andries et al, 2005)

Por su parte *Mycobacterium tuberculosis*, presenta una “resistencia” inicial al efecto esterilizante de la Bedaquilina, esto debido a la activación de genes de latencia, los cuales están asociados con estados metabólicos de menor gasto de ATP, de modo que permite un retraso inicial y una supervivencia ligeramente prolongada. (Koul et al., 2014)

Diversos estudios farmacocinéticos han demostrado la bedaquilina tiene una buena absorción oral, alcanzando su concentración máxima plasmática tras 5-6 horas, por su parte presenta una vida media de más de 24 horas, lo cual permite la administración intermitente de este fármaco, dejando cuando menos 48 horas entre cada administración (Pecora et al., 2021; Asociación española de Pediatría, 2020).

Entre los efectos adversos reportados en la literatura presenta; dolor de cabeza, artralgia, además del posible alargamiento del fragmento QT del electrocardiograma. Finalmente, se sabe sufre metabolismo a través del CYP3A4, por tanto, no debe ser administrado en conjunto con fármacos que tengan esta misma ruta metabólica (por ejemplo, la rifampicina) ya que podrían disminuir la concentración plasmática de la bedaquilina, disminuyendo así su eficiencia. (Pecora et al., 2021)

En el estudio de fase 2 realizado por Pym et al, realizado en 233 pacientes (de los cuales el 63.5% tenían TB-MDR, 18,9% con TB pre-XRD, y 16.3% con TB-XDR) se encontró una tasa de éxito al tratamiento más alta en pacientes TB-MDR (73.1%). (Pym et al, 2016).

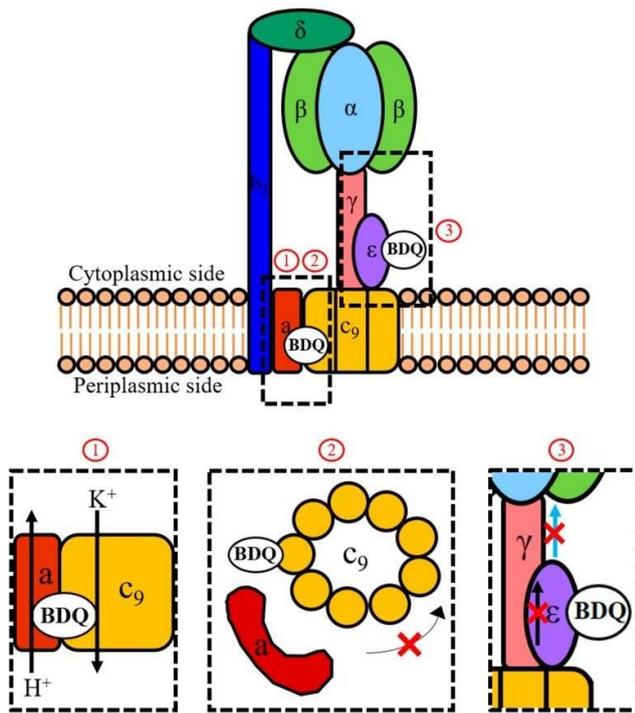


Figura 24. Mecanismo de acción de la Bedaquilina. (Tomado de Sarathy et al, 2019)

6.2 Delamanida.

La Delamanida, es un profármaco de la familia de los nitroimidazoles, requiere activación por la enzima micobacteriana F420 (Lewis y Sloan., 2015), una vez en su forma activa (metabolito desconocido al momento), inhibe la síntesis de los ácidos micólicos, específicamente los ácidos metoxi-micólicos y ceto-micólicos, lo cual conduce al agotamiento de los componentes de la pared celular y la destrucción de las micobacterias (figura 12) (Matsumoto et al, 2006). Por otra parte, se cree los intermediarios metabólicos, también participan mediante distintos mecanismos incluyendo la interrupción de la respiración celular (Lewis y Sloan., 2015)

Los estudios farmacocinéticos de la delamanida han demostrado, alcanza su máxima concentración plasmática alrededor de 4 a 8 horas después de la administración oral (la cual debe ser con alimentos), teniendo una vida media de 30 a 38 horas. (Pecora et al., 2021; Asociación Española de Pediatría, 2020). En cuanto a los efectos adversos, en un estudio con 480 personas internacionales se encontró los efectos adversos más comunes tras una exposición de 14 días fueron: náuseas, vómitos, dolor de cabeza y fragmento QT alargado en el electrocardiograma. (Gler, 2012). Finalmente, el metabolismo de este fármaco es principalmente por la albúmina en lugar del CYP450, esto disminuye las interacciones farmacológicas considerablemente. (Pecora et al., 2021)

La Delamanida, ha demostrado una considerable actividad bactericida tanto in vitro como en modelos animales (ratas y conejillos de indias). (Chen, 2017). En ensayos preclínicos realizados por Diacon et al en 2011, en donde participaron 48 pacientes con baciloscopia positiva, utilizando un tratamiento de monoterapia con Delamanida, se encontró una disminución considerable de las UFC desde los primeros 14 días. (Diacon et al, 2011)

6.3 Nuevos regímenes, fármacos y tratamientos en desarrollo.

En la actualidad, hay 16 nuevos medicamentos en estudios clínicos de fase I o Fase II, y otros 22 en etapa de descubrimiento o estudios preclínicos. De los 16 medicamentos en fase clínica, 11 son de nuevos grupos químicos, de los cinco restantes, dos son diariquinolonas similares a bedaquilina y tres son oxazolidinonas similares a cicloserina. (Migliori et al, 2020). Un ejemplo puntual y muy prometedor entre estos fármacos es

telaceb, el cual induce la muerte micobacteriana al inhibir el complejo citocromo bc1, responsable de la síntesis de ATP, es importante mencionar; los estudios indican que el efecto es independiente del estado de replicación del bacilo. (Migliori, et al, 2020) En un ensayo de fase 2 realizado por de Jager et al en 2020 con 61 pacientes recientemente diagnosticados con tuberculosis pulmonar, se utilizaron dosis crecientes de telacebec a 100, 200 o 300 mg/día, encontrándose una relación entre el aumento de la dosis, y la reducción de la carga micobacteriana viable en el esputo. (de Jager et al, 2020).

En otro enfoque, una estrategia usualmente utilizada es la reutilización de fármacos cuyo objetivo inicial era otro, tal es el caso de clofazimina, un antileproso que está siendo considerado para el tratamiento de la tuberculosis.

La clofazimina ha demostrado una actividad bactericida significativa en el tratamiento de la tuberculosis MDR en ratones. En un estudio realizado por Grosset et al en 2013, se encontró los ratones tratados con clofazimina, tuvieron un cultivo de esputo negativo pasados 5 meses. (Grosset et al, 2013). En otro estudio realizado por Ammerman et al en 2018, se encontró que en combinación con un régimen de primera línea (rifampicina, isoniazida y pirazinamida) presentaba efectos bacteriostáticos significativos, caso contrario al que ocurre en una monoterapia de clofazimina en donde se encontraba una actividad antituberculosa limitada. (Ammerman et al, 2018). En otro estudio (nuevamente en ratones) siguiendo el mismo régimen de primera línea, pero reemplazando la rifamicina por rifapentina se encontró una potenciación del efecto bacteriostático y esterilizante, lo cual podría indicar que la combinación de rifapentina y clofazimina serían capaces de acortar la duración del tratamiento. (Saini et al., 2019) también ha permitido una reducción significativa de la duración del tratamiento en pacientes con TB-MDR en

diversos ensayos clínicos, sin embargo, es difícil calcular dosis óptima como régimen de primera línea debido a que uno de los principales efectos secundarios es la decoloración de la piel (Silva et al., 2020). Otros ejemplos de la reutilización de fármacos son los estudios realizados con linezolid en sustitución de etambutol, gatifloxacina y moxifloxacino. (Silva et al., 2020)

Por otra parte, en cuanto a los regímenes de tratamiento se han encontrado posibles modificaciones, que resultan provechosas, se hace énfasis en las siguientes:

- En un estudio realizado por Dorman et al en 2021, donde se evaluaron a 2516 pacientes aleatorizados, se encontró que un régimen de 4 meses de rifapentina y moxifloxacina tuvo una eficiencia igual al régimen estándar de 6 meses. (Dorman et al., 2021)
- El ensayo TRUNCATE-TB, el cual se encuentra en fase de reclutamiento, busca evaluar la posibilidad de utilizar un régimen de 5 medicamentos orales; rifampicina (35 mg/kg), isoniazida, pirazinamida, etambutol, linezolid por 8 semanas con la posibilidad de extenderlo a 12 semanas si los síntomas continúan y el frotis de esputo es positivo. (Clinical Trials Gov, 2019)
- El estudio RIFASHORT se encuentra evaluando la relación riesgo-beneficio de las dosis más altas de rifampicina en tuberculosis sensible a medicamentos, esto basado en los estudios de Velásquez et al en 2018, donde se encontró que utilizar una dosis mayor a la sugerida por la OMS resultaba en la esterilización de esputo

más rápida sin efectos secundarios mayores. (Clinical Trials Gov, 2022; Velásquez et al., 2018)

Otra nueva opción por considerar es la terapia dirigida al huésped, debido a que se sabe que tanto los estados inmunodeficientes como hiper-inflamatorios tienen una participación clave en la morbilidad y mortalidad de la tuberculosis, por tanto, el uso de reguladores del sistema inmune para tener una respuesta equilibrada resulta una excelente opción para el tratamiento de la enfermedad. (Palucci y Delogu., 2018)

En un futuro, se espera poder brindar tratamientos personalizados a cada paciente, esto debido a las diferencias de susceptibilidad y respuesta a los medicamentos única de cada individuo, para esto el estudio PredictTB, busca determinar biomarcadores y aspectos radiográficos que ayuden a predecir el nivel de respuesta y la probabilidad de recaída, con esto se podría planificar una combinación de fármacos y una duración de tratamiento específica para cada paciente. (Clinical Trials Gov, 2022)

Conclusiones.

En la presente tesis de revisión, se ha recopilado una actualización sobre los mecanismos de resistencia a antibióticos que presenta *Mycobacterium tuberculosis*, ya sea intrínsecos como son; la pared celular, la degradación enzimática de antibióticos o el uso del bombas de eflujo, como también los mecanismos adquiridos (alteración de la diana farmacológica, derogación de la activación del profármaco y sobreexpresión de dianas farmacológicas), describiéndose el tipo de resistencia que dan y hacía que fármacos. Por otra parte también se ha recopilado información sobre el mecanismo de acción, forma de administración y dosis, así como la farmacocinética y efectos adversos de los diversos fármacos utilizados contra *Mycobacterium tuberculosis* ya sea con un uso de primera o segunda línea.

Finalmente también se ha reunido información sobre el futuro de los tratamientos de la tuberculosis, ya sea los nuevos fármacos aprobados para uso contra la tuberculosis, como los estudios clínicos sobre otros fármacos, modificaciones del tratamiento empírico o bien nuevas propuestas de tratamiento con un distinto enfoque como lo es terapia dirigida al huésped.

Referencias.

1. Abate, G., & Hoffner, S. E. (1997). Synergistic antimycobacterial activity between ethambutol and the beta-lactam drug cefepime. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 28(3), 119-122.
2. Adigun R, Singh R. Tuberculosis. [Updated 2022 Jan 5]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441916/>
3. Alcaide, F., Pfyffer, G. E., & Telenti, A. (1997). Role of embB in natural and acquired resistance to ethambutol in mycobacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 41(10), 2270–2273. <https://doi.org/10.1128/AAC.41.10.2270>
4. Aldred, K. J., Kerns, R. J., & Osheroff, N. (2014). Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry*, 53(10), 1565–1574. <https://doi.org/10.1021/bi5000564>
5. Al-Saeedi, M., & 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>
6. Ammerman, N. C., Swanson, R. V., Bautista, E. M., Almeida, D. V., Saini, V., Omansen, T. F., Guo, H., Chang, Y. S., Li, S. Y., Tapley, A., Tasneen, R., Tyagi, S., Betoudji, F., Moodley, C., Ngcobo, B., Pillay, L., Bester, L. A., Singh, S. D., Chaisson, R. E., Nuermberger, E., ... Grosset, J. H. (2018). Impact of Clofazimine Dosing on Treatment Shortening of the First-Line Regimen in a Mouse Model of Tuberculosis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(7), e00636-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.00636-18>

7. Andini, N., & Nash, K. A. (2006). Intrinsic macrolide resistance of the *Mycobacterium tuberculosis* complex is inducible. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50(7), 2560–2562. <https://doi.org/10.1128/AAC.00264-06>
8. Andries, K., Verhasselt, P., Guillemont, J., Göhlmann, H. W., Neefs, J. M., Winkler, H., Van Gestel, J., Timmerman, P., Zhu, M., Lee, E., Williams, P., de Chaffoy, D., Huitric, E., Hoffner, S., Cambau, E., Truffot-Pernot, C., Lounis, N., & Jarlier, V. (2005). A diarylquinoline drug active on the ATP synthase of *Mycobacterium tuberculosis*. *Science (New York, N.Y.)*, 307(5707), 223–227. <https://doi.org/10.1126/science.1106753>
9. Andriole V. T. (2005). The quinolones: past, present, and future. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 41 Suppl 2, S113–S119. <https://doi.org/10.1086/428051>
10. Asociación Española de Pediatría (2020) Bedaquilina. Recuperado de: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/bedaquilina>
11. Asociación Española de pediatría (2020). Estreptomicina. Recuperado de: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/estreptomicina>
12. Asociación Española de Pediatría (2021). Pirazinamida. Recuperado de: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/pirazinamida>
13. Asociación Española de Pediatría. (2020) Rifampicina. Recuperado de: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/rifampicina>
14. Asociación Española de Pediatría. (2020). Delamanida. Recuperado de: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/delamanida>

15. Asociación Española de Pediatría. (2021) Ácido paraaminosalicílico. Recuperado de: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/acido-paraaminosalicilico-pas>
16. Ayles, H., Muyoyeta, M., Du Toit, E., Schaap, A., Floyd, S., Simwinga, M., Shanaube, K., Chishinga, N., Bond, V., Dunbar, R., De Haas, P., James, A., Gey van Pittius, N. C., Claassens, M., Fielding, K., Fenty, J., Sismanidis, C., Hayes, R. J., Beyers, N., Godfrey-Faussett, P., ... ZAMSTAR team (2013). Effect of household and community interventions on the burden of tuberculosis in southern Africa: the ZAMSTAR community-randomised trial. *Lancet* (London, England), 382(9899), 1183–1194. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61131-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61131-9)
17. Badrinath M, John S. Isoniazid Toxicity. [2021]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531488/>
18. Bamaga, M., Wright, D. J., & Zhang, H. (2002). Selection of in vitro mutants of pyrazinamide-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *International journal of antimicrobial agents*, 20(4), 275–281. [https://doi.org/10.1016/s0924-8579\(02\)00182-6](https://doi.org/10.1016/s0924-8579(02)00182-6)
19. Barberis, I., Bragazzi, N. L., Galluzzo, L., & Martini, M. (2017). The history of tuberculosis: from the first historical records to the isolation of Koch's bacillus. *Journal of preventive medicine and hygiene*, 58(1), E9–E12.
20. Bartlett, J. G., Gilbert, D. N., & Spellberg, B. (2013). Seven ways to preserve the miracle of antibiotics. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 56(10), 1445–1450. <https://doi.org/10.1093/cid/cit070>

21. Bergval, I. L., Schuitema, A. R., Klatser, P. R., & Anthony, R. M. (2009). Resistant mutants of *Mycobacterium tuberculosis* selected in vitro do not reflect the in vivo mechanism of isoniazid resistance. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 64(3), 515–523. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp237>
22. Bosne-David, S., Barros, V., Verde, S. C., Portugal, C., & David, H. L. (2000). Intrinsic resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to clarithromycin is effectively reversed by subinhibitory concentrations of cell wall inhibitors. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46(3), 391-395.
23. Braibant, M., Gilot, P., & Content, J. (2000). The ATP binding cassette (ABC) transport systems of *Mycobacterium tuberculosis*. *FEMS microbiology reviews*, 24(4), 449-467.
24. Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., Mietzner, T. A., Blengio Pinto, J. R., & Pérez Tamayo, A. M. (2014). *Microbiología médica: Jawetz, Melnick y Adelberg* (26a. edición). McGraw-Hill Interamericana. pp 313.
25. Buriánková, K., Doucet-Populaire, F., Dorson, O., Gondran, A., Ghnassia, J. C., Weiser, J., & Pernodet, J. L. (2004). Molecular basis of intrinsic macrolide resistance in the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(1), 143–150. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.1.143-150.2004>
26. Cambier C. J., Falkow S., Ramakrishnan L. (2014). Host evasion and exploitation schemes of *Mycobacterium tuberculosis*. *Cell* 159, 1497–1509. [10.1016/j.cell.2014.11.024](https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.11.024)
27. Campbell, E. A., Korzheva, N., Mustaev, A., Murakami, K., Nair, S., Goldfarb, A., & Darst, S. A. (2001). Structural mechanism for rifampicin inhibition of

- bacterial rna polymerase. *Cell*, 104(6), 901–912. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00286-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00286-0)
28. Campbell, E. A., Korzheva, N., Mustaev, A., Murakami, K., Nair, S., Goldfarb, A., & Darst, S. A. (2001). Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial rna polymerase. *Cell*, 104(6), 901–912. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00286-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00286-0)
29. CENAPRECE (2017) Casos nuevos de Tuberculosis Pulmonar Estados Unidos Mexicanos 1990-2017. Recuperado de <http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/micobacteriosis>
30. CENAPRECE. (2017). “Casos nuevos de Tuberculosis Todas Formas Estados Unidos Mexicanos 1990-2017”. Recuperado de <http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/micobacteriosis>
31. Centers for Disease Control and Prevention, Office of Infectious Disease Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. Apr, 2013. Available at: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013>.
32. Chai, Q., Zhang, Y., & Liu, C. H. (2018). Mycobacterium tuberculosis: An Adaptable Pathogen Associated With Multiple Human Diseases. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 8, 158. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00158>
33. Chambers, H. F., Moreau, D., Yajko, D., Miick, C., Wagner, C., Hackbarth, C., Kocagöz, S., Rosenberg, E., Hadley, W. K., & Nikaido, H. (1995). ¿Can penicillins and other beta-lactam antibiotics be used to treat tuberculosis? *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 39(12), 2620–2624. <https://doi.org/10.1128/AAC.39.12.2620>

34. Chauhan, A., Kumar, M., Kumar, A., & Kanchan, K. (2021). Comprehensive review on mechanism of action, resistance and evolution of antimycobacterial drugs. *Life Sciences*, 274
<https://doi.org/pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.lfs.2021.119301>
35. Chen, W., Biswas, T., Porter, V. R., Tsodikov, O. V., & Garneau-Tsodikova, S. (2011). Unusual regioversatility of acetyltransferase Eis, a cause of drug resistance in XDR-TB. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(24), 9804–9808.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1105379108>
36. Chen, X., Hashizume, H., Tomishige, T., Nakamura, I., Matsuba, M., Fujiwara, M., Kitamoto, R., Hanaki, E., Ohba, Y., & Matsumoto, M. (2017). Delamanid Kills Dormant Mycobacteria In Vitro and in a Guinea Pig Model of Tuberculosis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(6), e02402-16.
<https://doi.org/10.1128/AAC.02402-16>
37. Chiaradia, L., Lefebvre, C., Parra, J., Marcoux, J., Burlet-Schiltz, O., Etienne, G., Tropis, M., & Daffé, M. (2017). Dissecting the mycobacterial cell envelope and defining the composition of the native mycomembrane. *Scientific reports*, 7(1), 12807. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12718-4>
38. ClinicalTrials.Gov. (última actualización en 2019) Two-month regimens using novel combinations to augment treatment effectiveness for drug-sensitive tuberculosis (TRUNCATE-TB). <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT03474198>
39. ClinicalTrials.Gov. (última actualización en 2022) A randomised trial to evaluate toxicity and efficacy of 1200 mg and 1800mg of rifampicin for pulmonary tuberculosis (RIFASHORT). <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02581527>

40. ClinicalTrials.Gov. (última actualización en 2022) Using biomarkers to predict TB treatment duration. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02821832>
41. Colangeli, R., Helb, D., Vilchèze, C., Hazbón, M. H., Lee, C. G., Safi, H., Sayers, B., Sardone, I., Jones, M. B., Fleischmann, R. D., Peterson, S. N., Jacobs, W. R., Jr, & Alland, D. (2007). Transcriptional regulation of multi-drug tolerance and antibiotic-induced responses by the histone-like protein Lsr2 in *M. tuberculosis*. *PLoS pathogens*, 3(6), e87. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0030087>
42. Coll, P. (2009). Fármacos con actividad frente a *Mycobacterium tuberculosis*. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 27(8), 474-480.
43. Cudahy, P., & Shenoi, S. V. (2016). Diagnostics for pulmonary tuberculosis. *Postgraduate medical journal*, 92(1086), 187–193. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2015-133278>
44. Daffé M., Quémard A., Marrakchi H. (2017) Mycolic Acids: From Chemistry to Biology. In: Geiger O. (eds) Biogenesis of Fatty Acids, Lipids and Membranes. Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-43676-0_18-1
45. Daffé, M., & Draper, P. (1998). The envelope layers of mycobacteria with reference to their pathogenicity. *Advances in microbial physiology*, 39, 131–203. [https://doi.org/10.1016/s0065-2911\(08\)60016-8](https://doi.org/10.1016/s0065-2911(08)60016-8)
46. Daffé, M., & Etienne, G. (1999). The capsule of *Mycobacterium tuberculosis* and its implications for pathogenicity. *Tubercle and lung disease: the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 79(3), 153–169. <https://doi.org/10.1054/tuld.1998.0200>

47. Danilchanka, O., Mailaender, C., & Niederweis, M. (2008). Identification of a novel multidrug efflux pump of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52(7), 2503-2511.
48. Danilchanka, O., Pavlenok, M., & Niederweis, M. (2008). Role of porins for uptake of antibiotics by *Mycobacterium smegmatis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52(9), 3127–3134. <https://doi.org/10.1128/AAC.00239-08>
49. Darby, E. M., Trampari, E., Siasat, P., Gaya, M. S., Alav, I., Webber, M. A., & Blair, J. M. A. (2022). Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *NATURE REVIEWS MICROBIOLOGY*. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1038/s41579-022-00820-y>
50. Darby, E. M., Trampari, E., Siasat, P., Gaya, M. S., Alav, I., Webber, M. A., & Blair, J. M. A. (2022). Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *NATURE REVIEWS MICROBIOLOGY*. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1038/s41579-022-00820-y>
51. de Jager, V. R., Dawson, R., van Niekerk, C., Hutchings, J., Kim, J., Vanker, N., van der Merwe, L., Choi, J., Nam, K., & Diacon, A. H. (2020). Telacebec (Q203), a New Antituberculosis Agent. *The New England journal of medicine*, 382(13), 1280–1281. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1913327>
52. Delogu, G., Sali, M., & Fadda, G. (2013). The biology of mycobacterium tuberculosis infection. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*, 5(1), e2013070. <https://doi.org/10.4084/MJHID.2013.070>
53. Dey, A., Verma, A. K., & Chatterji, D. (2010). Role of an RNA polymerase interacting protein, MsRbpA, from *Mycobacterium smegmatis* in phenotypic tolerance to rifampicin. *Microbiology (Reading, England)*, 156(Pt 3), 873–883. <https://doi.org/10.1099/mic.0.033670-0>

54. Diacon, A. H., Dawson, R., Hanekom, M., Narunsky, K., Venter, A., Hittel, N., Geiter, L. J., Wells, C. D., Paccaly, A. J., & Donald, P. R. (2011). Early bactericidal activity of delamanid (OPC-67683) in smear-positive pulmonary tuberculosis patients. *The international journal of tuberculosis and lung disease: the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 15(7), 949–954. <https://doi.org/10.5588/ijtld.10.0616>
55. Donald, P. R., Maher, D., Maritz, J. S., & Qazi, S. (2006). Ethambutol dosage for the treatment of children: literature review and recommendations. *The international journal of tuberculosis and lung disease: the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 10(12), 1318–1330
56. Dorman, S. E., Nahid, P., Kurbatova, E. V., Phillips, P., Bryant, K., Dooley, K. E., Engle, M., Goldberg, S. V., Phan, H., Hakim, J., Johnson, J. L., Lourens, M., Martinson, N. A., Muzanyi, G., Narunsky, K., Nerette, S., Nguyen, N. V., Pham, T. H., Pierre, S., Purfield, A. E., ... Tuberculosis Trials Consortium (2021). Four-Month Rifapentine Regimens with or without Moxifloxacin for Tuberculosis. *The New England journal of medicine*, 384(18), 1705–1718. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2033400>
57. Ferber D. (2005). Biochemistry. Protein that mimics DNA helps tuberculosis bacteria resist antibiotics. *Science (New York, N.Y.)*, 308(5727), 1393. <https://doi.org/10.1126/science.308.5727.1393a>
58. Flores, A. R., Parsons, L. M., & Pavelka, M. S. (2005). Genetic analysis of the beta-lactamases of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium smegmatis* and susceptibility to beta-lactam antibiotics. *Microbiology (Reading, England)*, 151(Pt 2), 521–532. <https://doi.org/10.1099/mic.0.27629-0>

59. Food and Drug administration (2007) MYAMBUTOL (ethambutol hcl) tablets.
Recuperado de:
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2008/016320s063lbl.pdf
60. Food and Drug administration (2016) Isoniazid. Recuperado de:
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/008678s028lbl.pdf
61. Food and drug administration. (S.F). Rifampin capsules and injection.
Recuperado de:
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/050420s073,050627s012lbl.pdf
62. Gao, L. Y., Laval, F., Lawson, E. H., Groger, R. K., Woodruff, A., Morisaki, J. H., Cox, J. S., Daffe, M., & Brown, E. J. (2003). Requirement for kasB in Mycobacterium mycolic acid biosynthesis, cell wall impermeability and intracellular survival: implications for therapy. *Molecular microbiology*, 49(6), 1547–1563. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03667.x>
63. Ghon, A. (1923). The primary complex in human tuberculosis and its significance. *American Review of Tuberculosis*, 7(5), 314-317.
64. Gler, M. T., Skripconoka, V., Sanchez-Garavito, E., Xiao, H., Cabrera-Rivero, J. L., Vargas-Vasquez, D. E., Gao, M., Awad, M., Park, S. K., Shim, T. S., Suh, G. Y., Danilovits, M., Ogata, H., Kurve, A., Chang, J., Suzuki, K., Tupasi, T., Koh, W. J., Seaworth, B., Geiter, L. J., ... Wells, C. D. (2012). Delamanid for multidrug-resistant pulmonary tuberculosis. *The New England journal of medicine*, 366(23), 2151–2160. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1112433>

65. Gröschel M. I., Sayes F., Simeone R., Majlessi L., Brosch R. (2016). ESX secretion systems: mycobacterial evolution to counter host immunity. *Nat. Rev. Microbiol.* 14, 677–691. [10.1038/nrmicro.2016.131](https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.131)
66. Gross M. (2013). Antibiotics in crisis. *Current biology: CB*, 23(24), R1063–R1065. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.11.057>
67. Grosset, J. H., Tyagi, S., Almeida, D. V., Converse, P. J., Li, S. Y., Ammerman, N. C., Bishai, W. R., Enarson, D., & Trébucq, A. (2013). Assessment of clofazimine activity in a second-line regimen for tuberculosis in mice. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 188(5), 608–612. <https://doi.org/10.1164/rccm.201304-0753OC>
68. Grosset, J., & Leventis, S. (1983). Adverse effects of rifampin. *Reviews of infectious diseases*, 5 Suppl 3, S440–S450. https://doi.org/10.1093/clinids/5.supplement_3.s440
69. Gu, Y., Yu, X., Jiang, G., Wang, X., Ma, Y., Li, Y., & Huang, H. (2016). Pyrazinamide resistance among multidrug-resistant tuberculosis clinical isolates in a national referral center of China and its correlations with *pncA*, *rpsA*, and *panD* gene mutations. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 84(3), 207–211. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.10.017>
70. Gutierrez, M. C., Brisse, S., Brosch, R., Fabre, M., Omais, B., Marmiesse, M., Supply, P., & Vincent, V. (2005). Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS pathogens*, 1(1), e5. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0010005>
71. 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>
72. He, Y., Lei, J., Pan, X., Huang, X., & Zhao, Y. (2020). The hydrolytic water molecule of Class A β -lactamase relies on the acyl-enzyme intermediate ES* for proper coordination and catalysis. *Scientific reports*, 10(1), 10205.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-66431-w>
73. Hegde, S. S., Vetting, M. W., Roderick, S. L., Mitchenall, L. A., Maxwell, A., Takiff, H. E., & Blanchard, J. S. (2005). A fluoroquinolone resistance protein from *Mycobacterium tuberculosis* that mimics DNA. *Science (New York, N.Y.)*, 308(5727), 1480–1483. <https://doi.org/10.1126/science.1110699>
74. Houghton, J. L., Green, K. D., Pricer, R. E., Mayhoub, A. S., & Garneau-Tsodikova, S. (2013). Unexpected N-acetylation of capreomycin by mycobacterial Eis enzymes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(4), 800–805.
75. Hu, Y., Coates, A. R., & Mitchison, D. A. (2006). Sterilising action of pyrazinamide in models of dormant and rifampicin-tolerant *Mycobacterium tuberculosis*. *The international journal of tuberculosis and lung disease: the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 10(3), 317–322.
76. Huang, Y., Lemieux, M. J., Song, J., Auer, M., & Wang, D. N. (2003). Structure and mechanism of the glycerol-3-phosphate transporter from *Escherichia coli*. *Science*, 301(5633), 616–620.

77. Hugonnet, J. E., & Blanchard, J. S. (2007). Irreversible inhibition of the *Mycobacterium tuberculosis* beta-lactamase by clavulanate. *Biochemistry*, 46(43), 11998–12004. <https://doi.org/10.1021/bi701506h>
78. Hugonnet, J. E., Tremblay, L. W., Boshoff, H. I., Barry, C. E., 3rd, & Blanchard, J. S. (2009). Meropenem-clavulanate is effective against extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Science (New York, N.Y.)*, 323(5918), 1215–1218. <https://doi.org/10.1126/science.1167498>
79. Ito, K., Yamamoto, K., & Kawanishi, S. (1992). Manganese-mediated oxidative damage of cellular and isolated DNA by isoniazid and related hydrazines: non-Fenton-type hydroxyl radical formation. *Biochemistry*, 31(46), 11606–11613. <https://doi.org/10.1021/bi00161a046>.
80. Jarlier, V., & Nikaido, H. (1994). Mycobacterial cell wall: structure and role in natural resistance to antibiotics. *FEMS microbiology letters*, 123(1-2), 11–18. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1994.tb07194.x>
81. Jarlier, V., Gutmann, L., & Nikaido, H. (1991). Interplay of cell wall barrier and beta-lactamase activity determines high resistance to beta-lactam antibiotics in *Mycobacterium chelonae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 35(9), 1937–1939. <https://doi.org/10.1128/AAC.35.9.1937>
82. Johansen, S. K., Maus, C. E., Plikaytis, B. B., & Douthwaite, S. (2006). Capreomycin binds across the ribosomal subunit interface using tlyA-encoded 2'-O-methylations in 16S and 23S rRNAs. *Molecular cell*, 23(2), 173–182. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.05.044>
83. Jugheli, L., Bzekalava, N., de Rijk, P., Fissette, K., Portaels, F., & Rigouts, L. (2009). High level of cross-resistance between kanamycin, amikacin, and

- capreomycin among *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Georgia and a close relation with mutations in the *rrs* gene. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(12), 5064–5068. <https://doi.org/10.1128/AAC.00851-09>
84. Kohanski, M. A., DePristo, M. A., & Collins, J. J. (2010). Sublethal antibiotic treatment leads to multidrug resistance via radical-induced mutagenesis. *Molecular cell*, 37(3), 311–320. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.01.003>
85. Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., Hayete, B., Lawrence, C. A., & Collins, J. J. (2007). A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell*, 130(5), 797–810. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.06.049>
86. Koul, A., Vranckx, L., Dhar, N., Göhlmann, H. W., Özdemir, E., Neefs, J. M., Schulz, M., Lu, P., Mørtz, E., McKinney, J. D., Andries, K., & Bald, D. (2014). Delayed bactericidal response of *Mycobacterium tuberculosis* to bedaquiline involves remodelling of bacterial metabolism. *Nature communications*, 5, 3369. <https://doi.org/10.1038/ncomms4369>
87. Lamichhane, G., Tyagi, S., & Bishai, W. R. (2005). Designer arrays for defined mutant analysis to detect genes essential for survival of *Mycobacterium tuberculosis* in mouse lungs. *Infection and immunity*, 73(4), 2533–2540. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.4.2533-2540.2005>
88. 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>
89. Lee, N, Nguyen, H. Ethambutol. [Updated 2021 Nov 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559050/>

90. Lewis, J. M., & Sloan, D. J. (2015). The role of delamanid in the treatment of drug-resistant tuberculosis. *Therapeutics and clinical risk management*, 11, 779–791. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S71076>
91. Li, Y., Wang, F., Wu, L., Zhu, M., He, G., Chen, X., Sun, F., Liu, Q., Wang, X., & Zhang, W. (2019). Cycloserine for treatment of multidrug-resistant tuberculosis: a retrospective cohort study in China. *Infection and drug resistance*, 12, 721–731. <https://doi.org/10.2147/IDR.S195555>
92. Lingaraju, S., Rigouts, L., Gupta, A., Lee, J., Umubyeyi, A. N., Davidow, A. L., German, S., Cho, E., Lee, J. I., Cho, S. N., Kim, C. T., Alland, D., & Safi, H. (2016). Geographic Differences in the Contribution of *ubiA* Mutations to High-Level Ethambutol Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(7), 4101–4105. <https://doi.org/10.1128/AAC.03002-15>
93. Liu, J., Rosenberg, E. Y., & Nikaido, H. (1995). Fluidity of the lipid domain of cell wall from *Mycobacterium chelonae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(24), 11254–11258. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.24.11254>
94. Lozano, J. A. (2002). Tuberculosis. Patogenia, diagnóstico y tratamiento. *Offarm*, 21(8), 102-10.
95. Luyt, C. E., Bréchet, N., Trouillet, J. L., & Chastre, J. (2014). Antibiotic stewardship in the intensive care unit. *Critical care (London, England)*, 18(5), 480. <https://doi.org/10.1186/s13054-014-0480-6>

96. Machado, D., Lecorche, E., Mougari, F., Cambau, E., & Viveiros, M. (2018). Insights on *Mycobacterium leprae* efflux pumps and their implications in drug resistance and virulence. *Frontiers in microbiology*, 3072
97. MacNeil, A., Glaziou, P., Sismanidis, C., Maloney, S., & Floyd, K. (2019). Global Epidemiology of Tuberculosis and Progress Toward Achieving Global Targets - 2017. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 68(11), 263–266. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6811a3>
98. Madsen, C. T., Jakobsen, L., Buriánková, K., Doucet-Populaire, F., Pernodet, J. L., & Douthwaite, S. (2005). Methyltransferase Erm (37) slips on rRNA to confer atypical resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *The Journal of biological chemistry*, 280(47), 38942–38947. <https://doi.org/10.1074/jbc.M505727200>
99. Malinga, L. A., Stoltz, A., & Van der Walt, M. (2016). Efflux pump mediated second-line tuberculosis drug resistance. *Mycobact Dis*, 6(03), 1-9.
100. Matsumoto, M., Hashizume, H., Tomishige, T., Kawasaki, M., Tsubouchi, H., Sasaki, H., Shimokawa, Y., & Komatsu, M. (2006). OPC-67683, a nitro-dihydro-imidazooxazole derivative with promising action against tuberculosis in vitro and in mice. *PLoS medicine*, 3(11), e466. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030466>
101. Maus, C. E., Plikaytis, B. B., & Shinnick, T. M. (2005). Mutation of tlyA confers capreomycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(2), 571–577. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.2.571-577.2005>
102. Migliori, G. B., Tiberi, S., Zumla, A., Petersen, E., et al. members of the Global Tuberculosis Network (2020). MDR/XDR-TB management of patients

- and contacts: Challenges facing the new decade. The 2020 clinical update by the Global Tuberculosis Network. *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 92S, S15–S25. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.01.042>
103. Montero, C et al. “Intrinsic resistance of *Mycobacterium smegmatis* to fluoroquinolones may be influenced by new pentapeptide protein MfpA.” *Antimicrobial agents and chemotherapy* vol. 45,12 (2001): 3387-92. doi:10.1128/AAC.45.12.3387-3392.2001
104. Nasiri, M. J., Haeili, M., Ghazi, M., Goudarzi, H., Pormohammad, A., Imani Fooladi, A. A., & Feizabadi, M. M. (2017). New Insights in to the Intrinsic and Acquired Drug Resistance Mechanisms in Mycobacteria. *Frontiers in microbiology*, 8, 681. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00681>
105. OMS (2021). Global tuberculosis report, Ginebra. Disponible en: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2021>
106. Organización Mundial de la Salud (2021). La resistencia bacteriana pone en riesgo la salud mundial. recuperado de: <https://www.paho.org/es/noticias/3-3-2021-resistencia-antimicrobiana-pone-riesgo-salud-mundial>
107. Palucci, I., & Delogu, G. (2018). Host Directed Therapies for Tuberculosis: Futures Strategies for an Ancient Disease. *Chemotherapy*, 63(3), 172–180. <https://doi.org/10.1159/000490478>
108. Parekh, M. J., & Schluger, N. W. (2013). Treatment of latent tuberculosis infection. *Therapeutic advances in respiratory disease*, 7(6), 351–356. <https://doi.org/10.1177/1753465813503028>

109. Pecora, F., Dal Canto, G., Veronese, P., & Esposito, S. (2021). Treatment of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis in Children: The Role of Bedaquiline and Delamanid. *Microorganisms*, 9(5), 1074. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051074>
110. Petrella, S., Cambau, E., Chauffour, A., Andries, K., Jarlier, V., & Sougakoff, W. (2006). Genetic basis for natural and acquired resistance to the diarylquinoline R207910 in mycobacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50(8), 2853–2856. <https://doi.org/10.1128/AAC.00244-06>
111. Pooran, A., Pieterse, E., Davids, M., Theron, G., & Dheda, K. (2013). What is the cost of diagnosis and management of drug resistant tuberculosis in South Africa? *PloS one*, 8(1), e54587. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054587>
112. Pym, A. S., Diacon, A. H., Tang, S. J., Conradie, F., Danilovits, M., Chuchottaworn, C., Vasilyeva, I., Andries, K., Bakare, N., De Marez, T., Haxaire-Theeuwes, M., Lounis, N., Meyvisch, P., Van Baelen, B., van Heeswijk, R. P., Dannemann, B., & TMC207-C209 Study Group (2016). Bedaquiline in the treatment of multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis. *The European respiratory journal*, 47(2), 564–574. <https://doi.org/10.1183/13993003.00724-2015>
113. Pym, A. S., Saint-Joanis, B., & Cole, S. T. (2002). Effect of katG mutations on the virulence of *Mycobacterium tuberculosis* and the implication for transmission in humans. *Infection and immunity*, 70(9), 4955–4960. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.9.4955-4960.2002>

114. Rabahi, M. F., Silva Júnior, J., Ferreira, A., Tannus-Silva, D., & Conde, M. B. (2017). Tuberculosis treatment. *Jornal brasileiro de pneumologia: publicacao oficial da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia*, 43(6), 472–486. <https://doi.org/10.1590/S1806-37562016000000388>
115. Ramakrishnan, L. (2012). Revisiting the role of the granuloma in tuberculosis. *Nature Reviews Immunology*, 12(5), 352–366. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1038/nri32110>.
116. Randall P. J., Hsu N. J., Quesniaux V., Ryffel B., Jacobs M. (2015). Mycobacterium tuberculosis infection of the ‘non-classical immune cell’. *Immunol. Cell Biol.* 93, 789–795. [10.1038/icb.2015.43](https://doi.org/10.1038/icb.2015.43)
117. Read, A. F., & Woods, R. J. (2014). Antibiotic resistance management. *Evolution, medicine, and public health*, 2014(1), 147. <https://doi.org/10.1093/emph/eou024>
118. Reid, M., Arinaminpathy, N., Bloom, A., Bloom, B. R., Boehme, C., Chaisson, R., Chin, D. P., Churchyard, G., Cox, H., Ditiu, L., Dybul, M., Farrar, J., Fauci, A. S., Fekadu, E., Fujiwara, P. I., Hallett, T. B., Hanson, C. L., Harrington, M., Herbert, N., Hopewell, P. C., ... Goosby, E. P. (2019). Building a tuberculosis-free world: The Lancet Commission on tuberculosis. *Lancet (London, England)*, 393(10178), 1331–1384. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)30024-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30024-8)
119. Rempel, S., Gati, C., Nijland, M., Thangaratnarajah, C., Karyolaimos, A., de Gier, J. W., ... & Slotboom, D. J. (2020). A mycobacterial ABC transporter mediates the uptake of hydrophilic compounds. *Nature*, 580(7803), 409-412.

120. Reygaert W. C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS microbiology*, 4(3), 482–501. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482>
121. Riccardi, N., Canetti, D., Martini, M., Diaw, M. M., DI Biagio, A., Codecasa, L., Barberis, I., Bragazzi, N. L., & Besozzi, G. (2020). The evolution of a neglected disease: tuberculosis discoveries in the centuries. *Journal of preventive medicine and hygiene*, 61(1 Suppl 1), E9–E12. <https://doi.org/10.15167/2421-4248/jpmh2020.61.1s1.1353>
122. Saini, V., Ammerman, N. C., Chang, Y. S., Tasneen, R., Chaisson, R. E., Jain, S., Nuermberger, E., & Grosset, J. H. (2019). Treatment-Shortening Effect of a Novel Regimen Combining Clofazimine and High-Dose Rifapentine in Pathologically Distinct Mouse Models of Tuberculosis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 63(6), e00388-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.00388-19>
123. Sala, C., Haouz, A., Saul, F. A., Miras, I., Rosenkrands, I., Alzari, P. M., & Cole, S. T. (2009). Genome-wide regulon and crystal structure of BlaI (Rv1846c) from *Mycobacterium tuberculosis*. *Molecular microbiology*, 71(5), 1102–1116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06583.x>
124. Sarathy, J. P., Dartois, V., & Lee, E. J. (2012). The role of transport mechanisms in mycobacterium tuberculosis drug resistance and tolerance. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 5(11), 1210–1235. <https://doi.org/10.3390/ph511210>
125. Sarathy, J. P., Gruber, G., & Dick, T. (2019). Re-Understanding the Mechanisms of Action of the Anti-Mycobacterial Drug Bedaquiline. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 8(4), 261. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8040261>

126. Scorpio, A., Lindholm-Levy, P., Heifets, L., Gilman, R., Siddiqi, S., Cynamon, M., & Zhang, Y. (1997). Characterization of *pncA* mutations in pyrazinamide-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 41(3), 540–543. <https://doi.org/10.1128/AAC.41.3.540>
127. Seung, K. J., Keshavjee, S., & Rich, M. L. (2015). Multidrug-Resistant Tuberculosis and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(9), a017863. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a017863>
128. Shah M., Chida N. (2017). Extrapulmonary tuberculosis, in *Handbook of Tuberculosis*, eds Grosset J. H., Chaisson R. E. (Cham: Springer International Publishing;), 91–118.
129. Sharma O. A. (1981). Avicenna's description of tuberculosis. *Bulletin of the Indian Institute of History of Medicine (Hyderabad)*, 1-4, 83–86.
130. Shi, W., Zhang, X., Jiang, X., yuan, H., Lee, J. S., Barry, C. E., 3rd, Wang, H., Zhang, W., & Zhang, Y. (2011). Pyrazinamide inhibits translation in *Mycobacterium tuberculosis*. *Science (New York, N.Y.)*, 333(6049), 1630–1632. <https://doi.org/10.1126/science.1208813>
131. Silva, D. R., Mello, F., & Migliori, G. B. (2020). Shortened tuberculosis treatment regimens: what is new? *Jornal brasileiro de pneumologia: publicacao oficial da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia*, 46(2), e20200009. <https://doi.org/10.36416/1806-3756/e202000094>
132. Sirgel, F. A., Warren, R. M., Streicher, E. M., Victor, T. C., van Helden, P. D., & Böttger, E. C. (2012). *gyrA* mutations and phenotypic susceptibility levels to ofloxacin and moxifloxacin in clinical isolates of *Mycobacterium*

- tuberculosis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 67(5), 1088–1093.
<https://doi.org/10.1093/jac/dks033>
133. Smith, T., Wolff, K. A., & Nguyen, L. (2013). Molecular biology of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Current topics in microbiology and immunology*, 374, 53–80. https://doi.org/10.1007/82_2012_279
134. Sotgiu, G., Centis, R., D'ambrosio, L., & Migliori, G. B. (2015). Tuberculosis treatment and drug regimens. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(5), a017822. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a017822>
135. Spellberg, B., & Gilbert, D. N. (2014). The future of antibiotics and resistance: a tribute to a career of leadership by John Bartlett. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 59 Suppl 2(Suppl 2), S71–S75. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu392>
136. Stephan, J., Mailaender, C., Etienne, G., Daffé, M., & Niederweis, M. (2004). Multidrug resistance of a porin deletion mutant of *Mycobacterium smegmatis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(11), 4163–4170. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.11.4163-4170.2004>
137. Tiberi, S., Vjecha, M. J., Zumla, A., Galvin, J., Migliori, G. B., & Zumla, A. (2021). Accelerating development of new shorter TB treatment regimens in anticipation of a resurgence of multi-drug resistant TB due to the COVID-19 pandemic. *International journal of infectious diseases: official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 113 Suppl 1, S96–S99. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.02.067>
138. Tremblay, L. W., Fan, F., & Blanchard, J. S. (2010). Biochemical and structural characterization of *Mycobacterium tuberculosis* beta-lactamase with the

- carbapenems ertapenem and doripenem. *Biochemistry*, 49(17), 3766–3773.
<https://doi.org/10.1021/bi100232q>
139. Udhwadia Z. F. (2012). MDR, XDR, TDR tuberculosis: ominous progression. *Thorax*, 67(4), 286–288. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2012-201663>
140. Velásquez, G. E., Brooks, M. B., Coit, J. M., Pertinez, H., Vargas Vásquez, D., Sánchez Garavito, E., Calderón, R. I., Jiménez, J., Tintaya, K., Peloquin, C. A., Osso, E., Tierney, D. B., Seung, K. J., Lecca, L., Davies, G. R., & Mitnick, C. D. (2018). Efficacy and Safety of High-Dose Rifampin in Pulmonary Tuberculosis. A Randomized Controlled Trial. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 198(5), 657–666.
<https://doi.org/10.1164/rccm.201712-2524OC>
141. Vetting, M. W., Hegde, S. S., Fajardo, J. E., Fiser, A., Roderick, S. L., Takiff, H. E., & Blanchard, J. S. (2006). Pentapeptide repeat proteins. *Biochemistry*, 45(1), 1–10. <https://doi.org/10.1021/bi052130w>
142. Vetting, M. W., Hegde, S. S., Javid-Majd, F., Blanchard, J. S., & Roderick, S. L. (2002). Aminoglycoside 2'-N-acetyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* in complex with coenzyme A and aminoglycoside substrates. *Nature structural biology*, 9(9), 653–658. <https://doi.org/10.1038/nsb830>
143. Vilchèze, C., Morbidoni, H. R., Weisbrod, T. R., Iwamoto, H., Kuo, M., Sacchettini, J. C., & Jacobs, W. R., Jr (2000). Inactivation of the *inhA*-encoded fatty acid synthase II (FASII) enoyl-acyl carrier protein reductase induces accumulation of the FASI end products and cell lysis of *Mycobacterium*

- smegmatis. *Journal of bacteriology*, 182(14), 4059–4067.
<https://doi.org/10.1128/JB.182.14.4059-4067.2000>
144. Viveiros, M., Martins, M., Rodrigues, L., Machado, D., Couto, I., Ainsa, J., & Amaral, L. (2012). Inhibitors of mycobacterial efflux pumps as potential boosters for anti-tubercular drugs. *Expert review of anti-infective therapy*, 10(9), 983–998. <https://doi.org/10.1586/eri.12.89>
145. Wang, F., Cassidy, C., & Sacchettini, J. C. (2006). Crystal structure and activity studies of the *Mycobacterium tuberculosis* beta-lactamase reveal its critical role in resistance to beta-lactam antibiotics. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50(8), 2762–2771. <https://doi.org/10.1128/AAC.00320-06>
146. Wang, J. Y., Burger, R. M., & Drlica, K. (1998). Role of superoxide in catalase-peroxidase-mediated isoniazid action against mycobacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 42(3), 709–711. <https://doi.org/10.1128/AAC.42.3.709>
147. Warriar, T., Kapilashrami, K., Argyrou, A., Ioerger, T. R., Little, D., Murphy, K. C., Nandakumar, M., Park, S., Gold, B., Mi, J., Zhang, T., Meiler, E., Rees, M., Somersan-Karakaya, S., Porrás-De Francisco, E., Martínez-Hoyos, M., Burns-Huang, K., Roberts, J., Ling, Y., Rhee, K. Y., ... Nathan, C. F. (2016). N-methylation of a bactericidal compound as a resistance mechanism in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(31), E4523–E4530. <https://doi.org/10.1073/pnas.1606590113>

148. Waters, M, Tadi, P. Streptomycin. [Updated 2022 May 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555886/>
149. Wayne, L. G. (1986). The mycobacteria. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2, 1435-1457.
150. WHO (S.F) Types of drug-resistant TB. Recuperado de: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/diagnosis-treatment/treatment-of-drug-resistant-tb/types-of-tb-drug-resistance>
151. Willey, J. M., Sherwood, L. M., Woolverton, C. J., Gibert, I., & Willey, J. M. (2013). Prescott, Harley, and Klein's microbiología (Séptima edición). McGraw-Hill Higher Education. pp 255
152. World Health Organization. (2020). Global tuberculosis report 2020. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
153. Wright G. D. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. *Advanced drug delivery reviews*, 57(10), 1451–1470. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.04.002>
154. Wright G. D. (2010). Antibiotic resistance in the environment: a link to the clinic? *Current opinion in microbiology*, 13(5), 589–594. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2010.08.005>
155. Yan, A, Bryant, EE. Quinolones. [Updated 2021 Nov 9]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557777/>
156. Yaseen, I., Kaur, P., Nandicoori, V. K., & Khosla, S. (2015). Mycobacteria modulate host epigenetic machinery by Rv1988 methylation of a non-tail arginine

- of histone H3. *Nature communications*, 6, 8922.
<https://doi.org/10.1038/ncomms9922>
157. Zaunbrecher, M. A., Sikes, R. D., Metchock, B., Shinnick, T. M., & Posey, J. E. (2009). Overexpression of the chromosomally encoded aminoglycoside acetyltransferase eis confers kanamycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(47), 20004-20009.
158. Zhang, H., Deng, J. Y., Bi, L. J., Zhou, Y. F., Zhang, Z. P., Zhang, C. G., Zhang, Y., & Zhang, X. E. (2008). Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* nicotinamidase/pyrazinamidase. *The FEBS journal*, 275(4), 753–762. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.06241.x>
159. Zhang, T., Jiang, G., Wen, S., Huo, F., Wang, F., Huang, H., & Pang, Y. (2019). Para-aminosalicylic acid increases the susceptibility to isoniazid in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infection and drug resistance*, 12, 825–829. <https://doi.org/10.2147/IDR.S200697>
160. Zhang, Y., Wade, M. M., Scorpio, A., Zhang, H., & Sun, Z. (2003). Mode of action of pyrazinamide: disruption of *Mycobacterium tuberculosis* membrane transport and energetics by pyrazinoic acid. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 52(5), 790–795. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg446>
161. Zheng, J., Rubin, E. J., Bifani, P., Mathys, V., Lim, V., Au, M., Jang, J., Nam, J., Dick, T., Walker, J. R., Pethe, K., & Camacho, L. R. (2013). para-Aminosalicylic acid is a prodrug targeting dihydrofolate reductase in *Mycobacterium tuberculosis*. *The Journal of biological chemistry*, 288(32), 23447–23456. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.475798>

162. Zierski, M., & Bek, E. (1980). Side-effects of drug regimens used in short-course chemotherapy for pulmonary tuberculosis. A controlled clinical study. *Tubercle*, 61(1), 41–49. [https://doi.org/10.1016/0041-3879\(80\)90060-4](https://doi.org/10.1016/0041-3879(80)90060-4)
163. Zimhony, O., Vilchèze, C., Arai, M., Welch, J. T., & Jacobs, W. R., Jr (2007). Pyrazinoic acid and its n-propyl ester inhibit fatty acid synthase type I in replicating tubercle bacilli. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(2), 752–754. <https://doi.org/10.1128/AAC.01369-06>
164. Zimmerman M. R. (1979). Pulmonary and osseous tuberculosis in an Egyptian mummy. *Bulletin of the New York Academy of Medicine*, 55(6), 604–608.
165. Zuber, B., Chami, M., Houssin, C., Dubochet, J., Griffiths, G., & Daffé, M. (2008). Direct visualization of the outer membrane of mycobacteria and corynebacteria in their native state. *Journal of bacteriology*, 190(16), 5672–5680. <https://doi.org/10.1128/JB.01919-07>